



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES

**EFFECTOS DEL NIFURTIMOX EN RATONES
INFECTADOS CON *Toxoplasma gondii***

TESIS MANCOMUNADA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A N :

LAURA EDITH BANDA OCHOA

CATALINO DAMIAN PERALTA

MEXICO, D. F.

1993



**TESIS CON
FALLA DE CROSER**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE	3
JUSTIFICACION	6
OBJETIVOS	7
CAPITULO 1.- PANORAMA GENERAL DE LA TOXOPLASMOSIS	8
1.1 Clasificación	8
1.2 Antecedentes históricos	8
1.3 Definición y morfología	12
1.4 Estructura química	17
1.5 Ciclos de vida y modos de transmisión	18
1.6 Epidemiología	24
1.7 Cuadro clínico	25
I.a. Toxoplasmosis Congénita	27
I.b. Toxoplasmosis Adquirida	28
I.c. Toxoplasmosis de la Embarazada	31
II. Toxoplasmosis por proceso inmune del huésped	32
1.8 Diagnóstico diferencial de los estados del parásito en tejidos	37
1.9 Diagnóstico de la Toxoplasmosis	38
a) Método directo	38
b) Método indirecto	39
c) Prueba terapéutica	42
d) Diagnóstico clínico	42
1.10 Quimioterapia de la Toxoplasmosis	42
a) Sulfamidoterapia	43
b) Espiramicina	45
c) Clindamicina	45

1.11 Régimen de tratamientos	46
a) Infección aguda en el paciente inmunodeficiente	46
b) Toxoplasmosis aguda en el paciente inmunodeficiente	46
c) Toxoplasmosis aguda en el paciente con SIDA	46
d) Prevención de la toxoplasmosis en receptores de trasplantes de corazón	47
e) Infección toxoplásmica adquirida en el embarazo	47
f) Toxoplasmosis congénita	47
g) Toxoplasmosis ocular	48
CAPITULO 2.- GENERALIDADES DE LA PIRIMETAMINA Y EL NIFURTIMOX	49
A) PIRIMETAMINA	
A.1 Desarrollo histórico	49
A.2 Características generales	49
A.3 Mecanismos de acción	50
A.4 Dosis y administración	51
A.5 Tolerancia	53
A.6 Biotransformación	53
A.7 Toxicidad	53
A.8 Empleo en el embarazo	54
A.9 Contraindicaciones	54
A.10 Precauciones y advertencias	55
A.11 Tratamiento de la sobredosificación	55
B) NIFURTIMOX	
B.1 Desarrollo histórico	56
B.2 Características generales	56
B.3 Mecanismo de acción de los Nitrofuranos	57
B.4 Efecto en cultivo de tejidos	58
B.5 Indicaciones	58
B.6 Tolerancia	59
B.7 Absorción, metabolismo y excreción	60
B.8 Toxicidad y efectos secundarios	60
B.9 Contraindicaciones	60
CAPITULO 3.- DISEÑO EXPERIMENTAL	61
3.1 Variables de tratamiento	61
3.2 Variables de medición	62
3.3 Controles experimentales	64
3.4 Análisis estadístico	64
3.5 Diagrama de flujo	67

CAPITULO 4.- MATERIAL Y METODOS	68
4.1 Material y Equipo	68
4.2 Material Biológico	69
4.3 Reactivos	69
4.4 Fármacos	70
4.5 Obtención y purificación del antígeno	70
4.6 Cuantificación de parásitos en cámara de Neubauer	71
4.7 Organización de lotes de ratones e inoculación	73
4.8 Tratamiento	73
4.9 Recolección de muestras	74
4.10 Técnica histológica	75
a) Fijación	75
b) Deshidratación	75
c) Aclaramiento	76
d) Inclusión	76
e) Corte	76
f) Tinción	76
CAPITULO 5.- RESULTADOS	77
CAPITULO 6.- ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS	106
CAPITULO 7.- CONCLUSIONES	111
BIBLIOGRAFIA	112
APENDICE	123
GLOSARIO	125

JUSTIFICACION

La toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria que puede invadir a una gran cantidad de animales mamíferos e infectarlos entre ellos al hombre. Hasta la fecha no se conoce un fármaco o método terapéutico que actúe eficazmente como antiparasitario en todas las fases evolutivas del toxoplasma; hay productos químicos solos o asociados que presentan actividad sobre las formas libres extracelulares y ninguna acción sobre las formas quísticas o pseudoquísticas.

La impresión de un diagnóstico oportuno hace que el tratamiento sea instituido tardíamente cuando la mayoría de los toxoplasmas se encuentran intracelulares o enquistados.

Debido a la carencia de la terapéutica eficaz contra la toxoplasmosis decidimos ensayar un medicamento como posible alternativa; el medicamento empleado es el Nifurtimox un derivado sintético perteneciente a la familia de los nitrofuranos que presenta actividad contra las formas tripomastigotas y amastigotas de *Trypanosoma cruzi* tanto *in vivo* como *in vitro* y por la gran similitud de las amastigotas con los pseudoquistes y quistes de toxoplasmas sospechamos que pueda tener efectos similares contra las formas crónicas y agudas de la toxoplasmosis.

Cuando se requiere determinar la eficacia de un fármaco o de un tratamiento terapéutico contra la patogenicidad de algún microorganismo en el hombre, primero se debe de estudiar en animales de laboratorio de allí que nuestro modelo sea en ratones de laboratorio.

OBJETIVOS

I OBJETIVO GENERAL

Determinar si el Nifurtimox posee actividad antiparasitaria contra *Toxoplasma gondii* y si es posible emplearlo como un tratamiento alternativo en la toxoplasmosis

II OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Determinar si el Nifurtimox por su gran difusión intracelular puede ser capaz de destruir las formas quísticas y pseudoquísticas de *Toxoplasma gondii*.
- 2.- Establecer si el Nifurtimox posee mejores propiedades antiparasitarias que la Pirimetamina, la cual es comunmente empleada como fármaco de elección.
- 3.- Determinar la posibilidad de que el Nifurtimox pueda ser empleado en el tratamiento de toxoplasmosis.
- 4.- Establecer los mecanismos por medio de los cuales se determine la variabilidad de la prueba y con esto decidir la confiabilidad de la misma.

CAPITULO 1

PANORAMA GENERAL DE LA TOXOPLASMOSIS

1.1 CLASIFICACION

PHYLUM	Protozoa
SUBPHYLUM	Esporozoa
CLASE	Toxoplasmea
GENERO Y ESPECIE	<i>Toxoplasma gondii</i>

1.2 ANTECEDENTES HISTORICOS.

Al parecer, el toxoplasma fue observado por Laveran en 1900 en gorriones de Java; pero como hechos reales sobre el descubrimiento del parásito se tiene que en el año 1908 Charles Nicolle y L. Manceaux realizaron el hallazgo en un pequeño roedor denominado "gondi" o "gundi" en frotis de sangre de bazo y del hígado, el cual fue capturado en Matmata al sur de Túnez y cuyo nombre científico es *Ctenodactylus gondi*.

El parásito fue considerado como un protozooario y por su gran similitud con las Leishmanias se le llamó provisionalmente *Leishmania gondi*. Posteriormente por su aspecto curvo (del griego; toxon = arco) y por encontrarlo en el roedor "gondi" se le denominó *Toxoplasma gondii*.

Muchos reportes de hallazgos sobre éste género fueron comunicados; se identificaron una serie de especies (tabla 1).

TABLA 1.- Fecha de los reportes del género *Toxoplasma* en diversos animales incluyendo al hombre; creando diversas especies y originando confusión taxonomica.

AÑO	AUTORES	ESPECIES
1908	Nicolle y Manceaux	gondii
1908	Splendore	cuniculi
1910	Mello	canis
1910	Prowazek	talpae
1911	Marrullaz	paddie
1911	Aragão	atticoriae, ramphocoeli, scailitis proariae, sporophilae, tanagrae brachyspizae.
1911	Carini	columbae
1912	Tott y Wolbach	neofrontis
1913	Marrullaz	avium
1913	Sangiorgi	musculus
1913	Castellani	pyrogenes
1914	Fedorovitch	pyrogenes
1914	Sangiorgi	aratf
1914	Coles	sciuri
1914	Laverán y Marrullaz	liothricis
1915	Mello	francae
1916	Carini y Maciel Theze	sp
1918	Torres	encephalitozoon chagasi
1927	Yakimoff y Kohl-Y	columbae
1931	Sassuchin	nikanorovi
1932	Coutelen	wenyoni, laidlawi
1939	Hepding	gallinarum
1939	Wolf, Cowen y Paige	hominis

Como se observa en la tabla 1, se pensaba que el género comprendía varias especies pero un grupo de observadores defendieron una teoría unificadora entre ellos se encontraban Carini (1911), Arantes (1914), Carini y Migliano (1916), Chalton y Blanc (1917), Mesnil (1918). Pero solo fue confirmada esta teoría hasta que Sabin (1939), Wolfson (1940), Nobrega y Reis (1942), Ruchman y Johansman (1948), Christensen y Siim (1951), Wildfuhr (1954), Harboe y Erichsen (1955), Piekarski (1959) y otros, realizaron una serie de experimentos como inoculaciones, pruebas de inmunidad cruzada, y receptividad en diferentes animales. En la actualidad se conoce que no existe más que una sola especie que es capaz de parasitar a los animales y al hombre, la cual es *Toxoplasma gondii* (96).

En 1908 además del descubrimiento de Nicolle y Manceaux; Alfonso Splendore en Sao Paulo, Brasil observó en vísceras de un conejo al parásito *Toxoplasma*.

En 1911, Burret menciona epizootias en conejos. En 1913, Nicolle y Conor encuentran epidemias en el roedor *gondii*; en éste mismo año Carini reporta la *Toxoplasmosis* en el perro. El primer caso de *Toxoplasmosis Humana* fue probablemente la descrita por Castellani al observar el parásito en las vísceras de un niño en Ceylán con fiebre prolongada y esplenomegalia, por lo que se le denominó *Toxoplasma pyrogenes* (96).

Continuaron las notificaciones de Fedorovitch, en Rusia (1916) y en 1920 Kamar y Charmers (96).

En el año 1923, en Checoslovaquia Janku encontró al parásito en niños con lesiones oculares (*Toxoplasmosis Ocular*). También describió en detalle un caso de *Toxoplasmosis Congénita*, en el cual un recién nacido con hidrocefalia, muere; encontrando parásitos en la retina y otros tejidos del bebé (11).

En Brasil (1927), Torres observó otro caso de *Toxoplasmosis Congénita* en un recién nacido (96).

En 1929, Mooser encuentra *Toxoplasmas* en unos cobayos infectados naturalmente (96). También en ese año De Lange (en Amsterdam), Coulon (en Córcega); en 1934, en Chicago Herting; en Boston, Richter (1936) y Wolf y Cowen (1937) en Nueva York encontraron al parásito en un niño de 31 días de nacido con encefalitis y coriorretinitis, observaron además un nuevo caso de un lactante muerto de encefalitis y encefalomielititis; logrando aislar al *Toxoplasma* (llamándolo *Toxoplasma hominis*) (96).

Wolf, Cowen y Paige, en 1939 señalaron al protozoario como el agente causal de la Toxoplasmosis en el hombre (111).

Wolf y colaboradores entre los años 1927 - 1942 establecieron que *T. gondii* es el agente causal de la meningoencefalitis en recién nacidos y que la vía de transmisión era la transplacentaria (112).

Sabin y Feldman en 1948, publicaron la prueba serológica grandemente específica para el diagnóstico de la Toxoplasmosis. También en 1948, Frenkel describió una prueba para uso intradérmico útil en el diagnóstico epidemiológico de la Toxoplasmosis (113).

El año de 1950 se caracterizó por la realización en gran escala de diversas encuestas seroepidemiológicas.

En 1953 Varela, Roch y Vazquez introducen por primera vez en México la prueba de Sabin y Feldman tanto en el diagnóstico como en investigaciones epidemiológicas de la Toxoplasmosis usando sueros humanos y de animales (97).

Varela y col. en 1956 demostraron la existencia de la dietilamina del ácido d-lisérgico (LSD-25), en extractos de órganos, en líquidos intersticiales y en exudado peritoneal de animales infectados con *Toxoplasma gondii* (104).

En 1957 se aplicó la prueba de Cerletti y Berde (prueba para la determinación de la acción farmacodinámica del LSD-25) en el diagnóstico de la Toxoplasmosis, sobre todo en formas clínicas del Sistema Nervioso Central (110).

En los años sesentas en E.U.A., Jacobs, Remington y Melton del Instituto Nacional de Salud, atribuyeron la transmisión a la ingestión de carne cruda o mal cocida (94).

Hutchinson en 1965, observó la Enfermedad Adquirida por gatos al comer ratones infectados. También se observó que al consumir heces de gatos infectados, aún conservadas en agua durante un tiempo, parasitaban a los ratones (Work, 1971) (116).

El desarrollo sexual de *Toxoplasma* en gatos fue descrito en 1970, así se reconoció como origen de la

infección a las heces de los gatos, arenas o suelo contaminadas con ooquistes de *Toxoplasma* (41).

Mc. Cabe y col. (1987) describen que el parásito fue causa frecuente de Linfadenopatía Transitoria, usualmente en cabeza, áreas del cuello de niños saludables y personas adultas.

1.3 DEFINICION Y MORFOLOGIA

La Toxoplasmosis es una zoonosis cosmopolita muy difundida en la naturaleza, causada por *Toxoplasma gondii*; es un parásito intracelular obligado, capaz de infectar a cualquier animal cuando los trofozoítos de *Toxoplasma* penetran y se multiplican en el citoplasma de alguna célula nucleada del huésped.

Toxoplasma gondii es un parásito Sistémico, con frecuencia se encuentra en células del Sistema Retículo Endotelial; en Ojo (en coroides y retina produciendo Coriorretinitis); Cerebro (en plexos coroideos provocando Hidrocefalia); Meninges (produciendo Meningoencefalitis); Utero (zona trofoblástica provocando Abortos, Toxoplasmosis Congénita); en Músculo, Corazón, Pulmón, Hígado, Bazo etc.. Por lo general, en la mayoría de éstos órganos se encuentra en aquellas membranas de función dialítica en donde se verifica un intercambio de O_2 y CO_2 con lo cual produce en estos lugares procesos inflamatorios.

De acuerdo con el número de especies de animales que pueden servir de reservorios, *T. gondii* está comprendido entre los Eurixenos pues muchas de las especies de animales le pueden servir de reservorios, por ejemplo: roedor africano (*gondi*), cerdos, conejos, cuyos, vacas, gatos, ratones, etc. La duración del parasitismo es permanente, debido a que el parásito siempre se encuentra en el huésped.

TROFOZOITO: forma vegetativa del toxoplasma y es aquella por la cuál el parásito se divide activamente pues tiene un gran poder de difusión, penetración y de multiplicación. La morfología de éste es semilunar con dimensiones de $3.5-7 \mu$ de largo por $1.5-4 \mu$ de ancho presentando un polo superior fino que termina en forma de cono y una parte inferior que es esférica dándole al parásito un aspecto ligeramente arqueado.

Observando preparaciones frescas de exudado peritoneal del ratón infectado al microscopio se distingue una membrana, un citoplasma refringente en el cuál se encuentran el aparato de Golgi, ribosomas, retículo endotelial rugoso, mitocondrias y un núcleo localizado al centro del citoplasma. En preparaciones teñidas

con Giemsa y Wright se observa una membrana a veces granulosa, un citoplasma teñido de azul y una masa de cromatina teñida de rojo (núcleo) no uniforme con pequeñas vacuolas en su interior. En formas intracelulares los parásitos son más pequeños, su forma es oval o redonda.

En microscopio electrónico la estructura de *Toxoplasma* cuando se encuentra en su estado libre se distingue una doble membrana refringente. Se observa una membrana externa continua de 25 Å de ancho, una membrana plasmática de 25 Å de grueso, pero ésta no es continua. La pared se invagina en el citoplasma en la unión del tercio inferior con el tercio medio en su parte convexa; formando una vacuola con un orificio que sale a la parte exterior llamado **MICROPILO** (al parecer su función es respiratoria). En el polo superior y en contacto con la pared se observa una condensación en forma cónica llamada "sistema conoide".

El **SISTEMA CONOIDE** sirve para poder invadir a la célula, además de éste parten dos sistemas de fibras:

- a).- Unas denominadas **NERVADURAS RADIALES** cuya función es nerviosa o de relación, además controla los movimientos de la pared. Estas son muy finas, submembranosas y se encuentran en un número de 8 a 10 separadas por espacios de 0.18 a 0.13 μ .
- b).- A las otras fibras se les llama **TOXONEMAS** su función es enzimática y digestiva. Estas fibras son más gruesas en forma de bastón, cilíndricas, ectoplasmicas, osmófilas; se presentan en un número de 14 a 18 con un diámetro periférico de 20 a 40 $m\mu$ y el diámetro distal de 0.10 a 0.18 μ son uniformes en su estructura interna y llegan hasta la parte media del parásito.

El vértice se encuentra formado por un anillo de 0.15 a 0.25 μ de diámetro que se comunica con el medio exterior y es llamado **ANILLO POLAR**.

El citoplasma es transparente, finamente granuloso, con varias estructuras en su interior:

- * **NUCLEO**: mide de 1 - 1.5 μ de diámetro, es redondo u ovalado, envuelto por una pared de doble membrana, su localización es en la parte media o inferior del parásito.

- **NUCLEOLO:** se localiza dentro del núcleo en el cual se encuentra en forma dispersa.
- **APARATO DE GOLGI:** al parecer representa el sistema circulatorio del parásito y está situado por encima del núcleo.
- **RETICULO ENDOPLASMICO:** éste se encuentra alrededor del núcleo.
- **RIBOSOMAS:** son cuerpos pequeños en forma redonda que también se localizan alrededor del núcleo.
- **MITOCONDRIAS:** tienen una dimensión de 1 a 2 μ de largo, por 0.1 a 0.2 μ de ancho.
- **VACUOLAS:** éstas estructuras se encuentran repartidas por todo el citoplasma tienen un aspecto esférico y refringente además contienen sustancias osmófilas semejantes a lípidos.

Para observar mejor la morfología de *T. gondii* en la figura 1 se presenta al parásito en su forma vegetativa.

El trofozoito debido a su labilidad a los cambios ambientales necesita de condiciones especiales para su capacidad infectante; por lo que *T. gondii* cuando encuentra cierta forma de resistencia por parte del huésped o tiene que subsistir, adquiere la forma de resistencia la cual es denominada Quiste.

Los quistes se caracterizan por tener una membrana propia, argirofílica y débilmente PAS (Periodic Acid-Schiff Reaction) positivo, su tamaño depende del número de bradizoitos que contengan (organismos que se reproducen lentamente después de un tiempo determinado), variando de 50 a 200 μ . Se localiza en los tejidos del huésped intermediario, su forma es esférica cuando está en cerebro u otros órganos y adopta la forma alargada en corazón y tejido muscular. Se menciona que la forma de quiste depende de la inmunidad del huésped pero también se han observado en cultivos de tejidos y en animales inmunosuprimidos lo cual podría involucrar otros factores.

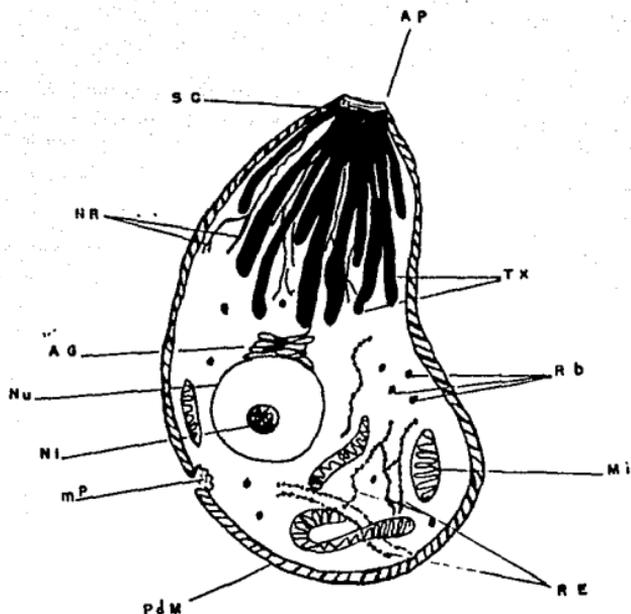


FIG: 1

Esquema de *T gondii* en su forma Vegetativa

AP = ANILLO POLAR

Tx = TOXONEMAS

Rb = RIBOSOMAS

Mi = MITOCONDRIA

RE = RETICULO ENDOPLASMICO

PdM PARED CON DOBLE MEM -

BRANA

SC = SISTEMA CONOIDE

NR = NERVADURAS RADIALES

AG = APARATO DE GOLGI

Nu = NUCLEO

Ni = NUCLEOLO

mP = MICROPILO

Se pueden considerar dos variedades, en la forma de resistencia:

- * PSEUDOQUISTE o Quiste Inmaduro
- * QUISTE o Quiste Maduro

PSEUDOQUISTE: los parásitos se encuentran agrupados, a veces con su estructura modificada, envueltos por una membrana frágil a veces poco visible, en medio de un espacio refringente. El pseudoquiste tiene forma oval o periforme, su tamaño varía de acuerdo a la cantidad de parásitos agrupados (forma tetrágena cuando se encuentra de 4 en 4; de 16 parásitos forman una roseta y de 150 o más forman un conglomerado). Esta forma representa la forma activa y aguda de la Toxoplasmosis.

QUISTE: puede tener forma oval esférica o alargada cuando se localiza en fibra muscular. Esta fase del parásito representa la fase crónica de la enfermedad. El quiste tiene un tamaño mayor que el pseudoquiste y mide de 10 a 60 μ , claro que esto depende del número de parásitos que contienen; se encuentran envueltos por una pared de doble membrana. La pared es dura resistente a la acción del HCl y pepsina del jugo gástrico; impermeable a la acción de fármacos, anticuerpos. No resiste la desecación, cambios bruscos osmóticos, ni temperaturas muy altas.

Los parásitos se reproducen rápidamente cuando el quiste está recién formado pero después de cierto tiempo se multiplican lentamente hasta un límite que determina la ruptura del quiste, esto depende de factores desconocidos.

Se conoce otra forma del parásito y se le denomina ooquiste ésta se considera una de las formas infectantes; se forma en el epitelio intestinal del gato, son eliminados en las heces fecales del huésped definitivo entre el tercer y quinto día cuando la infección se produjo con quistes; durante los días séptimo y décimo si ocurrió con trofozoitos; y de 20 a 24 días si se produjo por ooquistes que proceden de otros gatos. Esta fase del parásito es muy resistente a cambios ambientales, su forma es esférica u ovalada, sus dimensiones son de 12 a 11 μ .

Toxoplasma gondii carece de órganos de locomoción. El parásito lleva a cabo su desplazamiento por:

- * Movimientos Ondulatorios de la pared que se dirigen del extremo inferior al superior y están bajo el

control del sistema de Nervaduras Radiales, como se mencionó anteriormente.

* Movimientos Circulatorios y de Tirabuzón con el Sistema Conoide fijo ya sea a la membrana del quiste, a la célula huésped o sobre alguna otra partícula.

* Movimiento de Impulsión, el cual se debe al ectoplasma con el resto del cuerpo fijo.

Estos tipos de movimientos son tan lentos que sólo pueden ser captados por el hombre con la microcinematografía sincronizada.

1.4 ESTRUCTURA QUIMICA

Se han realizado varios trabajos sobre la composición química del parásito entre los que se encuentran los de Frenkel, Weinman y Klatchko, Varela, Callaway y otros; por lo que se sabe *Toxoplasma gondii* está constituido por:

* ACIDO RIBONUCLEICO (ARN).- El cual se presenta en dos formas :

-Forma Activa: utilizada para la síntesis de ribosomas.

-Forma Libre o Flotante: repartida en el citoplasma.

Holz en 1954, en la prueba de coloración con azul de metileno (Dye Test, pH= 10 -11) pensó que la forma libre de ARN es la responsable de la intensa basofilia del parásito; aunque en 1953, Bringmann atribuye éste fenómeno a los fosfatos que tiene *Toxoplasma*.

* ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO (ADN).- Se encuentra en mayor concentración en el núcleo de *Toxoplasma*, lo cual da la reacción de Foulgen positiva.

Debido a que se considera que *T. gondii* es un parásito Eurixeno y Sistémico; el citoplasma cuenta con un sistema enzimático que le permite adaptarse a los diferentes medios de la naturaleza.

En 1967 Niebroj y Wojdala demostraron la presencia de HIDROGENASAS y REDUCTASAS.

El citoplasma se encuentra formado por hidrogenasas como la láctico y succinohidrogenasas, hialuronidasa, catalasa, hexocinasa, hexocidasa, ARN-hidroxidasa, β -glucoronidasa y β -galactosidasa; reductasas como la NADH_2 -reductasa a mayor concentración a nivel del anillo polar y la NADPH_2 -reductasa se encuentra repartida en todo el *Toxoplasma*.

Weinman y Klatchko en 1950 dicen haber encontrado una TOXOTOXINA de naturaleza proteica, pero Varela y col. (1953), a pesar de varios experimentos realizados nunca pudieron demostrar la existencia de dicha sustancia.

Investigaciones de diversos autores demuestran la presencia de ciertas sustancias entre las cuales se cuentan:

- * POLISACARIDOS ----- Varela y Roch - Vazquez (1953)
- * GLUCOGENO ----- Frenkel (1961). Dando la prueba de PAS positiva.
- * PROTEINAS Y VOLUTINA ----- Mira - Del Rey (1966).
- * SUSTANCIAS OSMOTICAS ----- Callaway y col. (1968). Semejantes a lípidos (en M.E.)

El parásito además cuenta con una pared celular constituida por AMINOACIDOS, MUCOPEPTIDOS y CITOCROMOS (en mayor concentración en el micropilo).

Se ha visto que los taquizoitos consumen O_2 y utilizan dextrosa, pirimidinas precursoras y preformadas y además producen CO_2 ; aunque no pueden sintetizar las purinas, además su respiración es sensible al cianuro.

1.5 CICLO DE VIDA Y MODOS DE TRANSMISION DE *Toxoplasma gondii*.

La toxoplasmosis es una infección de los animales producida por un parásito de la misma especie que la transmite al hombre.

La infección aguda es usualmente seguida por la infección crónica y ambas son asintomáticas. Los animales y hombres adquieren la infección por comer carne de animales infectados crónicamente, por la

ingesta de ooquistes depositados en el suelo, arena o pequeñas charolas de gatos, por accidentes de laboratorio, desollamiento de animales infectados y transplantes de órganos. En la figura 2 se puede observar una de las formas de transmisión de *T. gondii*.

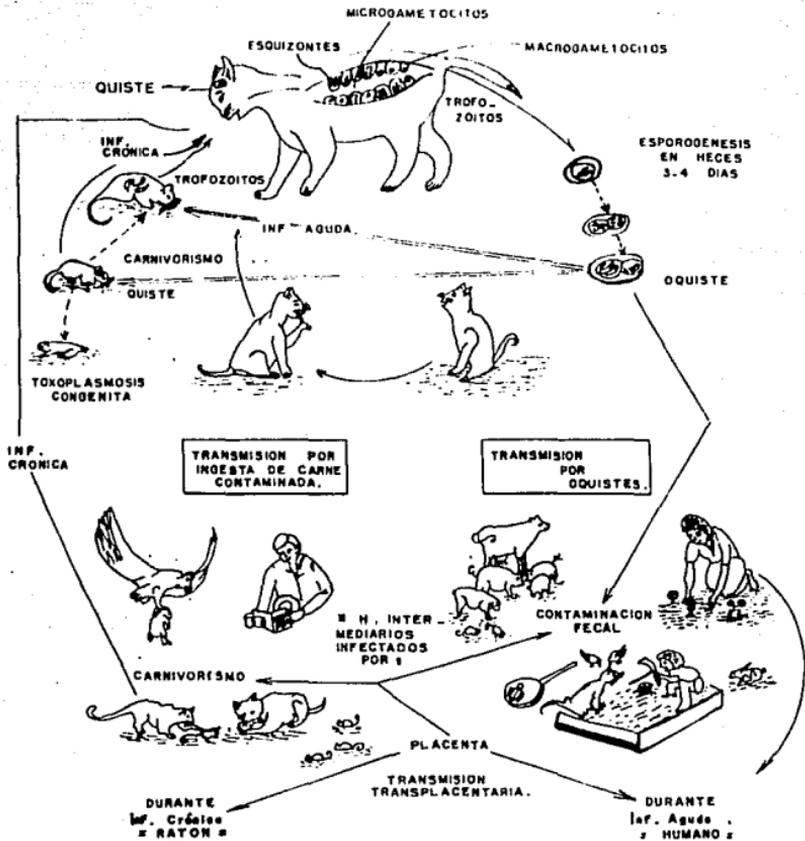
Ahora bien para explicar las formas de reproducción de *T. gondii* tenemos que los félidos ocupan un lugar singular en la historia natural del parásito ya que además de ser huésped definitivo con un ciclo sexual del parásito en el intestino, son también huésped intermediario con un ciclo parasitario tisular, extraentérico y asexual, que ocurre de modo simultáneo con la fase enteroepitelial; por consiguiente, los félidos son huéspedes completos. En cambio, todos los demás animales, inclusive el hombre, son huéspedes intermediarios, en los que el parásito tiene un ciclo Extraintestinal.

El ciclo biológico comprende etapas intracelulares y tisulares que solo se llevan a cabo en la familia Felidae.

En la *Etapu Intestinal* se observan trofozoitos que penetran a las vellosidades de la porción distal del intestino delgado de los felinos hasta alcanzar la fase de esquizonte el cuál mediante esquizogonia da origen a los merozoitos que pueden penetrar a nuevas células o desarrollarse a gametocitos (precursores de gametos masculinos o femeninos) iniciando la Gametogonia.

En la Gametogonia el gameto masculino exflagela dando origen a 12 y 32 microgametocitos de los cuales uno penetra al gameto femenino asociando su cromatina y fertilizándolo originando así el cigoto. La fecundación ocurre en la célula huésped y el cigoto resultante es cubierto con una membrana translúcida, éste es expulsado del intestino y sale al exterior con la materia fecal del gato. El cigoto resultante es el llamado ooquiste.

El ooquiste presenta una pared gruesa que lo protege dando lugar a un esporocisto en cuyo interior se reproducen los esporoblastos que se dividen en 4 esporozoitos; ésta maduración ocurre en el suelo dentro de las heces del gato que fueron expulsadas al exterior.



- × HUESPED DEFINITIVO : Gato y otros felinos
- × H. INTERMEDIARIO : Animales domesticos, Humanos, Ratón, Aves.
- × H. TRANSPORTADOR : Voladores, Cucorochos y Lombriz de Tierra.

FIGURA 2 TRANSMISION DE TOXOPLASMA
20

Es posible que la fase Esquizogónica sea precedida por un mecanismo de reproducción asexual como lo son:

- * ENDODIOGENIA
- * POLIENDOGENIA

Por ENDODIOGENIA (gemación íntera) aparecen dos yemas en el núcleo de la célula madre hasta la formación de dos parásitos que después se separan. Se describen cuerpos densos de electrones en el núcleo del parásito denominados "cuerpos E"; estos parece que incitan la Endodiogénia y están compuestos por ADN, se proyectan del núcleo de la célula madre, se dividen y son la base del desarrollo de ADN de las células hijas.

En las *Etapas Tisulares* se han identificado formas de multiplicación rápida (trofozoítos), haciéndolo por un mecanismo de POLIENDOGENIA que ocurre dentro de la célula huésped hasta destruirla. Esta fase del ciclo biológico es la responsable de las lesiones las cuales oscilan en gravedad en relación con el número de ellos. En la figura 3 se observa el Ciclo Tisular o Extraintestinal de *Toxoplasma* y la respuesta Histológica.

En un trabajo para indicar infecciones con diferentes periodos prepatentes (tiempo que va desde la infección a la eliminación de ooquistes), fueron empleados 3 gatos los cuales después de la ingesta de bradizoítos (quistes) el período estrecho prepatente fue de 3 a 6 días. Siguiendo la ingesta del ratón agudamente infectado se presentan pocos quistes, el período usual prepatente es de 4 - 10 días. De cualquier modo cuando los animales ingieren presentan una infección aguda temprana presentando solo trofozoítos con un período prepatente de 20 - 40 días algunos después de la ingestión de esporozoítos en ooquistes (figura 4).

Es probable que después de la inoculación de esporozoítos o trofozoítos se generalice la infección del gato y con los bradizoítos de los quistes probablemente se inicie el Ciclo Enteropitelial. El ratón se presenta como uno de los huéspedes intermediarios en el cual solo ocurre el ciclo extraintestinal. La infección congénita se observa en hombres, cermeros y muchos animales en el curso de la infección aguda y también en la infección crónica del ratón.

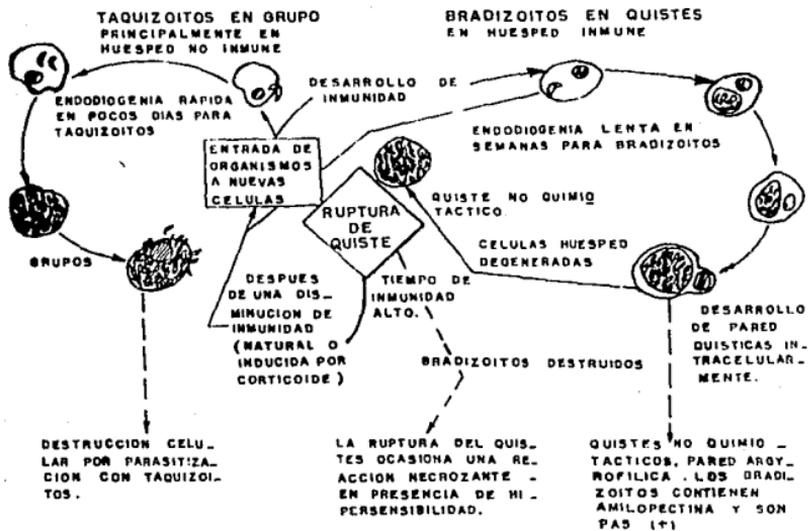


FIG. 3 CICLO TISULAR O EXTRAINTestinal DE TOXOPLASMA Y LA RESPUESTA HISTOLOGICA.

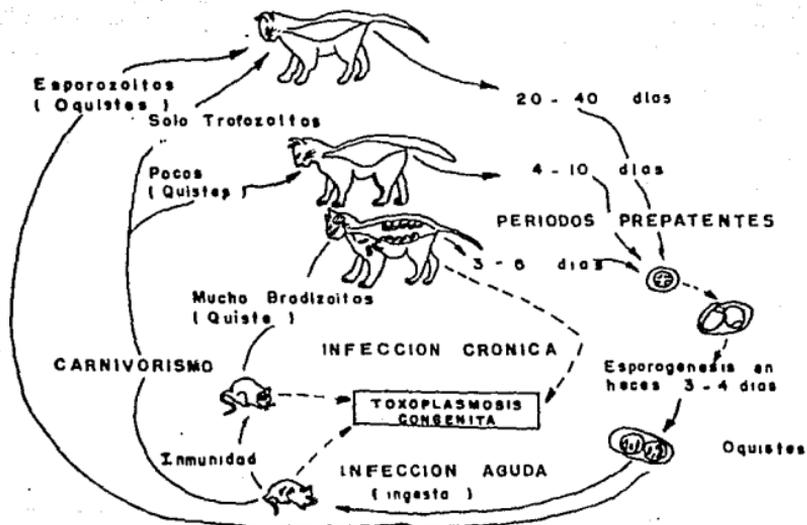


FIG: 4 Ciclo de Vida de *T. gondii*.
 Huésped Definitivo: GATO H. Intermediario: RATON

1.6 EPIDEMIOLOGIA

La Toxoplasmosis es de distribución cosmopolita y las detecciones masivas con anticuerpos indican que del 20 - 25 % de diversas poblaciones presentan infección crónica asintomática. En la naturaleza se encuentran infectados espontáneamente una gran cantidad de animales pasando por todas las ramas y ordenes hasta llegar al hombre. Con frecuencia se registran pequeñas epidemias tanto en animales como en el hombre.

En regiones donde abundan los gatos, las condiciones sanitarias son deficientes y el clima es húmedo y templado se encuentran elevados los antígenos en la población general. No se ha podido encontrar correlación clara entre la ocupación del individuo y la enfermedad. En las zonas urbanas donde se ingiere la carne mal cocida es elevada la frecuencia en adultos. Como ejemplo de esto se tiene: la carne cruda es un platillo para gastronomos en Francia y "alimento sano" para los niños (en éste país la frecuencia de serologías positivas es muy elevada) es probable que también contribuya la gran cantidad de gatos. Los estadounidenses ingieren carne de cerdo cruda en forma de filete tártaro contribuyendo también a una frecuencia alta de serologías positivas.

Se han encontrado infecciones producidas por transfusiones de leucocitos o plaquetas tal vez a partir de organismos intracelulares pero los paquetes globulares de eritrocitos están exentos de éste riesgo. Aunque la infección es frecuente la enfermedad es rara.

La epidemiología de la Toxoplasmosis era oscura pero hoy se tienen amplios conocimientos, a pesar de eso se desconocen los mecanismos de la transmisión animal y humana debido a:

- * La ubicuidad del agente en los diversos huéspedes que pueden actuar como reservorios potenciales, como vectores o transmisores mecánicos.
- * La localización del parásito en sus formas vegetativas o quísticas en el huésped que puede estar en todos los tejidos, órganos, sistemas y aparatos (parásito sistémico).
- * En su forma quística puede sobrevivir en el huésped sin producir manifestaciones clínicas aparentes, pero en cualquier momento de la vida del huésped el parásito puede liberarse y ocasionar un estado patológico, posteriormente puede salir al exterior e infectar nuevos seres.

La propagación de la Toxoplasmosis en la naturaleza puede verificarse de la manera siguiente:

- a).- De animal a animal ----- la más frecuente.
- b).- De animal a hombre ----- frecuente.
- c).- De hombre a hombre ----- frecuente (T. congénita)
----- menos frecuente (T. adquirida).
- d).- De hombre a animal ----- rara.

La invasión puede hacerse por formas vegetativas del medio exterior (rara), formas vegetativas del interior del organismo (frecuente) y las formas quísticas (la de mayor frecuencia). Ver Figura 5.

También tiene importancia conocer la naturaleza del huésped, su posición en la escala zoológica y la localización del Toxoplasma en los diversos órganos y tejidos del mismo, estos datos son importantes en la epidemiología de la Toxoplasmosis.

1.7 CUADRO CLINICO

Es muy variado y depende básicamente de la etapa en la cual se adquiere la infección en la vida intrauterina o después del nacimiento y oscila desde la ausencia de síntomas hasta la muerte de acuerdo a los órganos o sistemas predominantes infectados. El cuadro clínico se tratará de dos maneras:

I.- La tradicional que lo divide en: a) Toxoplasmosis Congénita; b) Toxoplasmosis Adquirida; c) Toxoplasmosis de la embarazada.

II.- Basandose en el proceso inmunológico del huésped.

La Toxoplasmosis Intrauterina o Congénita se puede desglosar en tres grupos de casos: 1) Subclínicos 2) Con manifestaciones clínicas al nacimiento o durante los primeros meses de vida y 3) Secuelas que aparecen después de algunos meses o en etapas posteriores de la vida pero que en la actualidad debido a la presencia del SIDA los individuos que padecen esta parasitosis evolucionan haciendo la enfermedad Toxoplásmica grave que puede confundirse con una infección adquirida recientemente (Toxoplasmosis clínica aguda).

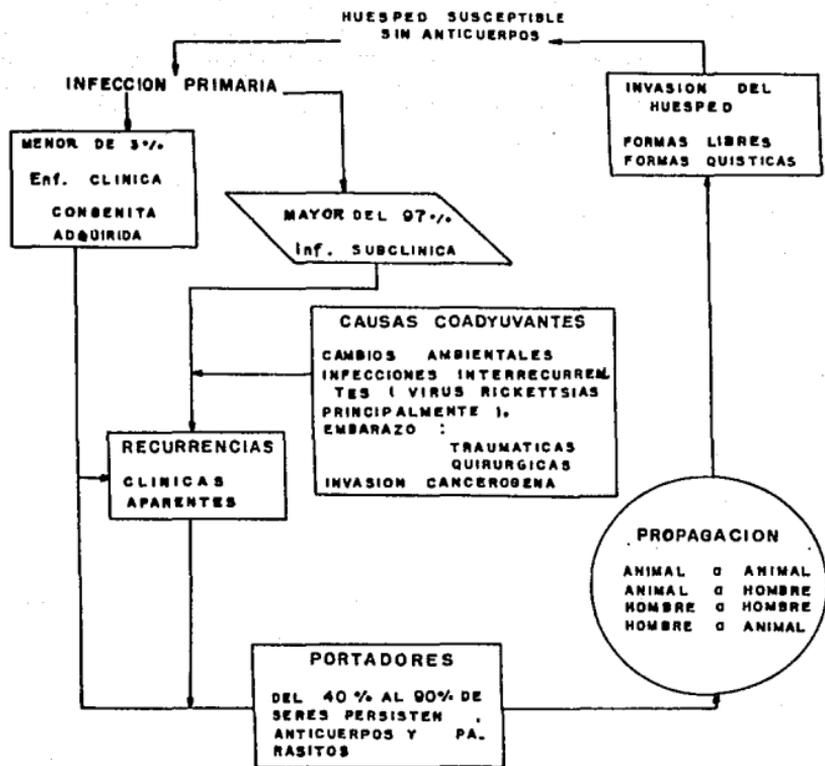


FIG: 5 LA PROPAGACION DE LA TOXOPLASMOSIS EN LA NATURALEZA.

En adultos y niños que han pasado la etapa neonatal la enfermedad adquirida es comúnmente asintomática, pero es posible que se presente como enfermedad generalizada. Sin embargo por lo regular en sus inicios se trata de una enfermedad leve y el cuadro clínico se asemeja al de la mononucleosis infecciosa con cefaleas, fiebre, escalofríos, mialgias, linfadenitis Toxoplásmica crónica; al cuadro antes descrito con frecuencia se le añade eritema máculo papular. En pocos casos aparece retinocoroiditis y meningoencefalitis.

I.a. TOXOPLASMOSIS CONGENITA.

La experiencia reciente basada en el control de las embarazadas indica que la mayoría de las infecciones congénitas son asintomáticas en el momento del nacimiento y probablemente la mayoría de estos niños continen asintomáticos, sin embargo, algunos pueden presentar signos o síntomas de la infección dentro de los primeros meses de su vida y otros que no son diagnosticados y tratados oportunamente suelen descubrirse durante la infancia o la adolescencia en la forma de retardo mental, coriorretinitis u otras secuelas irreparables.

La enfermedad típica en el recién nacido es la menos frecuente pero la mas grave. Este aspecto de la infección es el que ha creado la imagen de severidad de la Toxoplasmosis Congénita. Según Talhammer las manifestaciones clínicas en estos casos dependen de la edad gestacional en que se adquirió la infección.

*** Infección Generalizada.**

Esta corresponde a las infecciones graves ocurridas tardíamente en el embarazo. El niño nace con una infección generalizada y su aspecto es el de un prematuro o niño inmaduro con esplenomegalia y compromisos de otros órganos: miocarditis, neumonía intersticial e ictericia. En general el aspecto del niño al nacer no difiere mucho de lo observado en la enfermedad de Chagas Congénita, en la Sífilis, en la enfermedad por Inclusión Citomegálica y en las incompatibilidades sanguíneas del recién nacido. El diagnóstico diferencial precoz es decisivo porque permite el tratamiento en una fase en que aún es factible obtener una recuperación parcial o total del niño.

*** Encefalitis.**

Indica que la infección del feto ocurrió en una etapa mas precoz que la anterior, evolucionó en el útero

y el producto nació en la etapa de la encefalitis. El aspecto del infante de peso normal o subnormal es variado puede haber hidrocefalia con macro o microcefalia, coriorretinitis, retardo psicomotor y convulsiones. Si no son tratados la mayoría muere en el primer año de vida; los que sobreviven suelen quedar con secuelas graves.

Desafortunadamente el diagnóstico en esta etapa es difícil y el tratamiento debe hacerse de inmediato para tratar de evitar las secuelas.

• **Secuelas.**

Se observa en niños que han sobrevivido a las fases de generalización y de encefalitis en la vida intrauterina. El aspecto del niño puede corresponder a la típica triada de Sabin: Hidrocefalia, Calcificaciones Cerebrales y Coriorretinitis aunque también suele ser monoasintomático presentando solo coriorretinitis u otro signo.

I.b. TOXOPLASMOSIS ADQUIRIDA.

El período de incubación estimado por las infecciones humanas adquiridas por accidentes en el laboratorio oscila entre 8 - 10 días muy similar al descrito en diferentes brotes epidemiológicos estudiados. La fase inicial o reciente se caracteriza por molestias vagas y mal definidas en la que se destacan una profunda astenia, febrícula, cefalea, eritema cutáneo fugaz, mialgias, artralgias, náuseas y ocasionalmente diarrea. Este cuadro puede prolongarse por una o más semanas. En raras ocasiones se presenta en el adulto un cuadro clínico fulminante generalizado y fatal con compromiso simultáneo de varios órganos o sistemas. La fase inicial que corresponde a la parasitemia puede continuar con diferentes aspectos clínicos según el daño ocasionado a determinados órganos producto de la afinidad del parásito los que de acuerdo con su frecuencia se distinguen de la forma siguiente :

- Linfadenopatía Ganglionar.
- Forma Ocular.
- Meningoencefálica.
- Miocárdica.
- Forma Pulmonar.
- Otras Localizaciones.

*** Forma Linfadenopática Ganglionar.**

Es la forma clínica más común, la mejor estudiada y de más fácil diagnóstico. Su cuadro clínico es semejante al de la mononucleosis infecciosa. Aparentemente la vía de entrada más frecuente es la orofaríngea. Puede haber otros puntos de entrada lo que se advierte por el compromiso de los ganglios mesentéricos. La enfermedad se inicia con astenia muy marcada, anorexia, cefalea y fiebre no muy elevada. En un tercio de los casos dolor abdominal y rara vez vómitos. Los ganglios más comprometidos son los cervicales y le siguen en frecuencia los auxiliares, los inguinales y los mesentéricos. El compromiso puede ser uni o bilateral, afectar un ganglio único o grupos ganglionares, o manifestarse como una micropoliadenopatía generalizada. Los ganglios se palpan duros, no adheridos, no supuran y en la mitad de los enfermos son dolorosos espontáneamente o a la palpación. Su tamaño habitual es de uno a dos centímetros de diámetro aunque puede haberlo mayores y menores. La esplenomegalia es rara.

La Toxoplasmosis Ganglionar es de curso benigno. El volumen de los ganglios disminuye hasta desaparecer después de algunas semanas o persiste como micropoliadenitis. El cuadro habitualmente termina en uno o dos meses, pero puede persistir la astenia muy acentuada durante seis meses o más. La afección simultánea o sucesiva de otros órganos es excepcional, pero se han descrito miocarditis, encefalitis, hepatitis y miositis. Lo habitual es la curación clínica espontánea definitiva, pero se describen casos de reactivaciones caracterizados por un nuevo crecimiento ganglionar, marcada astenia y febrículas coincidentes con un aumento de los anticuerpos específicos.

El diagnóstico diferencial debe plantearse con respecto a: la mononucleosis infecciosa, la linfadenitis tuberculosa, los linfomas y las adenopatías provocadas por la hipersensibilidad a la hidantoina o a sus derivados.

El diagnóstico se completa con el estudio serológico por medio de la inoculación experimental de líquido ganglionar o biopsias de ganglio o por la demostración directa del parásito mediante la inmunofluorescencia en el líquido ganglionar.

Por su benignidad no es aconsejable tratar la Toxoplasmosis Ganglionar excepto si se acompaña de un gran malestar general, astenia prolongada o en el caso una mujer joven embarazada o con la posibilidad de estarlo.

* Forma Ocular.

Se cree que alrededor del 15 al 25 % de todas las uveítis posteriores son causadas por Toxoplasma. Pero al contrario de lo que ocurre en la Toxoplasmosis Congénita en la infección adquirida la uveítis es de tipo focal generalmente unilateral de localización yuxtapapilar o macular. Este proceso inflamatorio focal no es característico y debe diferenciarse de las múltiples causas de uveítis. Tal vez sea la localización ocular la única que permita al médico seguir objetivamente la evolución clínica y el efecto del tratamiento en la Toxoplasmosis.

* Forma Meningoencefálica.

Hasta hace poco tiempo era menos común que las anteriores sin embargo se ha incrementado notablemente por la presencia del SIDA, habitualmente esta forma posee sintomatología poco característica y de diagnóstico diferencial difícil, razón por la cual se han descrito pocos casos con la demostración del parásito. Esta forma puede ser la primera manifestación de la Toxoplasmosis o desarrollarse a partir de la infección de otros órganos.

El compromiso encefálico no tiene una localización típica y los síntomas varían desde cefaleas, letargo y parálisis facial, hasta las hemiparesias, la alteración profunda de los reflejos y el coma. El líquido cefalorraquídeo demuestra una pleiocitosis y un aumento de las proteínas. El diagnóstico diferencial debe establecerse con la psicosis alcohólica, el tumor cerebral la encefalitis, el absceso, la encefalopatía hipertensiva etc. Como secuela puede quedar algún daño psíquico o intelectual. El uso de drogas inmunosupresoras o el compromiso inmunológico puede inducir a una reactivación de la Toxoplasmosis latente en el SNC.

* Forma Miocárdica

Si bien existe la cardiomiopatía toxoplásmica, no se conoce su verdadera frecuencia entre las causas productoras de daño cardíaco. Parece ser un cuadro clínico de rara observación. Hay consenso para estimar que la miocarditis es una manifestación de la infección Toxoplásmica Aguda y Generalizada, con la localización del parásito en la fibra cardíaca y su ulterior daño e inflamación del intersticio, además existiría la cardiomiopatía monosintomática como compromiso exclusivo del corazón. En América Latina debe diferenciarse particularmente de la miocarditis chagásica.

* Forma Pulmonar

En la actualidad es muy común entre los enfermos de SIDA y otras inmunodeficiencias. El aspecto clínico y anatomopatológico corresponde al de una neumonía intersticial típica.

* Otras Localizaciones

Se han descrito formas abdominales, con compromiso importante de los ganglios mesentéricos; miositis con una infección agregada a otras localizaciones y cutáneas, con eritema generalizado y fiebre. Todas ellas no serían sino el resultado del daño producido por *Toxoplasma gondii* en algún órgano determinado sin ocasionar signos ni síntomas característicos.

I.c. TOXOPLASMOSIS DE LA EMBARAZADA.

Para que se produzca la Toxoplasmosis Congénita la futura madre debe sufrir la primoinfección durante el embarazo o en el período inmediatamente anterior a él. En la actualidad se considera como muy remota la posibilidad de que éste cuadro clínico se deba a reactivaciones de una Toxoplasmosis Crónica. La infección materna durante el embarazo rara vez es sintomática y en éstos casos asume la forma de una linfadenopatía o de molestias tan inespecíficas como la fiebre, astenia o dolores musculares. En éstas infecciones, con o sin síntomas, ocurre siempre una parasitemia temporal en la cual los trofozoítos pueden atravesar la barrera placentaria e infectar al producto. Sin embargo según Desmont y otros autores, sólo un tercio de las madres con Toxoplasmosis reciente llegan a tener niños infectados, de éstos sólo un tercio desarrollan la enfermedad como tal. En la mayoría de los casos la transmisión se produce al final de la gestación y en estas circunstancias las infecciones de los niños son leves o suelen manifestarse después del nacimiento. En cambio el daño en el feto es grave si la infección congénita sucede al inicio del embarazo.

Mucho se ha discutido la relación entre el aborto y la Toxoplasmosis. El peligro de éste accidente que puede ocurrir en el primer trimestre del embarazo, se limita a las infecciones maternas adquiridas recientemente y éste fenómeno sucedería en forma esporádica. De acuerdo con estos conceptos, en el aborto habitual o repetido la toxoplasmosis tendría escasa o nula importancia.

La mujer embarazada que ha sufrido una infección reciente, requiere tratamiento antitoxoplásmico, no así las que solo presentan títulos serológicos indicativos de infección prolongada o latente. Existen

diversos criterios para la terapia con medicamentos de uso actual, algunos proponen el tratamiento en el momento del diagnóstico sin importarles el período del embarazo; otros por la posible acción teratogénica se abstienen de indicarlo en el primer trimestre. Durante años se ha tratado con los medicamentos habituales ha embarazadas con Toxoplasmosis Aguda en diferentes períodos de gestación, sin mayores complicaciones sin embargo es preferible hacerlo en la segunda mitad del embarazo. En la Toxoplasmosis, el aborto terapéutico no se justifica en embarazadas con títulos serológicos indicativos de una infección de varios meses de evolución. En las raras excepciones en que se tenga la seguridad de una infección reciente al inicio del embarazo con anticuerpos de tipo IgG en ascenso con títulos mayores a 1:16,000 y de tipo IgM a títulos significativos debe considerarse esa posibilidad, ya que existe el riesgo de la transmisión de la infección sólo en un 10% a un 20% de los casos.

II. TOXOPLASMOSIS POR PROCESO INMUNE DEL HUESPED.

Frenkel basandose en el proceso inmunológico del huésped clasifica a la Toxoplasmosis en general (Congénita y Adquirida) en:

II.1 Infección Toxoplásmica Subclínica.

II.2 Toxoplasmosis Clínica Diferida.

II.3 Toxoplasmosis Clínica Mínima.

II.4 Toxoplasmosis Clínica Aguda.

II.5 Toxoplasmosis Subaguda.

II.6 Toxoplasmosis Crónica.

II.7 Toxoplasmosis Recrudescente o Recurrente.

II.1 Infección Toxoplásmica Subclínica.

La infección subclínica es muy común y se encuentra en la mayoría de los humanos y animales normoinmunes, que no sufren manifestaciones clínicas, y poseen títulos estables anti *T. gondii* de la fracción IgG y por lo tanto una inmunidad de tipo concomitante o de premunición.

En estos seres el tratamiento con dosis elevadas de corticoesteroides e inmunosupresores o una enfermedad que posea estos efectos puede conducirlos a la Toxoplasmosis Recurrente.

La prevalencia de la infección subclínica es mucho mayor en América Latina que en E.U.A., y los diversos grupos de edad de Latinoamericanos tienden a presentar medias de títulos de anticuerpos más altos que sus similares Norteamericanos posiblemente por las mayores tasas de infección y reinfección registradas en América Latina.

II.2 Toxoplasmosis Clínica Diferida.

Este cuadro afecta de 20 a 40 % de niños de mujeres que se infectan durante el embarazo, aún cuando la madre permanezca asintomática.

Aunque el binomio este infectado con la misma cepa de *T. gondii* y a pesar de la transferencia pasiva de IgG antitoxoplásmica de la madre al feto, el resultado final será la enfermedad al nacimiento en aproximadamente 10 % de los niños nacidos de mujeres que se infectan durante el embarazo.

Desde luego, se sabe muy bien que la mayoría de las personas adultas adquieren rápidamente inmunidad antes que se presenten lesiones, síntomas o signos. Pero la mayoría de los productos infectados en el útero, aunque no siempre presentan síntomas al nacer, albergan un número tan elevados de parásitos que acaban por sufrir Coriorretinitis.

Si bien cabe esperar que las infecciones comunes por *Toxoplasma* sean asintomáticas ya que los animales y el hombre han sido seleccionados según Frenkel por su capacidad de adquirir inmunidad, sin embargo ésta debe madurar. En las ratas ello sucede en la segunda semana de vida; en pollos a los pocos días de la salida del cascarón; en gatos en el tercer mes y en los niños entre los 6 y 12 meses alrededor del período del destete. En todos estos casos éste es el momento en que aumentan las probabilidades de exposición a los oocistos o quistes tisulares en la naturaleza.

II.3 Toxoplasmosis Clínica Mínima.

Este tipo de Toxoplasmosis es la que presentan los niños y adultos que sufren Toxoplasmosis Aguda manifestada unicamente por febrícula, un "resfrío" leve o Linfadenopatía. Este cuadro rara vez se diagnostica salvo cuando se descubre en el curso de una investigación epidemiológica suscitada por una forma más grave de la enfermedad. La linfadenopatía con hiperplasia linforreticular suele dar indicio de adquisición de inmunidad. A veces va precedida de manifestaciones agudas. El examen histológico revela la presencia de escasos microorganismos en ganglios linfáticos afectados y generalmente hay quistes; los

títulos de anticuerpos a menudo están elevados. Desde el punto de vista histológico el cuadro es distinto de un linfoma aunque a veces la Toxoplasmosis Aguda se presenta en un enfermo con linfoma incipiente.

II.4 Toxoplasmosis Clínica Aguda.

Se caracteriza por ser una afección aguda, grave, generalizada, a menudo acompañada de lesiones focales graves en pulmones, hígado, corazón, cerebro o músculo esquelético y llega a ser mortal. Han ocurrido muchos casos presuntos, según datos clínicos y serológicos; y solo algunos se confirmaron por el examen histopatológico. Afecta tanto a niños como a los adultos. En algunas circunstancias puede deberse a la existencia de un defecto en la inmunidad natural característica y otras cursar como enfermedad oportunista, presentándose durante la senectud. En otros casos ocurrió en enfermos inmunosuprimidos, ya sea por terapia antitumoral o por haber recibido un trasplante renal o sobre todo cardíaco de un donante crónicamente infectado. En la actualidad es muy común que se presente como una complicación del SIDA.

II.5 Toxoplasmosis Subaguda.

Es una infección adquirida in utero por el feto con inmadurez inmunológica que pese a la presencia de anticuerpos maternos es sintomática durante un período prolongado. Como han señalado Desmont y Couvreur cuando *Toxoplasma gondii* se transmite en el segundo trimestre de la gestación produce un cuadro clínico más grave que cuando se transmite durante el tercero; no obstante la transmisión es más común en este último período (17,47).

Los estudios de Eichenwald han distinguido entre enfermedad generalizada y afección del SNC. La infección generalizada ocurre al principio y luego puede conducir a encefalitis. La encefalitis difusa y la necrosis periventricular son comunes en los Estados Unidos y Europa pero no se encontraron en un grupo de casos estudiados por Frenkel y col. en Costa Rica.

La necrosis periventricular comienza en forma de alteraciones ependimarias causadas por taquizoitos y avanza una vasculitis no asociada con los toxoplasmas. Esta vasculitis periventricular uniforme junto con la trombosis llevó a proponer la hipótesis de que el antígeno atrapado en los tres ventrículos rostrales al acueducto obstruido reaccionan con los anticuerpos hamáticos; es decir una reacción de Ag-Ac *in vivo* luego la trombosis de los vasos afectados origina necrosis periventricular. Se excluyó la posibilidad de una reacción tóxica al observar que no había daño celular en la luz ventricular donde se pudo observar

que el tejido de granulación provenía de las paredes de las arterias grandes trombosadas que no sufrieron necrosis completa.

La aparición de hidrocefalia interna secundaria a obstrucción del acueducto se acentúa por la inflamación y el paso de las proteínas plasmáticas a los ventrículos y conlleva a un pronóstico grave. En los niños que sobreviven pueden observarse calcificaciones intracerebrales visibles a los rayos X como depósitos curvilíneos que corresponden a los focos necróticos en las paredes ventriculares y otros sitios. Se cree que el feto forma activamente anticuerpos a partir de la segunda mitad de la vida intrauterina por lo que es probable que éstos, junto con los anticuerpos maternos adquiridos por difusión pasiva contribuyan aminorar las lesiones viscerales. No obstante las lesiones cerebrales y retinianas progresan a pesar de la presencia de títulos altos de anticuerpos. No se tiene conocimiento alguno acerca de la inmunidad celular en el cerebro del feto o del neonato; pero parece ser baja.

II.6 Toxoplasmosis Crónica.

La enfermedad crónica es una complicación de la infección crónica que persiste casi en todas las personas después de superarse la infección aguda.

Las pruebas más valiosas que hablan en favor de la persistencia crónica se han obtenido en animales en los cuales los quistes pueden identificarse por estudio histológico y por inoculación durante meses y aún años. En la mayoría de los huéspedes excepto en los bovinos. Debido al ciclo de vida de *Toxoplasma gondii* la infección crónica del huésped intermediario es útil al parásito ya que la infección se transmite a los gatos con más eficacia por conducto del quiste tisular que del ooquiste.

Los quistes se encuentran en el cerebro, en los músculos esqueléticos y cardíacos y en muchos otros órganos; cada uno contiene cientos o miles de bradizoitos. Con el desgaste y la ruptura de los quistes y debido a la hipersensibilidad tardía se destruyen también células vecinas. Las lesiones importantes desde el punto de vista clínico se observan particularmente en la retina.

En el humano la mayor parte de las lesiones de la retina curan espontáneamente aún sin quimioterapia lo cual parece sorprendente. Sin embargo en el modelo experimental del criceto se comprobó que la ruptura de los quistes en la retina provoca también lesiones inflamatorias y cicatrización incluso sin proliferación de trofozoitos. De estas observaciones surgió la hipótesis de la "Lesión por Ruptura del Quiste" basada

en la liberación de antígeno en presencia de hipersensibilidad de tipo retardado, pero con inmunidad es suficiente para inhibir la proliferación de los trofozoitos. Por otro lado en el humano y en el criceto se han descrito un número reducido de lesiones producidos por trofozoitos por lo que se cree que en estos casos existe un defecto inmunológico en la retina lo que en últimas fechas se ha dado en llamar uno de los órganos "inmunológicamente privilegiados".

Teniendo en cuenta el doble mecanismo patogénico de la Coriorretinitis Toxoplásmica se ha calculado que el 90 % de los casos son consecuencia de la ruptura de los quistes y las lesiones son causadas por hipersensibilidad de la inmunidad insuficiente; el 10% se debe a la proliferación de los trofozoitos que producen necrosis de células individuales parasitadas y como consecuencia del defecto inmunitario localizado. Como en la práctica a menudo se emplean corticosteroides para disminuir la inflamación debido a la hipersensibilidad hay que advertir que la dosis de estos medicamentos frecuentemente producen inmunosupresión. Por esta razón si el quiste se desintegra muchos de los bradizoitos no serían destruidos y proliferarían como taquizoitos destruyendo activamente las células retinianas parasitadas. Por tal razón al administrar dosis antiinflamatorias de corticosteroides para tratar la Toxoplasmosis Ocular siempre debe de ir acompañada de quimioterapia con Sulfadiazina y Pirimetamina.

II.7 Toxoplasmosis Recrudescente o Recurrente.

Esta infección se caracteriza por lesiones focales situadas comunmente en el cerebro y ocasionalmente en la retina o en el miocardio donde un gran número de taquizoitos destruyen células que han parasitado. La toxoplasmosis recrudescente se presenta de manera característica en personas con inmunosupresión; por ejemplo, enfermos de linfoma, enfermos que reciben quimioterapia antitumoral, en los receptores de trasplantes y actualmente en sujetos con SIDA.

Las lesiones cerebrales estan constituidas por focos necróticos esféricos que en el examen histológico muestran bordes hemorrágicos; en la Tomografía Axial Computarizada se ven lesiones en forma de diana o tiro al blanco y anulares. A veces se denominan abscesos pero no contienen pus. En el huésped inmunosuprimido la ruptura de quistes que liberan bradizoitos permite que las células vecinas sean parasitadas y prolifere un gran número de trofozoitos con lo cual las lesiones se agrandan.

Se cree que la afección local en el cerebro es consecuencia de quistes situados en ese lugar. Sin embargo el factor patogénico principal es el grave defecto inmunológico del SNC que permite la multiplicación de

los parásitos. Se ha propuesto también que los parásitos pueden llegar al cerebro por vía hematogena; pero esto es poco probable por que no suele haber ninguna fuente extraneural de proliferación de toxoplasma. Además como estos pacientes poseen anticuerpos y complemento cabría esperar la neutralización de por lo menos los toxoplasmas intracelulares diseminados por el torrente circulatorio.

En cuanto a la terapia con Sulfadiazina y Pirimetamina se puede decir que es eficaz en las personas con inmunosupresión por que obra directamente sobre los trofozoitos que se están multiplicando.

1.8 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE LOS ESTADOS DEL PARASITO EN TEJIDOS.

Durante la infección aguda rápidamente se multiplican los trofozoitos dentro de vacuolas intracelulares y las células huésped son eventualmente destruidas.

Durante la infección crónica los organismos se dividen lentamente por lo que son llamados bradizoitos; ellos son PAS positivo y son empaquetados firmemente en quistes.

Los trofozoitos pueden semejar a *Leishmania*, pero ésta puede diferenciarse por el cinetoplasto y el núcleo que es distinto al de *Toxoplasma*. Aunque *Histoplasma* tiene un tamaño aproximadamente igual a *Toxoplasma* puede distinguirse por su pared PAS positivo. *Pneumocistis* es mucho más pequeño, el diámetro varía de 1 - 3 μ localizándose por lo general en alveolo pulmonar y los quistes de diferentes formas son teñidos de plateado por la GMS. Las ultraestructuras de *Toxoplasma* son características.

Los bradizoitos se encuentran en quistes; ellos en el cerebro pueden ser diferenciados de *Microsporidans* (*Encephalitozoon* y *Nosema*) cuya pared celular impide la tinción nuclear con hematoxilina; la pared celular de éstos protozoarios son teñidos por fuschina ácida son gran positivos y los organismos contienen un gránulo PAS positivo. Los bradizoitos de *Toxoplasma* en músculo estriado semejan *Sarcocystis*, pero éste último es usualmente largo y redondeado en ambos extremos; están contenidos en quistes los cuales son más largos que los de *Toxoplasma*; frecuentemente dividido por septos y algunas veces contienen organismos degenerados al centro de la división. Los estados Leishmaniales (amastigotes) de *Trypanosoma cruzi* en miofibras tienen un cinetoplasto y no almacena material PAS positivo como lo hace *Toxoplasma* y *Sarcocystis*. También las ultraestructuras de estos quistes ayudan a su identificación.

1.9 DIAGNOSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS.

Se considera a un grupo de signos y síntomas nerviosos, oculares y viscerales que cuando se encuentran asociados forman un cuadro clínico que con ayuda de una o varias pruebas de laboratorio repetidas en varias ocasiones nos permitirán formular un diagnóstico preciso de la Toxoplasmosis.⁽²⁰⁾

El diagnóstico de Toxoplasmosis, ante un padecimiento grave, presenta cierta dificultad ya que Toxoplasma en forma de quiste, puede compartir su sintomatología con un proceso grave de otra etiología (por ejemplo la infección citomegálica, rubeola etc.). La diversidad de síntomas, la presencia de cuadros clínicos, inespecíficos y la existencia de formas asintomáticas o inaparentes que puede originar un cuadro agudo o ser foco de infección para otros individuos, también constituye un problema en el diagnóstico de la Toxoplasmosis.^(20,11)

Existen pruebas específicas para el diagnóstico de la Toxoplasmosis y se pueden clasificar en dos métodos:

- a) Método Directo
- b) Método Indirecto

a) Método Directo

Por medio de éste se demuestra la presencia del agente etiológico. Esta demostración se puede realizar mediante:

La observación de las formas del Toxoplasma (trofozoitos o quistes) por el microscopio ordinario de fase y electrónico en líquidos orgánicos normales como: líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, sangre, esputo, moco, heces, etc; en productos patológicos: exudado conjuntival, amigdalino, bronquial, peritoneal, pleural, vaginal, etc.

Estudios de improntas, de biopsias y cortes histológicos de lesiones papulosas de piel de ganglios o de órganos obtenidos por intervenciones quirúrgicas o post-mortem como ojo, cerebro, músculo, útero, corazón, etc., examinados por microscopio ordinario de fluorescencia o en contraste de fases.

Aislamiento del parásito por inoculación en animales de laboratorio (ratón conejo cobayo hamster etc.), usando diversas vías (intradérmica, intraperitoneal, etc.). En la primera semana se buscan taquizoitos en el exudado peritoneal de los ratones inoculados; a las seis semanas se recurre al diagnóstico serológico de los animales sobrevivientes y si ésta resulta positiva se sacrifican los ratones para comprobar la presencia de quistes en el cerebro. En la actualidad la detección de antígenos toxoplásmicos en tejidos puede realizarse por inmunofluorescencia directa o por ELISA. La ventaja de éste último método es que permite discriminar entre infección reciente o crónica (Van Knipen y Paggabean 1982).

A veces se puede visualizar el parásito en el paciente agudo por microscopía. Para tal fin resulta muy útil la técnica de inmunofluorescencia directa.

Los frotis y las improntas se colorean con las técnicas de Wright, Giemsa etc. Los estudios histológicos se verifican en cortes obtenidos por congelación o inclusión en parafina no se recomienda la celuidina. Las coloraciones más usadas son: Giemsa aplicada a la histología Hematoxilina y Eosina de Heidenhain Weigert etc.

La dificultad para hallar al toxoplasma en sus diversas formas de evolución por éste método directo, hace que no se utilice en la práctica de rutina como en el Paludismo, Leishmaniasis etc., cuando se sospecha Toxoplasmosis humana. El aislamiento en cultivo de tejidos o en embrión de pollo es poco usual.

b) Método Indirecto

Consiste en demostrar la existencia de anticuerpos específicos contenidos en el suero sanguíneo, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso y piel. Para el estudio de éste método hay diversas pruebas (tabla 2). Las pruebas serológicas son muy importantes para hacer el diagnóstico de la Toxoplasmosis. Puesto que es frecuente que estén elevados los anticuerpos contra el parásito en la población en general, el diagnóstico a partir de pruebas serológicas necesita la demostración de un incremento importante en la concentración de dichos anticuerpos. Una concentración muy elevada de anticuerpos no es por sí sola prueba suficiente para diagnosticar Toxoplasmosis Activa aunque si es un dato útil para tomar en cuenta al hacer otros procedimientos recomendados.

Es difícil hacer el diagnóstico de la Infección Congénita con pruebas serológicas ya que la IgG materna atraviesa la barrera placentaria y persiste varios meses en la circulación del recién nacido. Pero en vista

de que los anticuerpos IgM antitoxoplasma al nacimiento o después de varios meses de este, es una prueba de presunción de Toxoplasmosis Congénita. Si solo se cuenta con métodos para medir IgG, será necesario demostrar que los anticuerpos persisten durante los primeros 6 meses de vida.

TABLA 2

DIAGNOSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS METODOS INDIRECTOS
* Reacción Neutralizante (RN), 1937
* Fijación de Complemento (RFC), 1937
* Prueba Alérgica o Intradermoreacción a la Toxoplasmina (IDR), 1948.
* Reacción de Sabin y Feldman (RSF), 1948.
* Reacción de Aglutinación con partículas inertes sensibilizadas (RAg), 1955.
* Prueba de Hemoaglutinación (RHA), 1957.
* Prueba de Lebistes Reticulatus (RLR), 1958.
* ELISA.
* Prueba con Anticuerpos Inmunofluorescentes (RAIF), 1957.
* Prueba de Inmunolectroforesis, 1957.

Una demostración muy útil de infección activa o reciente son los anticuerpos IgM contra Toxoplasma en pacientes con sospecha de Toxoplasmosis Adquirida. Tales anticuerpos suelen demostrarse mediante la prueba de Anticuerpos Fluorescentes Indirectos pero pueden persistir hasta un año. La prueba anteriormente mencionada para buscar anticuerpos IgG, la Hemaglutinación Indirecta y la de Sabin y Feldman son los procedimientos más usados para establecer con métodos serológicos el diagnóstico de Toxoplasmosis.

La prueba de coloración de Sabin y Feldman se basa en el hecho de que los trofozoitos libres no se tiñen por el azul de metileno básico, si se ponen en presencia de un suero con anticuerpos específicos. Es una prueba muy sensible y de especificidad satisfactoria pero requiere el empleo de ratones y toxoplasmas vivos.

La prueba de Inmunofluorescencia Indirecta da resultados comparables sin necesidad de utilizar parásitos vivos y en la actualidad es de amplio uso.

La prueba de Hemaglutinación Indirecta da resultados positivos más tardíamente; por tanto su aplicación es poco útil en el período agudo de la infección. Además hay ciertas dificultades para estandarizar el antígeno de ésta prueba.

La prueba de Fijación de Complemento tiene limitaciones similares a la de Hemaglutinación Indirecta. Aunque se emplea poco es una de las más útiles para hacer la diferencia entre una infección reciente y de una antigua. La razón de esto es que los anticuerpos teñidos por Fijación de Complemento aparecen con mayor lentitud que los detectados por las pruebas de RSF, Hemaglutinación Indirecta, Anticuerpos Fluorescentes Indirectos. La Prueba de Fijación de Complemento también se vuelve negativa en el transcurso de pocos años en comparación con los anticuerpos persistentes demostrables con las demás pruebas.

La Intradermoreacción con Toxoplasmina detecta hipersensibilidad en huésped normal. La reactividad aparece después de algunos meses de adquirida la infección, por lo tanto su mayor utilidad diagnóstica se refiere a casos crónicos o en estudios epidemiológicos.

Resulta de especial interés las pruebas de Inmunofluorescencia Indirecta y ELISA que permiten detectar anticuerpos IgM característicos de la enfermedad aguda tanto en la Toxoplasmosis Congénita como en la Adquirida. La demostración de la presencia de anticuerpos IgM en el suero de niños recién nacidos es prueba fehaciente de que el feto los ha elaborado durante la vida intrauterina en respuesta a la infección de que las inmunoglobulinas maternas de ésta clase normalmente no pueden traspasar la barrera placentaria (sin lesión de la placenta). En la Toxoplasmosis Aguda Adquirida las IgM llegan a niveles máximos en el primer mes de la enfermedad y persisten en término medio unos 8 meses. Se estima que la prueba de ELISA para anticuerpos específicos IgM tiene una sensibilidad de 97% y una especificidad del 100% (Wiielaard et al. 1983). La prueba de ELISA fue adaptada para su uso en mataderos con el fin de detectar Toxoplasmosis en porcinos (Waltman et al. 1984).

En todas las pruebas que no discriminan entre los anticuerpos IgM e IgG se debe determinar el aumento de los anticuerpos por exámenes serológicos sucesivos.

c) PRUEBA TERAPEUTICA

Ante una sintomatología sugestiva de Toxoplasmosis y una serología muy baja 1:4 o negativa, o con una serología positiva alta en una persona aparentemente normal, algunos autores dicen que una terapéutica considerada antitoxoplásmica (Pirimetamina y sulfas) han tenido curaciones sobre todo en padecimientos oculares y nerviosos y han considerado dicha prueba como de valor positivo. En algunos casos observaron después del tratamiento aumento en el título de anticuerpos que fueron descendiendo paulatinamente hasta hacerse negativos. Otras veces vieron agudizarse el cuadro clínico en los primeros días para luego ir desapareciendo los principales síntomas. En casos con radiografía de pulmón con imágenes sospechosas de tuberculosis que no habían desaparecido con el tratamiento específico, y en casos de diagnóstico de Toxoplasmosis, el tratamiento con Pirimetamina y Sulfas hizo que las imágenes desaparecieran en término de un mes, quedando limpio el pulmón radiológicamente.

d) DIAGNOSTICO CLINICO

En cuanto al problema clínico, debemos de tener en cuenta que existen una serie de gérmenes que por su biología y su patogenicidad dan cuadros clínicos semejantes a la Toxoplasmosis Congénita, aguda o subaguda que generalmente se caracteriza por una encefalo-retinopatía; o con la Toxoplasmosis Adquirida cuya sintomatología es todavía más difusa, la cual se puede confundir en el primer caso con: Encefalitis Virales, Rubéola, Tifus Exantémico Inclusión Cytomegalica, Leptospirosis, Brucelosis. En el segundo con: Linfogranuloma, Mononucleosis Infecciosa, Hodgkin, Tuberculosis, etc. En la tabla 3 se pueden observar algunas diferencias clínicas entre Toxoplasmosis Congénita y Embriopatía Rubéolica; también se pueden observar diferencias anatomopatológicas entre ambas enfermedades (Franceschetti y Yamatter 1953; Francois 1963).

1.10 QUIMIOTERAPIA DE LA TOXOPLASMOSIS

Hasta la fecha no se conoce ningún tratamiento eficaz contra todas las modalidades clínicas de la Toxoplasmosis; la quimioterapia empleada ha sido diversa con pocos, y en algunos casos sin resultados favorables.

Por tratarse de un protozoario se han probado todas las drogas empleadas en éstas parasitosis, y la que

presenta mayor actividad contra el *Toxoplasma* es la Pirimetamina sola o en combinación con las Sulfonamidas.

Además, debe tenerse en cuenta para el tratamiento la influencia de varios factores, algunos dependientes del parásito y otros del huésped y del medio; como la virulencia, grado de infección y evolución.

a) SULFAMIDOTERAPIA

Sabin y Warren (1941) comprobaron la acción de la Sulfapiridina en la *Toxoplasmosis experimental* en conejos y ratones. Estos mismos resultados fueron confirmados por Biocca y Pasqualin (1942) y muchos otros autores.

Eyles (1956), Rubin (1957), Frenkel y Jacobs (1958), recomiendan los derivados de la Pirimidina como la Sulfadiacina, Sulfameracina, Sulfametecina y Sulfatiazol porque dichos productos tienen un poder de difusión grande en el interior de la célula; en cambio la Sulfapiridina, Sulfisoxazol, Sulfadimetina y Sulfafurazol, presentan difusión más lenta.

En base a lo anterior, la Pirimetamina debe ser usada en combinación con la Sulfadiacina o Trisulfapirimidina (Sulfadimidina, Sulfameracina y Sulfadacina), para alcanzar el efecto o la actividad sinérgica contra los trofozoitos del *Toxoplasma*, ya que las Sulfonamidas inhiben el ácido dihidrofólico.

Las dosis de Sulfadiacina o de Trisulfapirimidina es de 75 mg/Kg hasta un máximo de 4 g, seguido por 150 mg/Kg/día (hasta 8 g al día) dividido en dos tomas. Estos dos fármacos son bien absorbidos después de la administración oral y son ampliamente distribuidas en el cuerpo con buena penetración en el fluido cerebroespinal.

Estos fármacos son pocos solubles en el agua y su solubilidad aumenta con la alcalinidad, parte del fármaco se inactiva al combinarse con las proteínas del plasma y parte se acetila en el hígado siendo inactivada; cualquiera de las dos formas se excretan en la orina.

Las reacciones adversas de las Sulfonamidas son muy severas por lo que su uso es muy limitado. Las náuseas y las diarreas son características de la larga biodegradación de éstas sulfonamidas, así como

TABLA 3.- Diferencias Clínicas Entre Toxoplasmosis Congénita y Embriopatía Rubéolica.

SINTOMAS	EMBRIOPATIA TOXOPLASMICA	EMBRIOPATIA RUBÉOLICA
A.- SINTOMAS CLINICOS		
OCULARES		
Microftalmía	Frecuente	Frecuente
Catarata	Rara a veces de tipo complicando con sinequias posteriores	Muy frecuente de tipo primario
Fondo de ojo	Coriorretinitis cicatricial macular de tipo en "roseta" o pseudocoloboma. Todos periféricos francos.	Alteraciones pigmentarias centrales o periféricas de tipo pseudoretinopatía pigmentaria
Estrabismo	Frecuente	Frecuente
Nistagmus	Frecuente	Frecuente
NERVIOSOS		
Encefalomicelitis aguda subaguda o crónica	Frecuente (a veces mortal).	Ausente
Hidrocefalia	Muy frecuente	Excepcional
Calcificaciones cerebrales	Muy frecuente	Ausentes
Retardo psicomotor	Muy frecuente	Muy frecuente con hiperkinesia en ocasiones
Sordera	Excepcional	Muy frecuente
Líquido cefalorraquídeo	Xantocromía disociación albúmino citológica	Normal
Fenómeno dígito ocular	Algunas veces en el caso de ambliopía bilateral	Casi constante con movimientos hiperkinéticos característicos
CRANEO		
Morfología	A menudo hidrocefalia o microcefalia	A menudo braquimicrocefalia
hiperostosis frontal	Rara	Ausente
OTROS ORGANOS		
Malformaciones cardíacas	Excepcional	Muy frecuente
Displasia dental	Excepcional	Frecuente
Malformaciones diversas	Excepcional	Poco frecuente
B.- SINTOMAS ANATOMOPATOLOGICOS		
SISTEMA CENTRAL NERVIOSO		
Alteraciones macroscópicas	Frecuentes (Dilatación ventricular necrosis)	Excepcional
Alteraciones microscópicas	Encefalomicelitis granulomatosa	No características.
OJOS		
Malformaciones	Tipo posinflamatorio	Muy frecuente
Lesiones inflamatorias	Muy frecuentes	Ausentes
MALFORMACIONES DE OTROS ORGANOS		
Oídos, corazón	Muy excepcional, raras	Frecuente (hipoplasia del órgano corti) muy frecuentes

también la ocurrencia de cristaluria, nefrolitiasis, originada por la poca solubilidad. Además, por su toxicidad pueden dar lugar a una anemia hemolítica con agranulocitosis y púrpura trombocitopénica.

b) ESPIRAMICINA

La Espiramicina es un antibiótico macrólido extraído de *Streptomyces ambofaciens* por Pinnert-Sindico (1954).

La Espiramicina es usada frecuentemente para el tratamiento de la mujer embarazada con infección aguda ya que se mantienen concentraciones altas en el suero materno, cordón umbilical y placenta (Hudson et al 1956; Remington y Desmonts 1983).

La dosis usual en adultos es de 2 a 4 g por día dividido en cuatro tomas, en niños la dosis diaria mínima es de 50 mg/kg; en casos graves 100 mg/Kg de peso, el tratamiento de sosten debe ser de 6 a 8 semanas.

La toxicidad es baja, no irrita la mucosa gástrica ni altera la mucosa intestinal; los trastornos observados como tóxicos se reducen a cefaleas y diarreas que son transitorias.

c) CLINDAMICINA

La Clindamicina no es tan efectiva como la Pirimetamina y las Sulfonamidas en la Toxoplasmosis murina y usualmente no es recomendada para el tratamiento de la enfermedad en humanos (Araujo y Remington 1974). Sin embargo la Clindamicina es concentrada en el coroides y ha sido efectiva en la Toxoplasmosis Ocular en conejos infectados experimentalmente (Tabbara y O'Conor 1975; Tabbara et al 1974). La dosis que generalmente se usa para el tratamiento de Coriorretinitis Toxoplásmica es de 300 mg oralmente cada 6 horas durante 3 semanas (Lakhanpul 1983; Tabbara y O'Conor 1980).

Los cuadros de dosificación de la Clindamicina no están bien definidos pero se acepta de 2,400 a 4,800 mg/día intravenosamente y de 1,200 a 2,400 mg/día dividido en 3 ó 4 tomas al día.

1.11 REGIMEN DE TRATAMIENTOS

a) INFECCION AGUDA EN EL PACIENTE INMUNODEFICIENTE

Estas infecciones son tratadas hasta que la disfunción del órgano ocurre o hasta que los síntomas sistémicos de la infección son severos o prolongados. El tratamiento indicado en éste caso es la combinación de Pirimetamina y Sulfadiacina o Trisulfapirimidina en dosis de 25 a 50 mg/día y de 6 a 8 g/día respectivamente, acompañándose de ácido fólico durante un período de por lo menos 3 semanas, hasta que las necesidades de una nueva terapia sea determinada.

b) TOXOPLASMOSIS AGUDA EN EL PACIENTE INMUNODEFICIENTE

La Toxoplasmosis aguda en el paciente inmunodeficiente es el resultado de una nueva infección adquirida como puede ser la ingestión de quistes tisulares, adquisición de órganos trasplantados o por la reactivación de la infección crónica latente.

El tratamiento de primera línea que se emplea es la combinación de Pirimetamina y Sulfadiacina o Trisulfapirimidina con ácido fólico en las dosis usuales. El tratamiento se continúa por 4 ó 6 semanas después de la eliminación de todos los signos y síntomas de la infección activa; el curso del tratamiento es frecuentemente por 6 meses o más pero el paciente está expuesto al riesgo de los efectos potenciales de la droga.

c) TOXOPLASMOSIS AGUDA EN PACIENTES CON SIDA

El tratamiento recomendado es una combinación de Pirimetamina y Sulfonamida. La Pirimetamina se suministra en una dosificación de 200 mg diarios dividido en dos tomas, seguido de 75 a 100 mg/día. La dosis de Sulfadiacina o Trisulfapirimidina es de 6 a 8 g/día oralmente. El tratamiento es continuado hasta que los signos y síntomas de la enfermedad aguda son controlados, usualmente después de las 6 semanas. En pacientes que no toleran la Sulfodiadina o las Sulfonamidas, la Clindamicina se puede emplear en dosis de 2,400 a 4,800 mg intravenosamente por día y de 300 a 450 mg 3 ó 4 veces diariamente.

En los pacientes tratados, aproximadamente en un 50 % se ha detenido el tratamiento debido a los efectos

adversos. La recaída se ha presentado en más de un 80 % de los pacientes que han suspendido el tratamiento (Israelki y Remington 1988), en un lapso de 7 semanas. La restitución de la combinación de Pirimetamina y Sulfonamida controla la recaída.

La dosis inicial de ácido fólico para el tratamiento de estos pacientes es de 10 a 15 mg/día, la dosis es aumentada cuando ocurre la supresión de la médula ósea.

d) PREVENCIÓN DE LA TOXOPLASMOSIS EN RECEPTORES DE TRANSPLANTES DE CORAZÓN

Los receptores seronegativos de un trasplante de corazón proveniente de un donador seropositivo frecuentemente desarrollan toxoplasmosis; éste problema puede ser solucionado usando Pirimetamina por vía oral en dosis de 25 mg/día durante 6 semanas después de la transplantación (Hakim et al 1986). Se desconoce si ésta misma terapia puede funcionar para receptores de otros órganos (10).

e) INFECCIÓN TOXOPLÁSMICA AGUDA ADQUIRIDA EN EL EMBARAZO

El régimen de fármacos para el tratamiento de mujeres embarazada para prevenir la infección congénita es tentativo.

Las recomendaciones estándar incluye el uso de Espiramicina 3 g/día dividido en 3 tomas, también se puede emplear Pirimetamina pero ésta debe ser usada después del primer trimestre del embarazo debido a los efectos teratogénicos que produce, más la combinación de Sulfonamidas.

f) TOXOPLASMOSIS CONGENITA

Esta infección es tratada con la combinación de Pirimetamina y Sulfonamida o con Espiramicina. La Pirimetamina es administrada en una dosis de 1 mg/kg cada dos días, la Sulfodiácina o Trisulfapirimidina a razón de 100 mg/Kg/día dividido en dos tomas, el ácido fólico 5 mg cada segundo día y la Espiramicina a 100 mg/Kg/día en 2 ó 3 tomas.

El curso del tratamiento de Pirimetamina más Sulfonamida debe ser durante 3 semanas y se puede alternar

con 4 ó 6 semanas de Espiramicina. Los tratamientos se recomiendan por un mínimo de 6 meses pero no más de un año porque el sistema inmune del infante madura y controla la infección.

g) TOXOPLASMOSIS OCULAR

La combinación de Pirimetamina y Sulfonamida en dosis de 75 mg/Kg/día y 2 g/día respectivamente establece el primer régimen de tratamiento, es recomendado para el tratamiento de coriorretinitis activa. El tratamiento se administra por un mes y en caso de que la infección activa persista se sigue administrando tratamiento. Usualmente, el mejoramiento comienza después de los 10 días; debido a los efectos presentados con Pirimetamina y Sulfonamida, los oftalmólogos han empleado la Clindamicina en modelos humanos y animales con buenos resultados. la Clindamicina en conejos es altamente concentrada en la córnea, iris y retina (Tabbara y O'Conor 1975) y es efectiva en la coriorretinitis experimental en conejos (Tabbara et al 1974). La Clindamicina a dosis de 300 mg oralmente 4 veces al día parece ser muy efectiva en la Coriorretinitis Toxoplásmica experimental en humanos con resultados comparables a los observados con Pirimetamina y Sulfonamida (Lakhampal et al 1983).

CAPITULO 2

GENERALIDADES DE LA PIRIMETAMINA Y EL NIFURTIMOX

A) PIRIMETAMINA

A.1 DESARROLLO HISTORICO

En 1950 la fundación Wellcome (Laboratorios Burroughs Wellcome) en Inglaterra sintetizó la Pirimetamina que en un principio o en su aparición fue adicionada a la lista de los antimalarios sintéticos por que demostró ser altamente efectiva contra *Plasmodium gallinaceum* en infecciones de pollos y contra *Plasmodium berghei*.

En 1952 se utilizó por primera vez para el tratamiento de la Toxoplasmosis en ratones infectados experimentalmente por Eyles y Coleman, confirmandose su efectividad por Summers (1953), Treviño y cols. (1953) y Mohor (1953).

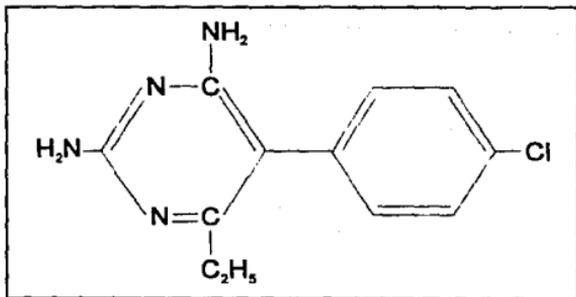
A.2 CARACTERISTICAS GENERALES

Nombre Químico: 2,4-diamino-5-p-clorofenil-6-etilpirimidina

Nombre Genérico: Pirimetamina

Formula Molecular: $C_{12} H_{13} Cl N_4$

Formula Estructural:



Peso Molecular: 248.7 g/gmol
Solubilidad: Insoluble en agua; 0.5 % en etanol y cloroformo. Soluble en ácidos minerales diluidos calientes.

pH/pK: pH = no figura debido a la insolubilidad de Pirimetamina en solventes acuosos. pKa = 7.2 (a 20 °C)

Coefficiente de Partición: Octan-1-ol/pH 1.2 = 0.09
Octan-1-ol/pH 6.0 = 23.00
Octan-1-ol/pH 7.5 = 106.00

LD 50 (Administración oral): Ratones = 89 mg/Kg
Ratas = 165 mg/Kg

La Pirimetamina es una fenilpirimidina sustituida que tiene mayor acción sobre las formas libres proliferativas (virulentas) y de reproducción rápida (cepa RH) que sobre las formas o cepas poco virulentas o de multiplicación lenta (cepa 113-CE) y menos sobre las formas quísticas, según Cook y Jacobs (1958) y Kauffman y cols. (1959).

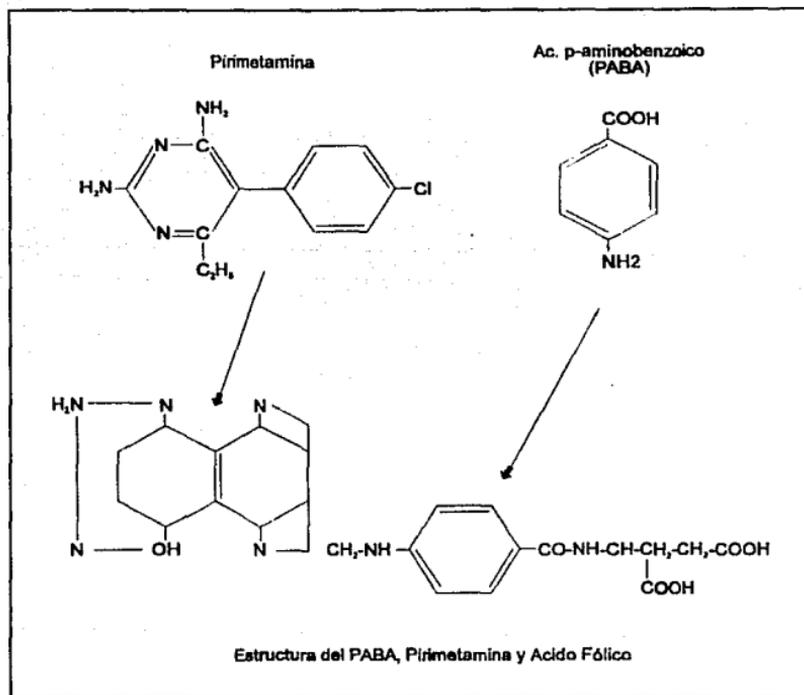
A.3 MECANISMO DE ACCION

En 1952 Hitchings demostró que la Pirimetamina es antagonista del ácido fólico y de los ácidos folínicos interponiéndose entre el ácido p-aminobenzoico y el ácido folínico, e impidiendo así que el *Toxoplasma* pueda sintetizar las nucleoproteínas necesarias para su desarrollo a través del ARN. A continuación se muestra la acción antagonista del PABA y la Pirimetamina sobre el ácido fólico.

La Pirimetamina tiene la propiedad de impedir la división nuclear de los parásitos de la Toxoplasmosis, se acepta que dicha acción se realiza por interferencia del metabolismo actuando como antimetabolito de los folatos siendo dicho metabolismo esencial para la división del núcleo.

Por lo tanto, se trata del mismo mecanismo de acción de la Trimetoprima y dicha acción se produce inhibiendo la enzima dihidrofolato reductasa; por otra parte la Pirimetamina al actuar como antimetabolito

produce una carencia de folato (tetrahidrofolato) necesario para la síntesis del DNA indispensable para la división nuclear de los parásitos.



A.4 DOSIS Y ADMINISTRACION

Para su administración y dosificación existen comprimidos que contienen 25 mg del fármaco base. Para el tratamiento se aconseja la siguiente dosificación :

Adultos y Niños mayores de 6 años:

- * una dosis inicial de 50 mg de Pirimetamina (2 tabletas) seguidas de 25 mg al día (1 tableta).

Niños menores de 6 años:

- * 2 mg/Kg como dosis inicial (hasta una dosis máxima de 50 mg) seguidos de 1 mg/Kg al día (hasta una dosis máxima de 25 mg).

Niños menores de 2 años deberán tomar 1 mg /Kg/día.

Cuando se calcula la dosis en base al peso corporal promedio la dosis recomendada para niños menores de 6 años es la siguiente:

Niños entre 2 y 6 años:

- * Dosis inicial, 25 mg de Pirimetamina seguidos de 12.5 mg de Pirimetamina al día.

Niños entre 10 meses y 2 años:

- * Dosis inicial, 12.5 mg de Pirimetamina al día.

Niños entre 3 y 9 meses:

- * La dosis recomendada es de 6.25 mg de Pirimetamina al día.

Niños menores de 3 meses:

- * 6.25 mg de Pirimetamina en días alternos.

La norma terapéutica debe ser instituida por el clínico, de acuerdo con el caso, la forma de la Toxoplasmosis y el estado del paciente.

La dosificación más baja es indicada para mujeres embarazadas, pacientes enfermos inmunocompetentes y para pacientes con SIDA en terapia supresiva de mantenimiento. Las dosis elevadas son usadas para el control de la enfermedad aguda en pacientes inmunocomprometidos, por ejemplo Encefalitis Toxoplásmica en pacientes con SIDA.

A.5 TOLERANCIA

La dosis de 25 mg diarios, durante dos meses continuos es generalmente tolerada; 50 mg por 15 días con descanso de 8 días son tolerados aunque se repita el tratamiento durante 3 ó 4 meses; 75 mg son poco tolerados, pues siempre hay signos de intoxicación y su acción antiparasitaria es igual a la de las dosis anteriores por lo que no se recomienda esa cantidad.

A.6 BIOTRANSFORMACION

La vida media de eliminación en plasma de la Pirimetamina en adultos es aproximadamente 100 hrs. y sus recomendaciones para la administración varía desde una dosis diaria a una dosis cada 3 ó 4 días, esto depende de la severidad de la enfermedad.

A.7 TOXICIDAD

Las propiedades farmacológicas estudiadas en el mono por Hughes y Schmidt (1953), dieron a conocer la toxicidad del fármaco; la administración de 5 mg /kg/ día durante nueve días provocó atrofia esplénica y ganglionar, trastornos en la eritropoyesis, degeneración en la corteza suprarrenal y pigmentación cutánea.

En el hombre puede dar diferentes signos de intoxicación dependiendo de la dosis, del tiempo de administración y del individuo; los niños a veces toleran mejor el tratamiento que los adultos.

Los trastornos frecuentemente observados son: malestar general, cefalea intensa, que a veces se acompaña de fiebre, dolor del globo ocular, náuseas, vómitos, mal sabor de boca (sabor a cobre), dolores abdominales, dolores musculares, sobre todo en miembros inferiores, calambres, hormigueo en la punta de los dedos, vértigo, pérdida de equilibrio, adelgazamiento, astenia, taquicardia, taquipnea, ligera cianosis y en ocasiones erupción cutánea de tipo alérgico.

Los trastornos más serios son del tipo hematológico sobre la médula ósea, con repercusión sobre los glóbulos rojos, observandose anemia hipocrómica, macrocítica y megaloblástica, con disminución de hemoglobina; también actúa sobre la leucopoyesis generando leucopenia con neutropenia y a veces

agranulocitosis (Jacobs y col. 1956); la complicación más seria es la trombocitopenia.

El colapso circulatorio y ulceración bucal se ha asociado con la Pirimetamina, pero solo en pacientes tratados con dosis mayores a las recomendadas. En algunos neonatos tratados con Toxoplasmosis Congénita se ha desarrollado hiperfenilalaninemia. Se ha reportado un caso de un paciente con predisposición a la epilepsia en el que se precipitó un ataque de gran mal.

La Pirimetamina ha sido reportada como teratogénica en animales (Remington y Desmots 1983), y no debe ser administrada durante el primer trimestre del embarazo.

A.8 EMPLEO EN EL EMBARAZO

Su empleo en el embarazo solamente se indica en los siguientes casos :

- 1.- Mujeres que se tomen seropositivas durante el embarazo.
- 2.- Mujeres que presenten aumento en la titulación de anticuerpos antitoxoplasma durante el embarazo.

A pesar de que los ojos algunas veces son afectados durante un ataque agudo adquirido, se considera que la Toxoplasmosis ocular es una manifestación tardía de la infección congénita. Así que en la mayoría de los casos el daño ocular no refleja peligro alguno para el feto. Las mujeres embarazadas deben ser tratadas solamente en presencia de elevación en la titulación de anticuerpos o cuando las lesiones oculares amenacen la visión de la madre.

Después de todas las consideraciones anteriores, se debe emplear folinato de calcio simultáneamente para contrarrestar los efectos mielosupresivos de la Pirimetamina.

A.9 CONTRAINDICACIONES

La Pirimetamina no debe administrarse a pacientes con antecedentes de hipersensibilidad a la Pirimetamina.

A.10 PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

La Pirimetamina deberá emplearse con precaución en pacientes con alteraciones hepáticas y/o renales, alteraciones o deficiencias de folatos debido a enfermedades congénitas o desnutrición.

Para contrarrestar la supresión de la médula ósea, debe administrarse folinato de calcio o ácido fólnico rutinariamente por vía oral en dosis de 5 a 10 mg/día excepto en pacientes con SIDA.

Además, también deben realizarse biometrías hemáticas completas semanalmente durante el tratamiento y después de haber suspendido el mismo. Si se presentan signos de deficiencias de folatos, el tratamiento deberá discontinuarse y administrarse dosis altas de folinato de calcio.

Como el ácido fólnico es costoso, una alternativa es la levadura de cerveza que no es tan costosa y es aparentemente efectiva administrando una tableta 3 veces al día (Sabates et al 1982).

A.11 TRATAMIENTO DE LA SOBREDOSIFICACION

Se deberá dar el tratamiento de soporte manteniendo las vías aéreas sin obstrucción y un adecuado control de las convulsiones, deberá asegurarse la hidratación para una diuresis óptima. El lavado gástrico será de utilidad únicamente si se hace dentro de dos horas siguientes a la ingestión, ésto debido a la rápida absorción. El folinato de calcio deberá administrarse hasta que se hayan eliminado los signos de toxicidad. Pueden considerarse de 7 a 10 días antes de que aparezcan los signos tardíos característicos de la Leucopenia, considerandose necesaria la administración del folinato de calcio mientras dure el período de riesgo.

B) NIFURTIMOX

B.1 DESARROLLO HISTORICO

En 1952 los 5-Nitrofuranos fueron probados por Packchanian encontrando que algunos de ellos presentaban actividad contra *Trypanosoma cruzi*. Brener, en 1961 fue el primero en demostrar que el tratamiento por un período largo con un Nitrofurano (Nitrofurazona) presentaba efectos curativos en infecciones experimentales de *T. cruzi*, hechos que motivaron el ensayo del fármaco en casos humanos.

En 1962 en Alemania, Herlinger, Mayer y Petersen, sintetizaron para la Casa BAYER un derivado del Nitrofurano al que llamaron Nifurtimox (cuyo nombre comercial es "LAMPIT"), años más tarde se demostró que éste derivado presentaba mayor actividad comparada con sus análogos estructurales en la eliminación del parásito *Trypanosoma cruzi* (Gutteridge 1980; Brener 1984).

B.2 CARACTERISTICAS GENERALES

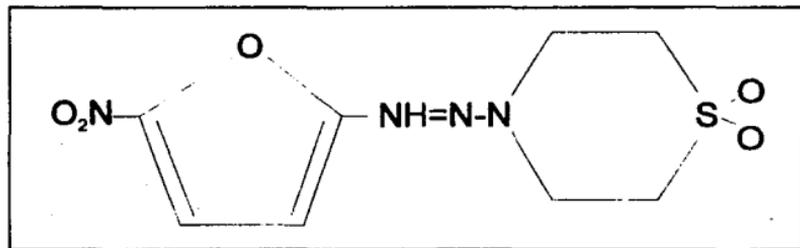
Es un derivado Nitrofurilidínico eficaz en la infección por el *T. cruzi* que actúa tanto sobre su forma hemática (fase de tripomastigote) como tisular (fase de amastigote). Este método de acción es fundamental para la erradicación del parásito del organismo.

Nombre Químico: 3-metil-4-(5'-nitrofuriliden-amino)-tetrahidro-4H-1,4-tiazina-1,1-dióxido.

Fórmula Molecular: $C_{10} H_{13} O_3 N_3 S$

Nombre Genérico: Nifurtimox.

Fórmula Estructural:



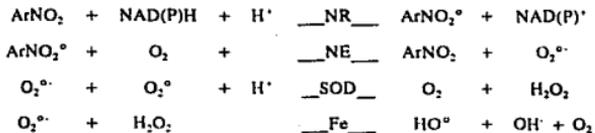
B.3 MECANISMO DE ACCION DE LOS NITROFURANOS

Según Green y col. (1951), los Nitrofuranos actuarían como sustancias "despojadoras" que oxidarían los radicales SH, indispensables para ciertas enzimas necesarias en el metabolismo de los glúcidos o para la síntesis proteica. Paul y col. (1956), sugieren que los Nitrofuranos serían receptores de los electrones de las enzimas flavoprotéicas, sustituyendo de éste modo al citocromo C. Por último existiría una interferencia con los aminoácidos esenciales (Banci y Tubaro 1962).

Investigaciones hechas por Haberkon y col. mediante el empleo de la microscopía electrónica, han demostrado que las mitocondrias se ven especialmente afectadas y que además se llega a una reducción del número de ribosomas. Junto a ello se observa una vacuolización del citoplasma y un aumento de los espacios perinucleares.

En el protozooario (*Trypanosoma cruzi*) se ha informado la presencia de enzimas oxidativas que intervienen en la producción de peróxido de hidrógeno y del anión superóxido, como el citocromo P-450 y la citocromo C reductasa. En mamíferos existen mecanismos que permiten eliminar la presencia de éstos compuestos, pero en el parásito la eficiencia de eliminación de los peróxidos y superóxidos está disminuída por la ausencia de la catalasa, α -tocoferol, ácido ascórbico y glutatión peróxidasa (dependiente de Selenio). La actividad de superóxido dismutasa está presente en el protozooario, lo que aunado a la carencia de un sistema efectivo de eliminación de agua lo hace susceptible a los radicales libres.

Estos radicales libres pueden reaccionar con macromoléculas y producir alteraciones en enzimas, membranas y ácidos nucleicos; tienen además otros efectos que originan la muerte del parásito. A continuación se presenta un mecanismo generador de radicales libres por Nitrocompuestos:



- ArNO₂ = Nitrocompuesto.
NE = Reacción no enzimática.
NR = Nitroreductasa.
SOD = Superóxido dismutasa.

En la primera reacción se lleva a cabo la transferencia de un electrón del reductor NAD(P)H al grupo Nitro catalizada por una enzima reductasa. El segundo paso consiste en la transferencia del electrón libre al oxígeno, regenerando al Nitrocompuesto y formando el anión superóxido; éste a su vez dismuta a peróxido de hidrógeno de manera espontánea o por la acción de la superóxido dismutasa. Por último, el H₂O₂ reacciona con el anión superóxido para dar origen al radical hidroxilo. Este radical ha sido postulado como uno de bajo peso molecular más dañino (Docampo 1984). Por lo que el Nifurtimox siendo un Nitrocompuesto, su mecanismo de acción es a través de la producción de radicales libres (Moreno 1988).

B.4 EFECTO EN CULTIVO DE TEJIDOS

Cuando los cultivos de tejidos infectados son expuestos durante 24 hrs., a una concentración de 1 ppm de Nifurtimox el efecto se traduce en una reducción del porcentaje de células parasitadas independientemente del momento en que había comenzado la infección. También la cantidad de pseudoquistes es notablemente reducida comprobándose el daño irreversible del parásito.

En el experimento animal resulta el mismo efecto tratando, a los ratones infectados con 100 a 500 mg/Kg de peso con Nifurtimox de 5 a 10 días.

B.5 INDICACIONES

Para su administración y dosificación se elaboran comprimidos que contienen 30 y 120 mg del fármaco. Las dosis deben ser adecuadas a la edad y peso del paciente. Para la dosificación que se detalla se consideran niños hasta de 10 años de edad, adolescentes de 10 a 16 años y adultos a partir de los 17 años.

• Niños:

De 15 hasta un máximo de 20 mg/Kg de peso.

• **Adolescentes:**

De 12.5 hasta el máximo de 15 mg/Kg de peso.

• **Adultos:**

De 8 hasta el máximo de 10 mg/Kg de peso.

La ingestión de los comprimidos de la dosis total diaria se administrará fraccionada en tres tomas diarias. A los lactantes puede administrarse pulverizado y mezclado con un poco de alimento puesto que el Nifurtimox es un fármaco altamente irritable.

La dosificación debe regirse exactamente por el peso del enfermo. Sólo en pacientes adiposos sobre todo adultos, hay que tratar de mantenerse en el límite inferior de la posología recomendada. Durante el tratamiento puede aparecer anorexia y a consecuencia de ella, pérdida de peso. Por eso debe controlarse a los pacientes por lo menos cada dos semanas y reajustarse la dosificación en caso necesario. En el curso del tratamiento se debe suprimir en forma absoluta la ingestión de bebidas alcohólicas.

B.6 TOLERANCIA

En las dosis indicadas, Nifurtimox es por lo general bien tolerado. En la investigación clínica se comprobó que más del 40 % de los enfermos tratados no evidenciaron efectos secundarios. En general éstos suelen ser leves y desaparecen espontáneamente aún durante la terapia o inmediatamente después de suspender el medicamento.

Se trata principalmente de síntomas del tracto digestivo tales como inapetencia con pérdida de peso, náuseas, vómitos y epigastralgias.

Pocas veces se observan alteraciones del SNC tales como fallas de la memoria, insomnio, excitación o fenómenos psicóticos. Más raramente aún se presentan síntomas nerviosos periféricos como son: temblor, debilidad muscular, parestias, parestesias y polineuritis discretas.

Los fenómenos colaterales que aparecen durante un tratamiento adecuado en base a la dosificación aconsejada desaparecen rápidamente al suprimir el fármaco, hasta el presente no se ha observado daño irreversible alguno.

En estudios experimentales en ratas, se deduce que Nifurtimox no influye sobre la tensión arterial, la diuresis, ni la depuración de inulina, como tampoco en la motilidad intestinal. Así mismo en ayunas no muestran ningún efecto hipoglucemiante y tampoco se comprobó acción cancerígena.

B.7 ABSORCION METABOLISMO Y EXCRECION

El Nifurtimox se absorbe adecuadamente después de administrarlo por vía oral. A pesar de ello en sangre y tejido se presenta concentración baja del fármaco, y poco aparece en la orina. Sin embargo las concentraciones altas de varios metabolitos no identificados, patentan que la biotransformación ocurre con rapidez. Se desconoce el efecto que tenga la biotransformación sobre la actividad del protozoario.

B.8 TOXICIDAD Y EFECTOS SECUNDARIOS

Los efectos tóxicos principales del Nifurtimox en animales de laboratorio a los que se administran dosis grandes durante largos periodos se refiere al Sistema Nervioso Central y a las gonadas de los machos. El tratamiento con dosis grandes se acompaña de rigidez y debilidad de las extremidades posteriores y crisis convulsivas pasajeras.

En el ser humano Nifurtimox tiene serios e indeseables efectos los cuales han sido reportados durante su uso clínico incluyendo anorexia y pérdida de peso, náusea y vómito, excitación nerviosa, insomnio, depresión psíquica, convulsiones, vértigo, hinchazón, somnolencia, mialgia, artralgia, pérdida de balance, parestesia, desorientación, falta de memoria (olvidos), adinamia fenómeno acústico, neuropatías periféricas, gastralgia, edema mucosal, intolerancia hepática, manifestaciones en la piel e intolerancia a la ingestión de alcohol (Moya P.R. 1988; Gorla N.B. 1989).

Lo óptimo es que el Nifurtimox se administre únicamente a pacientes hospitalizados, en quienes hay control íntimo de la dosis y se dispone de tratamiento sintomático de los efectos secundarios.

B.9 CONTRAINDICACIONES

Como es común con la mayoría de los fármacos, se aconseja no administrarlo en la insuficiencia renal y hepática descompensada.

CAPITULO 3

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la elaboración del presente estudio se realizaron ocho inoculaciones, cada una de ellas contaba con seis lotes organizados con veinte ratones (cepa BALB/c) cada uno. El diseño experimental empleado fue completamente al azar.

El estudio comprende dos tipos de variables :

- * Variables de Tratamiento
- * Variables de Medición

3.1 VARIABLES DE TRATAMIENTO

- | | |
|-------------------------------------|----------------------------|
| a) Sexo | - Hembras |
| | - Machos |
| b) Vía de Inoculación | - Intraperitoneal |
| c) Antígeno para la Inoculación | - <i>Toxoplasma gondii</i> |
| d) Cantidad de parásitos Inoculados | - # de Inoculación |
| - 105,000 parásitos | I |
| - 10,200 parásitos | II |
| - 5,250 parásitos | III y IV |
| - 1,000 parásitos | V y VI |
| - 100 parásitos | VII |
| - 50 parásitos | VIII |
| e) Medicamentos Empleados | - Nifurtimox |
| | - Pirimetamina |

- f) Dosis de Medicamento
- Nifurtimox: 10 mg/Kg/dfa.
 - Pirimetamina: 1 mg/Kg/dfa.
- g) Tiempo de Tratamiento
- 31 días
- (duración del experimento)

Algunas de las variables se mantienen constantes tales como lo son la vía de inoculación, el antígeno para la inoculación y la dosis de los medicamentos.

3.2 VARIABLES DE MEDICION

La enfermedad se midió por carga parasitaria y por el tiempo de vida del ratón, para éstas variables se tomaron en cuenta las siguientes formas:

a) CUANTIFICACION DE PARASITOS

La cuenta de parásitos (*Toxoplasma gondii*) del exudado peritoneal del ratón, se realizó en el cuadro central de 1 mm² (400 cuadros) de la Cámara de Neubauer, obteniendo así la cantidad de parásitos por mililitro de exudado peritoneal.

$$\frac{N \times \text{Dil.} \times 10 \times 400}{80} \times 10^3 = \text{parásitos/ml}$$

- * N = Número de células contadas
- * Dil. = Factor de dilución
- * 10 = Corrección de la altura de la Cámara
- * 400 = Número total de cuadros del cuadro central
- * 80 = Número total de cuadros contados

b) % EFICIENCIA (E)

$$\% E = \frac{\# \text{ de parásitos esperados} - \# \text{ de parásitos encontrados}}{\# \text{ de parásitos esperados}} \times 100$$

c) FROTIS DE EXUDADO PERITONEAL

Se realizaron frotis de exudado peritoneal del ratón observando al microscopio la cantidad de Toxoplasmas, células y bacterias presentes en el exudado. A continuación se indica la cantidad dada para cada valor cualitativo :

- ++++ = Cantidad Elevada
- +++ = Cantidad Intermedia
- ++ = Cantidad Moderada
- + = Cantidad Baja
- = Negativo

d) CORTES HISTOLOGICOS

Se selecciono al azar 29 ratones de las ocho inoculaciones realizadas, a los cuales se les extirpó los siguientes órganos: hígado, bazo, riñon, pulmón, corazón, cerebro y ojo. Dichos órganos fueron procesados por la técnica histológica para poder observarlos microscópicamente y poder así realizar una evaluación cualitativa de la cantidad de trofozoítos o quistes en el tejido de los diferentes órganos del ratón.

e) % RIESGO INDIVIDUAL (RI)

$$\% \text{ RI} = \frac{\# \text{ de ratones muertos}}{\# \text{ de ratones totales}} \times 100$$

f) % VIDA MEDIA DEL RATON (VM)

$$\% \text{ VM} = \frac{\text{Tiempo de vida del ratón muerto en el desaffo (días)}}{\text{Tiempo máximo del experimento (días)}} \times 100$$

3.3 CONTROLES EXPERIMENTALES

- a) Animales inoculados con *T. gondii* sin tratamiento (Control de la parasitosis).
- b) Animales sin inocular con tratamiento de Pirimetamina (Control de medicamento).
- c) Animales sin inocular con tratamiento de Nifurtimox (Control de medicamento).
- d) Animales sin tratamiento y sin inocular (Control de la cepa).

Es importante notar que la enfermedad tomando en cuenta el % de Eficiencia valora la disminución de la carga parasitaria de los animales tratados en función de los no tratados. La evaluación por Riesgo Individual es más demandante debido a que considera que un individuo está enfermo o muere cuando presenta al menos un parásito.

3.4 ANALISIS ESTADISTICO

En esta sección afrontaremos el problema de comparar las medias de los modelos probabilísticos para las dos poblaciones, mediante dos muestras aleatorias independientes. Se obtienen muestras aleatorias independientes de dos poblaciones posiblemente distintas, debido a que las muestras no son necesariamente del mismo tamaño, las denotaremos como tratamiento I ($X_i = X_{11}, \dots, X_{1n}$) y como tratamiento II ($Y_i = Y_{11}, \dots, Y_{1m}$).

Se probó la hipótesis de que las medias de rendimiento son iguales, contra la alternativa de que son diferentes, sea δ_0 un número cualquiera aunque muy frecuentemente $\delta_0 = 0$.

- 1) Se planteó el juego de hipótesis :

$$H_0 : \delta = \delta_0 \text{ en oposición a } H_1 : \delta \neq \delta_0$$

Equivalentemente : $H_0 : \mu_x = \mu_y$ en oposición a $H_1 : \mu_x \neq \mu_y$

- 2) Se calculan las estadísticas :

$$\bar{X} = 1/n \sum_{i=1}^n X_i \quad ; \quad S_x^2 = 1/n-1 \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2$$

$$\bar{Y} = 1/m \sum_{i=1}^m Y_i \quad ; \quad S_y^2 = 1/m-1 \sum_{i=1}^m (Y_i - \bar{Y})^2$$

3) Se obtiene el estimador ponderado de varianza (que se supone común a ambas poblaciones).

$$S_p^2 = \frac{(n-1) S_1^2 + (m-1) S_2^2}{n + m - 2}$$

4) Calcular la estadística de la prueba :

$$t_0 = \frac{\bar{X} - \bar{Y} - \delta_0}{\sqrt{S_p^2 (1/n + 1/m)}}$$

5) Debido a que cuando $\delta = \delta_0$; $t_0 \approx t_{(n+m-2)}$, la regla de decisión es:

Rechazar H_0 si $t_0 \geq t_{\alpha/2(n+m-2)}$ o $t_0 \leq -t_{\alpha/2(n+m-2)}$

Se rechaza H_0 con un nivel de significancia igual a α .

En el estudio diseñado para determinar la sobrevivencia de los ratones al desaffo, se empleó una distribución binomial (distribución X^2 doble). Se tiene interés por determinar si éstos datos son compatibles o no con la hipótesis que se extrajo de una población que sigue la distribución empleando la prueba X^2 de bondad de ajuste. Dado que no se especifica el parámetro binomial, p , éste se estima a partir de los datos de la muestra.

$$e_{11} = X / X + Y (S_{1+}) \quad ; \quad e_{12} = Y / Y + X (F_{1+})$$

Donde :

- e_{11} = Frecuencia esperada S_i
- X = Total de ratones empleados en el lote (X)
- $X+Y$ = Total de ratones empleados en ambos lotes (X, Y)
- S_{1+} = Total de ratones sobrevivientes de ambos lotes (X, Y)
- e_{12} = Frecuencia esperada F_i
- Y = Total de ratones empleados en el lote (Y)

$Y + X =$ Total de ratones empleados en ambos lotes (Y, X)

$F_{x,y} =$ Total de ratones que fallecen en ambos lotes (Y, X)

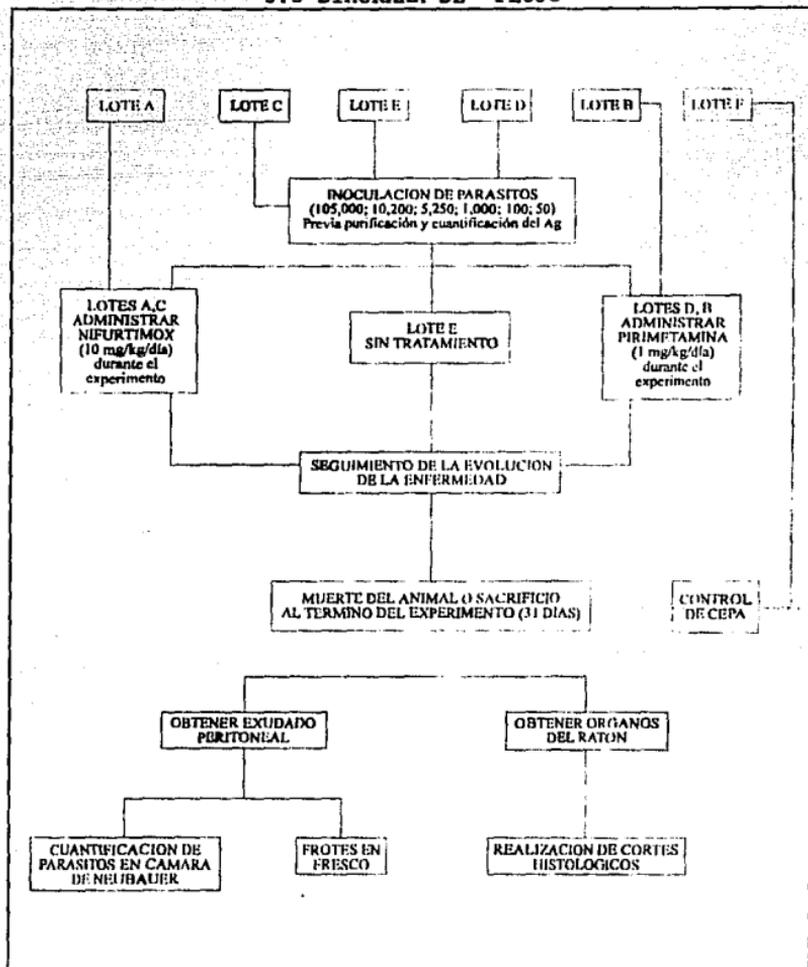
A partir de los datos, se calcula:

$$X^2 = \Sigma(\sigma - e/e)^2$$

Se empleó un nivel de significancia de 0.05 (X^2). Buscar en la tabla $X^2_{0.95,1}$ y se rechazará la hipótesis

H_0 si $X^2 = \Sigma(\sigma - e/e)^2 > X^2_{\alpha}$

3.5 DIAGRAMA DE FLUJO



CAPITULO 4

MATERIAL Y METODOS

4.1 MATERIAL Y EQUIPO

- * Tubos de ensayo de 13 x 100 mm con tapón.
- * Tubos de ensayo de 16 x 150 mm con tapón.
- * Portaobjetos.
- * Cubreobjetos.
- * Frascos con tapón de rosca de 5 ml.
- * Pipetas pasteur.
- * Bulbos.
- * Matraz Erlenmeyer de 500 ml.
- * Matraz Aforado de 100 ml.
- * Mecheros.
- * Alfileres
- * Pinzas.
- * Bisturí.
- * Filtros Millipore.
- * Membranas de 0.22 μ m.
- * Jeringas de 5, 10 y 20 ml.
- * Agujas de 22 x 32 mm.
- * Agujas de 21 x 32 mm sin bicel.
- * Manguera de latex, $\varnothing = 21 \times 32$ mm.
- * Jeringas para insulina.
- * Torundas de algodón.
- * Cámara de Neubauer.
- * Microscopio.
- * Centrifuga.
- * Estufa.

- * Autoclave.
- * Balanza analítica.
- * Balanza granataria.
- * Microtomo.
- * Jaulas de policarbonato.
- * Tapas de barras de acero inoxidable.
- * Morteros.

4.2 MATERIAL BIOLÓGICO

- * Antígeno (*T. gondii*).
- * Ratones cepa BALB/c.

4.3 REACTIVOS

- * Colorante Giemsa.
- * Colorante Wright.
- * Alcohol metílico.
- * Alcohol etílico (70,80,90 y 100 %).
- * Xilol.
- * Aceite de inmersión.
- * Parafina histológica.
- * Colorante de Hematoxilina - Eosina.
- * Formol al 10 %.
- * Solución salina isotónica al 0.15 M.
- * NaCl.
- * H₂O destilada.
- * H₂O de la llave.
- * Solución amortiguadora de fosatos pH = 7.6
- * HCl 0.1 N.
- * NaOH 0.1 N.

4.4 FARMACOS

- * Nifurtimox.
- * Pirimetamina.

4.5 OBTENCION Y PURIFICACION DEL ANTIGENO (*T. gondii*).

El parásito *Toxoplasma gondii* empleado en el presente estudio se obtuvo de un lote de ratones mantenidos por inoculación del parásito intraperitonealmente. Los pases sucesivos se realizaron en ratones de ambos sexos en el bioterio del I.N.D.R.E.

Para la obtención y purificación del antígeno se llevó a cabo las siguientes acciones:

- a) Ratón infectado con *Toxoplasma gondii* tres días antes del sacrificio.
- b) Sacrificar al ratón por dislocación cervical.
- c) Extraer el exudado peritoneal del ratón.
- d) Realizar frotis del exudado peritoneal (original), y teñirlo con Giemsa o Wright.
- e) Al exudado peritoneal obtenido del ratón infectado, agregar 2 ml de SSI al 0.15 M, para medir la cantidad de dicho exudado.
- f) En base a la medida obtener una dilución 1:10.
- g) Homogenizar la dilución anterior sin que se forme espuma con una jeringa de 5 ó 10 ml y aguja de 22 x 32 mm (ésta aguja es importante porque rompe las células que contienen parásitos). Se introduce la jeringa dentro del tubo aspirando el líquido sin que el contenido del líquido llegue a ser inferior al nivel de la aguja y vaciar nuevamente el líquido. Repetir sucesivamente, hasta lograr el mayor homogenizado posible.
- h) Invertir suavemente el tubo para romper las posibles microburbujas que pudiesen permanecer en el tubo.
- i) Dejar sedimentar la dilución durante 3 hrs. a 4°C, ésto con la finalidad de que sedimente el mayor número de células y bacterias, ya que éstas tienen un mayor peso que el parásito, por lo que éste permanecerá en el sobrenadante (líquido coloide).
- j) Extraer el sobrenadante de la solución con una pipeta pasteur sin llegar a tocar el sedimento (dejando 1 ml de sobrenadante como rango de protección).
- k) Nivelar con SSI hasta la cantidad empleada para obtener la dilución 1:10.
- l) Realizar frotis y teñirlo con Giemsa o Wright.

- m) Centrifugar el sobrenadante obtenido a 2,000 rpm durante 5 minutos para sedimentar los parásitos.
- n) Desechar el sobrenadante.
- ñ) Resuspender los parásitos en la misma cantidad con SSI 0.15 M y centrifugar a 2,000 rpm durante 5 min. Realizar 3 veces el lavado. (repetir los pasos m-n).
- o) Resuspender el botón con SSI 0.15 M a la misma cantidad o nivel. Hacer frotis y teñirlos.
- p) Realizar conteo de parásitos en Cámara de Neubauer.
- q) Ajustar la concentración a la cantidad de parásitos por ratón necesaria para la inoculación. (105,000; 10,200; 5,250; 1,000; 100; 50 parásitos).

Hay que tener en cuenta que todo procedimiento ha realizar se debe llevar a cabo en condiciones de esterilidad, para evitar alguna posible contaminación. En la figura 6 se ilustran los pasos a seguir para la obtención y purificación del antígeno.

4.6 CUANTIFICACION DE PARASITOS EN CAMARA DE NEUBAUER.

La cuenta parasitaria es fundamental para éste estudio, por tal motivo empleamos la Cámara de Neubauer que está constituida de la siguiente manera: un portaobjetos grueso rectangular de vidrio, en el centro se encuentran cuadrículas separadas del resto del portaobjetos por surcos y por barras transversales elevadas, una a cada lado de la cuadrícula. Presenta 2 cuadrículas una superior y otra inferior (doble cámara) permitiendo así la duplicación rápida de las mediciones. Entre las barras elevadas se coloca un cubreobjetos ópticamente plano para formar una cámara de mediciones precisas. La cuadrícula a su vez, presenta líneas que forman una imagen variable y representa fracciones o múltiplos de mm^2 .

La distancia entre la superficie inferior del cubreobjetos colocado sobre las barras elevadas y la cuadrícula es de 0.1 mm, cada zona de la cuadrícula corresponde a un cuadro de 3 mm de lado, dividido en nueve cuadros grandes cada uno de 1 mm de lado.

El cuadrado central se divide a su vez en 400 cuadros pequeños dispuestos en 25 grupos de 16, delimitados por líneas triples. Cada cuadro representa 1 mm^2 y cada uno de los 25 cuadros pequeños tiene 0.2 mm de lado (0.04 mm^2 de superficie); y cada uno de los 400 cuadros menores tienen 0.05 mm de lado (0.0025 mm^2 de superficie).

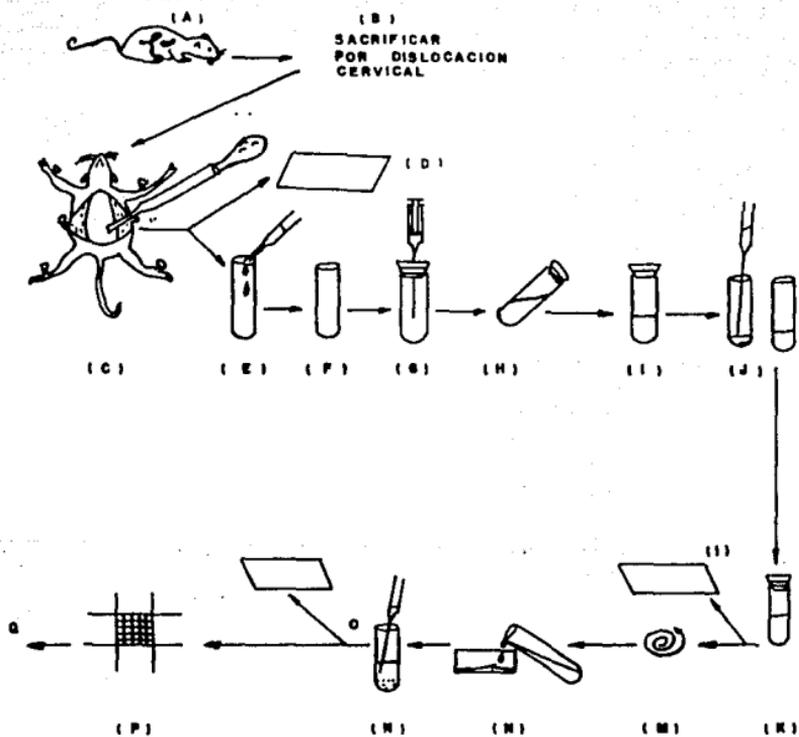


FIG. 6 OBTENCION Y PURIFICACION DEL ANTIGENO (T. gondii).

4.7 ORGANIZACIÓN DE LOTES DE RATONES E INOCULACION.

Para cada inoculación se emplearon ratones de la cepa BALB/c de ambos sexos y se agruparon en 20 ratones por lote. A continuación se mencionan los lotes formados:

LOTE A : Ratones tratados con Nifurtimox sin inoculación de parásitos (Con tratamiento no inoculados).

LOTE B : Ratones tratados con Pirimetamina sin inocular.

LOTE C : Ratones tratados con Nifurtimox e inoculados con *T. gondii* (tratados - inoculados).

LOTE D : Ratones tratados con Pirimetamina e inoculados.

LOTE E : Ratones inoculados con *T. gondii* sin tratamiento.

LOTE F : Ratones no inoculados y sin tratamiento. Controles Experimentales.

Como se puede observar en los lotes antes mencionados los lotes A y B son los controles del medicamento (Nifurtimox y Pirimetamina respectivamente); el lote E es el control de la enfermedad (control de desafío) y por último el lote F es el control de la cepa de ratones.

Inoculación

El antígeno (*T. gondii*) obtenido de ratones previamente infectados es purificado por las técnicas antes mencionadas. Para establecer si la cantidad de parásitos tiene alguna relación con las dosis empleadas de los medicamentos, se realizaron diversas diluciones del antígeno, para obtener las cantidades necesarias de parásitos que se emplearon en el presente estudio, tales como : 105,000; 10,200; 5,250; 1,000; 100; 50 parásitos.

Una vez hechas las diluciones y obtenida la cantidad de parásitos necesaria, se inoculó intraperitonealmente a cada ratón de los lotes C, D y E.

4.8 TRATAMIENTO

El medicamento en estudio: Nifurtimox es el empleado en el tratamiento de los ratones A y C. Con el fin de hacer una comparación en la eficacia del tratamiento se empleó la Pirimetamina, medicamento indicado en la terapéutica de la Toxoplasmosis; con éste medicamento se dió tratamiento a los ratones de los lotes B y D.

Las dosis empleadas fueron:

- Nifurtimox : 10 mg/Kg de peso del ratón al día.
- Pirimetamina : 1 mg/Kg de peso del ratón al día.

Realizando la dosificación adecuada del medicamento para los ratones, se diluyó en agua estéril administrando el medicamento por vía oral.

4.9 RECOLECCION DE MUESTRAS.

Al morir el ratón por infección o al ser sacrificado por dislocación cervical al término del tratamiento aproximadamente a los 31 días, se revisó la cavidad peritoneal de dónde se obtuvo el exudado que contenía los parásitos el cual fue depositado en un tubo estéril y posteriormente se irrigó dicha cavidad con SSI estéril para recolectar la mayor cantidad de parásitos posibles. Posteriormente se continuó con la extirpación de los órganos, tales como son el bazo, hígado, riñón, pulmón, corazón, cerebro y ojo. Estos órganos son colocados en formol al 10 % para que lograr la fijación del tejido y del parásito.

Se realizó la cuantificación del número de parásitos que portaba cada ratón.

Técnicas de Fijación

Con el exudado peritoneal se realizan frotis en portaobjetos; éstos frotis fueron teñidos bajo la siguiente metodología.

- a) Tinción de Wright.
- b) Tinción de Giemsa.

a) Tinción de Wright

* Procedimiento de Tinción.

- 1.- Cubrir el frotis seco con colorante sin diluir durante 1 min. El alcohol metílico fija el frotis.
- 2.- Añadir una cantidad igual de solución amortiguadora de fosfatos pH = 7.6 debiendo aparecer una escarcha metálica, se deja actuar este colorante diluido durante 3 min.
- 3.- Lavar con agua destilada o solución amortiguadora hasta que las partes delgadas del frotis tengan un color rosado. Dejar secar a temperatura ambiente.

b) Tinción de Giemsa

*** Procedimiento de Tinción.**

- 1.- Fijar el frotis mediante inmersión en alcohol metílico absoluto de 3 a 10 minutos.
- 2.- Colocar el frotis en colorante de Giemsa diluido 1:50 de solución amortiguadora de fosfatos con pH = 7.6 durante 45 min.
- 3.- Lavar rápidamente en solución amortiguadora de fosfatos o agua de la llave y colocarlo de forma inclinada a temperatura ambiente para que seque.

4.10 TECNICA HISTOLOGICA

La técnica histológica comprende la preparación de los tejidos para su estudio microscópico y esta constituida por los siguientes procesos:

- a) Fijación
- b) Deshidratación
- c) Aclaramiento
- d) Inclusión
- e) Corte
- f) Tinción

a) Fijación

Es el proceso mediante el cual los elementos constitutivos de las células y por consiguiente de los tejidos, son fijados en cuanto a su estado físico y parcialmente a su estado químico, de manera que puedan resistir sin pérdida, distorsión importante o descomposición el tratamiento con varios reactivos. En este proceso se utilizó formaldehído al 10% ya que es de bajo costo, de fácil adquisición y relativamente estable. La naturaleza de la acción del formol es que el grupo aldehído permite numerosas reacciones con los componentes tisulares, probablemente la acción principal es la polimerizante, es decir, la formación de compuestos y complejos de adición por creación de ligaduras entre las moléculas proteínicas.

b) Deshidratación

Proceso mediante el cual el agua intra y extracelular es reemplazada por parafina utilizando alcoholes (etílico) de distintas concentraciones, empezando por el 70% ascendiendo gradualmente (70,80,95 y 100%).

c) Aclaramiento.

Este proceso permite que el alcohol de los tejidos sea reemplazado por un líquido que disuelva la parafina con el cual el tejido es impregnado. Además de eliminar el alcohol la sustancia debe tener la propiedad de volver transparente al tejido por lo que su índice de refracción debe ser similar al del tejido. Se pueden usar como aclarantes Xilol, Benceno, Tolueno etc.

d) Inclusión

Proceso que comprende la impregnación de los tejidos con un medio que llene todas las cavidades naturales, espacios e intersticios tisulares y aún los espacios intracelulares, y que proporcione la consistencia firme necesaria para hacer cortes bastantes delgados sin provocar distorsión y sin alterar las relaciones espaciales del tejido y los elementos celulares. Existen tres métodos que pueden emplearse; la inclusión en parafina es el más simple y el que usamos en éste estudio.

e) Corte

Para el corte de los tejidos se emplea los Microtomos que son instrumentos contruídos para obtener láminas muy delgadas de tejidos. Existen varios tipos de Microtomos, el que se empleó en este proceso fue del tipo Rotatorio.

f) Tinción

La tinción del corte permite estudiar y conocer las características físicas de los tejidos y las relaciones entre las células que los constituyen. La utilidad del método se debe a que los distintos tejidos y los componentes de la célula muestran afinidades diferentes para casi todos los colorantes. En éste proceso se emplearon dos colorantes de contraste la Hematoxilina que tiñe la estructuras finas del núcleo y la Eosina o Floxina que permite distinguir los detalles del citoplasma de las células.

CAPITULO 5

RESULTADOS

La tabla 4 muestra las ocho inoculaciones realizadas con sus respectivos lotes formados:

Lote E : ratones inoculados sin tratamiento.

Lote C : ratones inoculados con tratamiento de Nifurtimox.

Lote D : ratones inoculados con tratamiento de Pirimetamina.

Se excluyen los lotes controles (control de Nifurtimox, control de Pirimetamina, control de cepa) pues no presentan cambios físicos, además se observa que en las dos primeras inoculaciones no se organizó el lote D.

Además en la tabla se incluyen la cantidad de parásitos inoculados, así como el número de ratones muertos en el desafío de cada grupo y el número de ratones que sobreviven al mismo. También se puede observar el tiempo de vida media de los ratones muertos en el desafío; el tiempo máximo del experimento fue de 31 días por cada inoculación, al término del cual los ratones sobrevivientes fueron sacrificados para estudios posteriores.

Con el fin de evaluar la eficiencia del tratamiento y la relación que existe con la sobrevivencia del ratón, se determinaron las siguientes variables de medida:

- Eficiencia del Tratamiento, definida como la reducción de la carga parasitaria respecto al control de desafío.
- Riesgo Individual, es la evaluación del porcentaje de animales enfermos o muertos dentro del mismo grupo.
- Porcentaje de Vida Media, indica la relación que existe entre el tiempo de vida del animal muerto en el desafío y el tiempo máximo del experimento, expresado en días.

La información de los datos mencionados anteriormente y la \bar{X} de la cantidad de parásitos encontrados

en el exudado peritoneal de los animales sometidos a las diferentes variables de tratamiento se ilustran en la tabla 5.

En las tablas 6, 7 y 8 se indica la \bar{X} global, por lote formado (C, D y E), de la cantidad de parásitos presentes en el exudado peritoneal del animal. Se determina además la desviación estándar y la varianza (las cuales son medidas de variación absoluta).

Se seleccionó en total 29 ratones de las ocho inoculaciones realizadas, los resultados de estos animales se ilustran en las tablas 9, 10 y 11.

La tabla 9 muestra el lote al que pertenece el ratón, la cantidad de parásitos inoculados, así como la causa por la cuál muere el animal; además se puede observar el peso inicial y final del ratón durante el tratamiento, evaluando así la diferencia de peso.

Se realizó además un examen microscópico del exudado peritoneal en el cual se observó la cantidad de *T. gondii* presentes, estos se cuantificaron en la Cámara de Neubauer, así como también por medio de un frotis del exudado peritoneal, observando además las células y bacterias que podrían estar contaminando el exudado. Estos resultados se muestran en la tabla 10.

Otra variable de medida fue la realización de Cortes Histológicos de siete órganos del ratón; en la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos. La indicación cualitativa presente en la tabla es la siguiente:

- + + + + = Cantidad elevada
- + + + = Cantidad intermedia
- + + = Cantidad moderada
- + = Cantidad baja
- = Negativo

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

TABLA 4.- Inoculaciones realizadas en los lotes E, C y D con un total de 20 ratones cada uno. Tiempo máximo del experimento 31 días (se excluyen los lotes A, B y F por no presentar cambio alguno en los ratones).

NUMERO DE INOCULACION	NUMERO DE PARASITOS INOCULADOS	LOTE	NUMERO DE RATONES MUERTOS EN EL DESAFIO	NUMERO DE RATONES QUE SOBREVIVIERON AL DESAFIO	TIEMPO DE VIDA MEDIA DE LOS RATONES MUERTOS EN EL DESAFIO (días)
I	105000	Parásitos	20	0	6
I	105000	P + Nifurtimox	19	1	8
II	10200	Parásitos	20	0	8
II	10200	P + Nifurtimox	18	2	11
III	5250	Parásitos	7	13	7
III	5250	P + Nifurtimox	5	15	10
III	5250	P + Pirimetamina	6	14	10
IV	5250	Parásitos	9	11	7
IV	5250	P + Nifurtimox	7	13	11
IV	5250	P + Pirimetamina	7	13	9
V	1000	Parásitos	19	1	7
V	1000	P + Nifurtimox	5	15	11
V	1000	P + Pirimetamina	10	10	11
VI	1000	Parásitos	17	3	7
VI	1000	P + Nifurtimox	4	16	10
VI	1000	P + Pirimetamina	11	9	9
VII	100	Parásitos	12	8	8
VII	100	P + Nifurtimox	4	16	11
VII	100	P + Pirimetamina	7	13	10
VIII	50	Parásitos	14	7	21
VIII	50	P + Nifurtimox	0	20	31
VIII	50	P + Pirimetamina	0	20	31

TABLA 5.- RESULTADOS DE LAS DIFERENTES VARIABLES DE MEDIDAS OBTENIDAS DURANTE LAS 8 INOCULACIONES

NUMERO DE INOCULACION	LOTE	\bar{x} CUENTA DE PARASITOS EN CAMARA DE NEUBAUER (p/ml)	% DE EFICIENCIA	% DE RIESGO INDIVIDUAL	% DE VIDA % DE RATONES MUERTOS EN EL DESAFIO
I	Parásitos	3.03 x 10 ⁷	0	100	19.35
I	P+Nifurtimox	1.2 x 10 ⁷	60.39	95	25.80
II	Parásitos	3.5 x 10 ⁶	0	100	25.80
II	P+Nifurtimox	1.5 x 10 ⁷	95.71	90	35.48
III	Parásitos	2.21 x 10 ⁶	0	35	22.58
III	P+Nifurtimox	1.9 x 10 ⁷	91.40	25	32.25
III	P+Pirimetamina	9.5 x 10 ⁷	57.01	30	32.25
IV	Parásitos	3.1 x 10 ⁶	0	45	22.58
IV	P+Nifurtimox	1.17 x 10 ⁷	96.22	35	35.48
IV	P+Pirimetamina	2.39 x 10 ⁷	92.29	35	29.03
V	Parásitos	4.03 x 10 ⁶	0	95	22.58
V	P+Nifurtimox	1.15 x 10 ⁷	97.14	25	35.48
V	P+Pirimetamina	6.5 x 10 ⁷	83.87	50	35.48
VI	Parásitos	2.11 x 10 ⁶	0	85	22.58
VI	P+Nifurtimox	1.8 x 10 ⁷	91.46	20	32.25
VI	P+Pirimetamina	2.02 x 10 ⁷	90.42	55	29.03
VII	Parásitos	7.6 x 10 ⁶	0	60	25.80
VII	P+Nifurtimox	1.3 x 10 ⁷	98.28	20	15.48
VII	P+Pirimetamina	4.0 x 10 ⁷	94.73	35	32.25
VIII	Parásitos	2.35 x 10 ⁶	0	70	67.74
VIII	P+Nifurtimox	0	100	0	100
VIII	P+Pirimetamina	0	100	0	100

TABLA 6 MEDIAS GLOBALES DE LA CUANTIFICACION DE *T. gondii* EN EXUDADO PERITONEAL DE RATON DEL LOTE E. CALCULOS DE MEDIA, VARIANZA Y DESVIACION ESTANDAR.

LOTE DE PARASITOS (p/ml)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
3.03×10^7	$- 2.84 \times 10^6$	8.06×10^6
3.5×10^6	3.5×10^7	1.225×10^{15}
2.21×10^6	$- 9.4 \times 10^7$	8.83×10^{15}
3.1×10^6	5.0×10^6	2.5×10^{13}
4.03×10^6	8.8×10^7	7.74×10^{15}
2.11×10^6	$- 1.04 \times 10^6$	1.08×10^{12}
7.6×10^6	4.45×10^6	1.98×10^{13}
2.35×10^6	$- 8.0 \times 10^7$	6.4×10^{15}
$\Sigma X_i = 2.52 \times 10^8$		$\Sigma = 3.13 \times 10^{17}$

$$\text{VARIANZA: } S^2 = \frac{\Sigma(X_i - \bar{X})^2}{n - 1}$$

$$\text{DESV. ESTANDAR: } S = \sqrt{S^2}$$

$$\text{MEDIA: } \bar{X} = \frac{\Sigma X_i}{n}$$

$$\bar{X} = 3.15 \times 10^6$$

$$S^2 = 4.48 \times 10^{16}$$

$$S = 2.11 \times 10^8$$

TABLA 7.- MEDIAS GLOBALES DE LA CUANTIFICACION DE PARASITOS EN EXUDADO PERITONEAL DE RATON DEL LOTE C. CALCULO DE X, S Y S².

LOTES DE TRATAMIENTO CON NIFURTIMOX (p/ml)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1.2×10^7	$- 5.0 \times 10^6$	2.50×10^{13}
1.5×10^7	2.5×10^6	6.25×10^{12}
1.9×10^7	6.5×10^6	4.22×10^{13}
1.17×10^7	$- 8.0 \times 10^6$	6.40×10^{13}
1.15×10^7	$- 1.0 \times 10^6$	1.0×10^{12}
1.8×10^7	5.5×10^6	3.025×10^{13}
1.3×10^7	$- 1.3 \times 10^6$	2.5×10^{11}
0	$- 1.25 \times 10^6$	1.56×10^{11}
$\Sigma X_i = 1.002 \times 10^8$		$\Sigma = 2.36 \times 10^{14}$

$$\bar{X} = 1.25 \times 10^7$$

$$S^2 = 3.38 \times 10^{13}$$

$$S = 5.81 \times 10^6$$

TABLA 8.- MEDIAS GLOBALES DE LA CUANTIFICACION DE PARASITOS EN EXUDADO PERITONEAL DE RATON DEL LOTE D. CALCULO DE X, S Y S².

LOTES DE TRATAMIENTO CON PIRIMETAMINA (p/ml)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
9.5×10^7	5.32×10^7	2.83×10^{15}
2.39×10^7	$- 1.79 \times 10^7$	3.20×10^{14}
6.5×10^7	2.32×10^7	5.38×10^{14}
2.02×10^7	$- 2.16 \times 10^7$	4.66×10^{14}
4.0×10^7	$- 1.80 \times 10^6$	3.24×10^{12}
0	$- 4.18 \times 10^7$	1.74×10^{15}
$\Sigma X_i = 2.511 \times 10^8$		$\Sigma = 5.89 \times 10^{15}$

$$\bar{X} = 4.18 \times 10^7$$

$$S^2 = 1.78 \times 10^{15}$$

$$S = 3.43 \times 10^7$$

TABLA 9.- CANTIDAD DE PARASITOS INOCULADOS A 29 RATONES SELECCIONADOS AL AZAR DE LAS 8 INOCULACIONES REALIZADAS (LOTES E, C Y D). TIPO DE MUERTE; PESO INICIAL, Y FINAL, ASÍ COMO LA DIFERENCIA DE PESO DEL ANIMAL.

RATON	NUMERO DE INOCULACION	LOTE	PARASITOS INOCULADOS	TIPO DE MUERTE	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)	I-F (g)
1	I	Parasitado	105000	Infección	29.88	29.45	-0.43
2	I	P+Nifurtimox	105000	Infección	29.04	28.93	-0.11
3	II	Parasitado	10,200	Infección	20.62	21.55	+0.93
4	II	P+Nifurtimox	10,200	Infección	19.10	20.58	+1.48
5	III	Parasitado	5,250	Infección	28.71	28.45	-0.26
6	III	P+Nifurtimox	5,250	Infección	27.16	26.78	-0.39
7	III	P+Pirimetamina	5,250	Infección	26.62	26.38	-0.24
8	IV	Parasitado	5,250	Infección	30.05	30.27	+0.22
9	IV	P+Nifurtimox	5,250	Infección	25.32	24.96	-0.36
10	IV	P+Pirimetamina	5,250	Infección	26.40	26.40	-0.07
11	V	Parasitado	1,000	Infección	27.35	27.06	-0.29
12	V	P+Nifurtimox	1,000	Infección	26.49	29.78	+3.29
13	V	P+Pirimetamina	1,000	Infección	26.50	27.57	+1.07
14	V	Parasitado	1,000	Sacrificio	27.35	31.70	+4.35
15	V	P+Nifurtimox	1,000	Sacrificio	26.49	35.53	+9.04
16	V	P+Pirimetamina	1,000	Sacrificio	26.40	34.30	+7.90
17	VI	Parasitado	1,000	Infección	17.24	18.17	+0.93
18	VI	P+Nifurtimox	1,000	Infección	16.72	17.51	+0.79
19	VI	P+Pirimetamina	1,000	Infección	16.24	15.49	-0.77
20	VI	Parasitado	1,000	Sacrificio	17.24	21.07	+3.83
21	VI	P+Nifurtimox	1,000	Sacrificio	16.72	18.68	+1.96
22	VI	P+Pirimetamina	1,000	Sacrificio	16.26	18.86	+2.60
23	VII	Parasitado	100	Infección	27.00	29.46	+2.46
24	VII	P+Nifurtimox	100	Infección	27.22	30.18	+2.96
25	VII	P+Pirimetamina	100	Infección	27.46	31.67	+4.21
26	VIII	Parasitado	50	Infección	26.60	27.22	+1.12
27	VIII	Parasitado	50	Sacrificio	26.60	27.46	+0.86
28	VIII	P+Nifurtimox	50	Sacrificio	24.50	24.80	+0.30
29	VIII	P+Pirimetamina	50	Sacrificio	25.54	25.60	+0.06

TABLA 10.- CUANTIFICACION DE PARASITOS EN CAMARA DE NEUBAUER Y FROTIS DE EXUDADO PERITONEAL DE RATON

RATON	EXAMEN MICROSCOPICO (Frotis de Exudado Peritoneal)			CUENTA DE PARASITOS (Cámara de Neubauer) (p/ml)
	<i>Toxoplasma gondii</i>	Células	Bacterias	
1	++++	-	-	9.3×10^7
2	++	-	+	4.1×10^6
3	++++	+	-	3.05×10^6
4	++	+++	++	3.6×10^7
5	++++	++	-	1.18×10^6
6	++	++	-	1.1×10^7
7	+++	++	-	9.7×10^7
8	++++	+	-	2.4×10^6
9	++	+	+	1.03×10^7
10	+++	++	+	2.4×10^7
11	++++	-	-	3.0×10^6
12	++	+	-	1.8×10^7
13	+++	+	-	4.3×10^7
14	+++	+++	+	3.1×10^6
15	+	++	+	1.0×10^6
16	++	++	+	9.2×10^6
17	++++	+	-	2.8×10^6
18	++	+	-	1.2×10^7
19	+++	++	-	2.3×10^7
20	++	+	-	2.2×10^7
21	+	-	-	1.1×10^6
22	+	++	-	8.3×10^6
23	++++	++	-	8.7×10^6
24	++	++	+	6.0×10^7
25	+++	+	+	9.2×10^7
26	++++	+	-	5.0×10^5
27	+++	++	-	5.0×10^5
28	-	++	-	0
29	-	++	-	0

++++ Cantidad Elevada, +++ Cantidad Intermedia, ++ Cantidad Moderada,
+ Cantidad Baja - Negativa

TABLA 11.- CANTIDAD DE PARASITOS EN LOS CORTES HISTOLOGICOS DE 7 ORGANOS DE LOS 29 RATONES SELECCIONADOS AL AZAR (LOTES E, C Y D)

RATON	HIGADO	BAZO	RIÑON	PULMON	CORAZON	CEREBRO	OJO
1	++++	++++	+++	++	-	-	+
2	++++	++++	-	-	-	-	-
3	++++	++++	++	++++	++	-	-
4	++++	+++	-	++	+	-	-
5	++++	++++	+	+++	-	-	-
6	+++	+++	-	+	-	-	-
7	+++	++++	-	+	-	-	-
8	++++	++++	++	++++	-	-	-
9	+++	++	+	+	-	-	-
10	+++	+++	+	++	-	-	-
11	++++	+++	+	++	-	-	-
12	+++	++	-	++	-	-	-
13	+++	+++	-	+	-	-	-
14	+++	++	-	+	-	-	-
15	++	+	-	-	+	-	-
16	++	++	-	-	+	-	-
17	++++	++++	++	++	-	-	-
18	+++	++	+	+	-	-	-
19	+++	++++	-	+	-	-	-
20	++	+	-	-	-	-	-
21	+	-	-	-	-	-	-
22	+	+	-	-	-	-	-
23	++++	++++	+	+++	-	+	-
24	++	++	+	++	-	+	-
25	+++	+++	+	++	-	+	-
26	++++	++++	+	++	-	-	-
27	++	+	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-

++++ Cantidad Elevada, +++ Cantidad Intermedia, ++ Cantidad Moderada
 + Cantidad Baja, - Negativo.

Además, para verificar la carga parasitaria en los tejidos nos apoyamos en fotografías de los cortes histológicos, y así poder reafirmar lo anteriormente descrito. A continuación se menciona lo que cada una representa:

FOTO 1.- Frotis de exudado peritoneal de ratón infectado con *T. gondii*. Tinción de Wright (40x, 100x).

FOTO 2.- Corte histológico de ojo. Ratón infectado sin tratamiento. Teñido con hematoxilina y eosina (H y E) 100x.

FOTO 3.- Corte histológico de hígado. Teñido con H y E, 40x. Ratón infectado con *T. gondii* sin quimioterapia.

FOTO 4.- Corte histológico de pulmón. Teñido con H y E, 40x. Ratón desafiado con *T. gondii* recibiendo quimioterapia con Nifurtimox.

FOTO 5.- Corte histológico de pulmón. Teñido con H y E, 40x. Ratón desafiado y sin tratamiento.

FOTO 6.- Corte histológico de corazón. Teñido con H y E, 40x. Ratón desafiado con tratamiento de Nifurtimox.

FOTO 7.- Corte histológico de corazón. Teñido con H y E, 100x. Ratón desafiado y sin recibir tratamiento.

FOTO 8.- Corte histológico de riñón. Teñido con H y E, 100x. Ratón desafiado y con tratamiento de Nifurtimox.

FOTO 9.- Corte histológico de riñón. Teñido con H y E, 100x. Ratón desafiado, sin quimioterapia.

FOTO 10.- Corte histológico de bazo. Teñido con H y E, 40x. Ratón desafiado, con quimioterapia de Nifurtimox.

FOTO 11.- Corte histológico de bazo. Teñido con H y E, 40x. Ratón desafiado, sin quimioterapia.

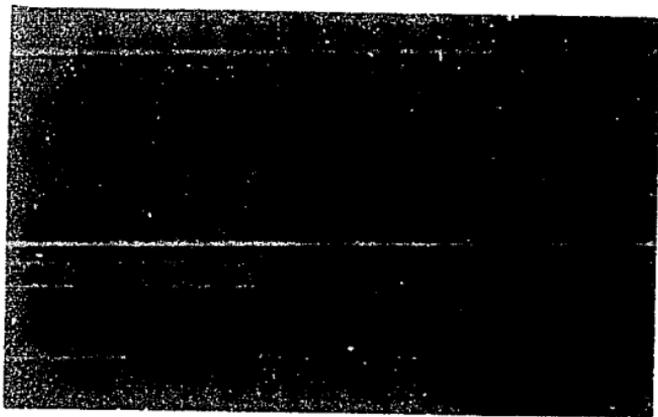
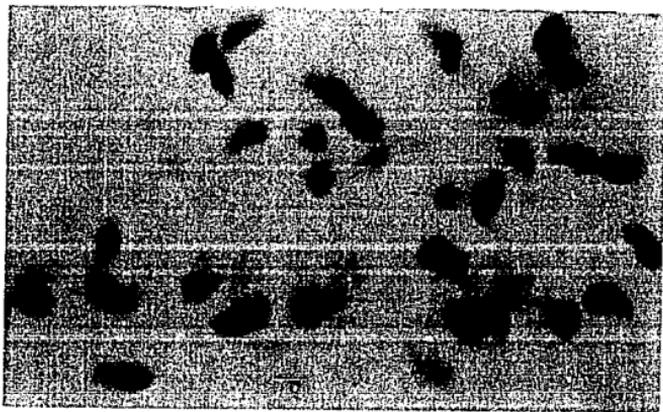


FOTO 1.- *T. gondii* en exudado peritoneal de ratón, 40x y 100x.



FOTO 2.- T. gondii en ojo de ratón, 100x.



FOTO 3.- T. gondii en hígado de ratón, 40x.

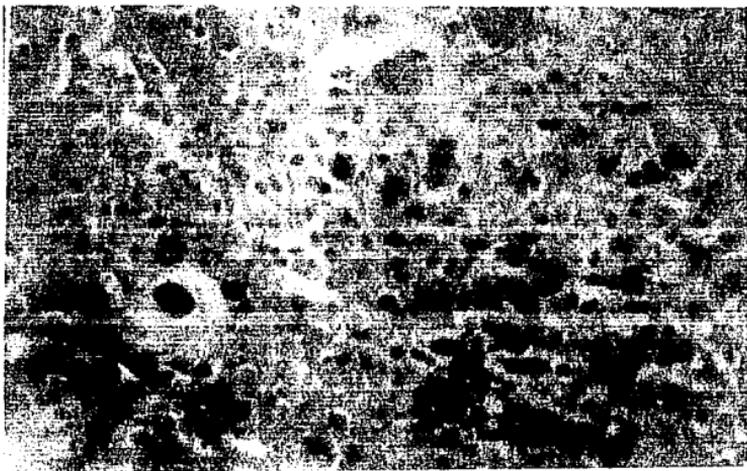


FOTO 5.- T. gondii en pulmón de ratón, 40x.



FOTO 4.- T. gondii en pulmón de ratón, 40x.



FOTO 6.- T. gondii en corazón de ratón, 40x.



FOTO 7.- T. gondii en corazón de ratón, 100x.



FOTO 8.- T. gondii en riñon de ratón, 100x.



FOTO 9.- T. gondii en riñon de ratón, 100x.



FOTO 10.- *T. gondii* en bazo de ratón, 40x.

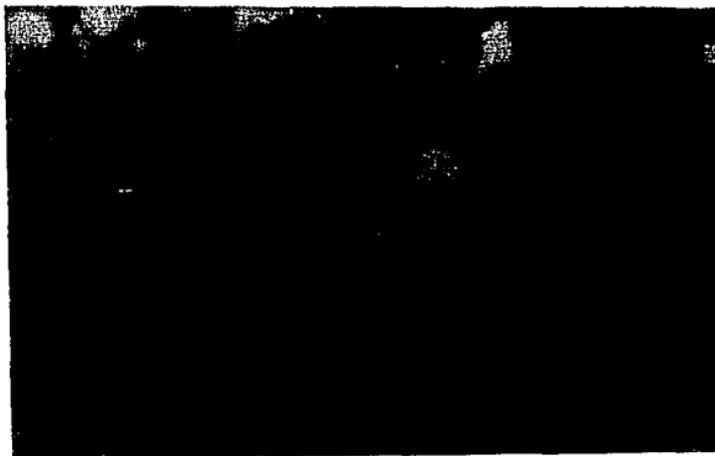


FOTO 11.- *T. gondii* en bazo de ratón. 40x.

Para complementar, se presentan los siguientes gráficos con su respectiva interpretación.

La gráfica 1 muestra el tiempo de vida media de los ratones muertos en el desafío, expresado en días tanto para lotes de ratones infectados con *T. gondii* que recibieron uno de los dos tratamientos como los que no recibieron tratamiento (control de desafío). Se puede observar que el lote que no recibe quimioterapia muere en menos días debido a la infección en comparación a los lotes que reciben la quimioterapia ya sea de Nifurtimox o de Pirimetamina.

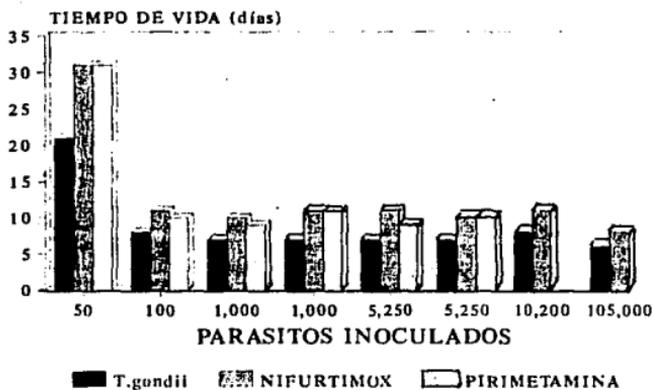
En la gráfica 2 se muestra el % de vida media contra la cantidad de parásitos inoculados, se puede observar que el lote control de desafío presenta menor porcentaje de vida, siguiendo con un valor algo mayor al anterior, el lote de los ratones desafiados que recibieron tratamiento con Pirimetamina y por último el lote que tiene el mayor % de vida media es el que recibe el tratamiento con Nifurtimox. La proporción del % de vida media en general de cada una de las tres poblaciones se ilustra en la gráfica 2a.

El porcentaje de eficiencia se ilustra en la gráfica 3; en el eje de las abscisas se presentan las diferentes cantidades de parásitos inoculados y en el eje de las ordenadas los porcentajes de eficiencia obtenidos para cada lote de ratones; donde P_i representa el lote de ratones desafiados y con tratamiento de Pirimetamina, N_i = lote de ratones desafiados que reciben tratamiento con Nifurtimox y Tox representa el lote de ratones inoculados con *T. gondii* que no reciben quimioterapia (control de desafío).

El % de riesgo individual se presenta en la gráfica 4, en donde se indican los porcentajes del riesgo individual de cada lote de ratones contra la cantidad de parásitos que se le inoculó al lote, observando así que el lote que presenta el mayor riesgo individual es el lote control de desafío.

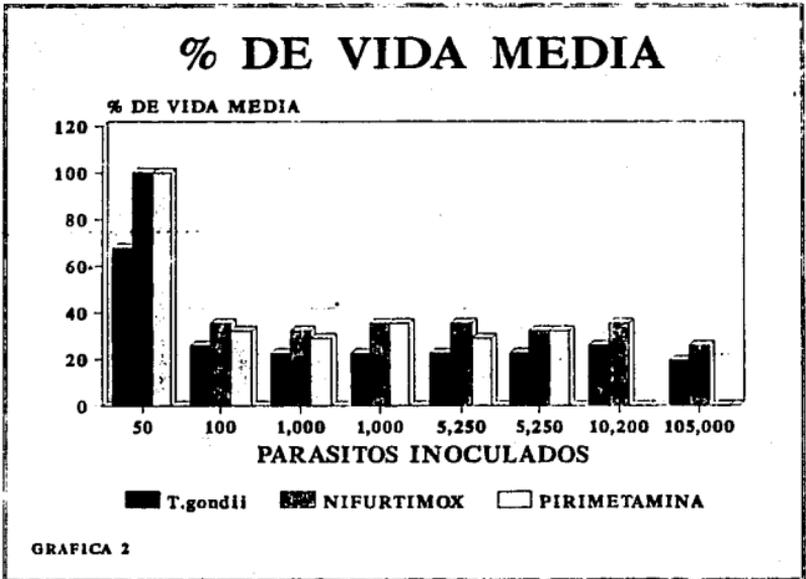
GRAFICA 1

TIEMPO DE VIDA



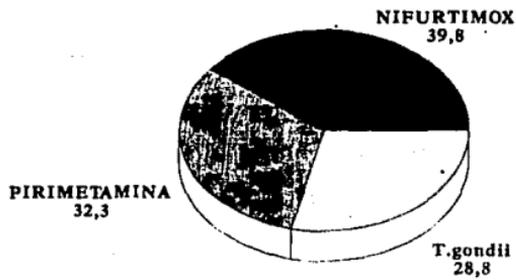
GRAFICA 1

GRAFICA 2



GRAFICA 2A

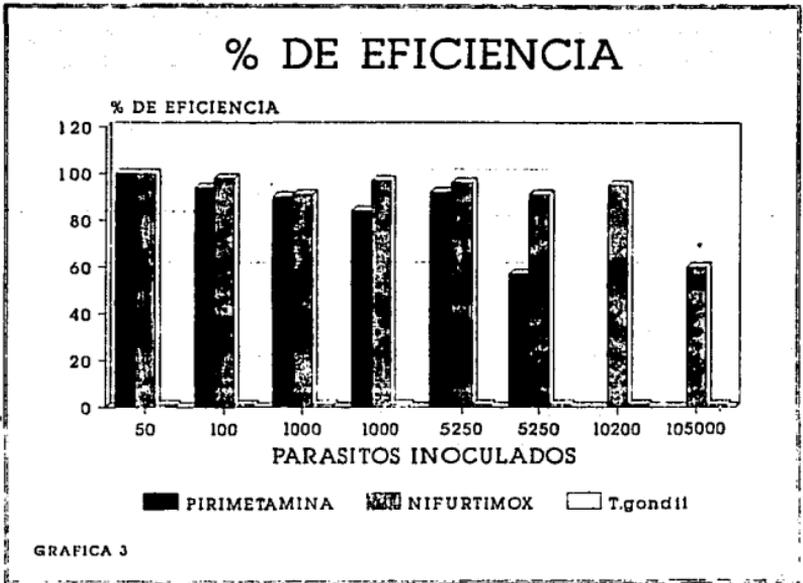
% DE VIDA MEDIA



Parásitos Inoculados

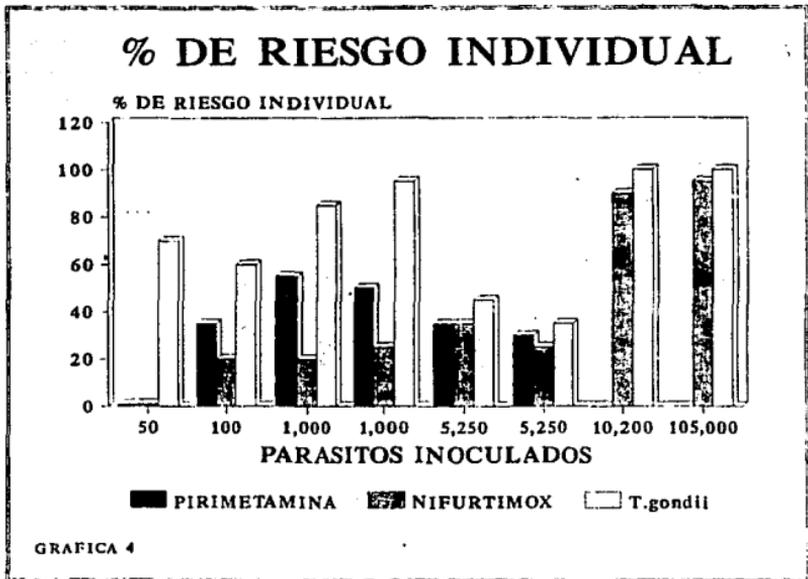
GRAFICA 2a

GRAFICA 3



GRAFICA 3

GRAFICA 4



$$S_p^2 = 2.2374 \times 10^{16}$$

Notando que S_p^2 está más cerca de S_x^2 que de S_y^2 ,

$$t_0 = 4.0495$$

El nivel de significancia $\alpha = 0.01$; G.L. = 14

$$t_{0.005}(14) = 2.9768$$

$$H_0 \text{ si } t_0 > 2.9768 \text{ o } t_0 < -2.9768$$

Por lo tanto $t_0 = 4.0495$, se rechaza H_0 con $\alpha = 0.01$, indicando que el tratamiento con Nifurtimox disminuye la carga parasitaria en el exudado peritoneal del ratón.

b)

TESTIGO
(Control de desafío)

PROBLEMA
(Tratamiento con Pirimetamina)

RELACION DE LA CARGA PARASITARIA

LOTE	LOTE SIN TRATAMIENTO	LOTE TRATADO CON PIRIMETAMINA
I	3.03×10^7	-
II	3.5×10^8	-
III	2.1×10^7	9.5×10^7
IV	3.1×10^8	2.39×10^7
V	4.03×10^8	6.5×10^7
VI	2.11×10^8	2.02×10^7
VII	7.6×10^8	4.0×10^7
VIII	2.35×10^8	0

$$H_0 : \mu_x = \mu_y \text{ en oposición a } H_1 : \mu_x \neq \mu_y$$

$$\bar{X} = 3.15 \times 10^8 \quad ; \quad S_x^2 = 4.48 \times 10^{18} \quad ; \quad n = 8$$

$$\bar{Y} = 4.18 \times 10^7 \quad ; \quad S_y^2 = 1.17 \times 10^{15} \quad ; \quad m = 6$$

$$S_p^2 = 2.6570 \times 10^{16}$$

De donde se observa que S_p^2 está más cerca de S_1^2 que de S_2^2 . Esto se debe a que S_1^2 tiene más grados de libertad, es decir, que hay mayor información sobre σ^2 en la muestra de la población con el primer tratamiento.

$$t_0 = 3.1034$$

$$\alpha = 0.01$$

$$G.L. = 12$$

$$t_{0.005}(12) = 3.0545$$

$$H_0 : \text{si } t_0 > 3.0545 \text{ o } t_0 < -3.0545$$

Como $t_0 = 3.1034$, se rechaza H_0 con $\alpha = 0.01$, lo cual indica que en el lote que recibe tratamiento con Pirimetamina se ve disminuida la carga parasitaria del exudado peritoneal.

c)

TESTIGO - PROBLEMA
(Tratamiento con Pirimetamina) (Tratamiento con Nifurtimox)

INOCULACION	LOTE TRATADO CON PIRIMETAMINA	LOTE TRATADO CON NIFURTIMOX
III	9.5×10^7	1.9×10^7
IV	2.39×10^7	1.17×10^7
V	6.5×10^7	1.15×10^7
VI	2.02×10^7	1.8×10^7
VII	4.0×10^7	1.3×10^7
VIII	0	0

$H_0 : \mu_x = \mu_y$ en oposición a $H_1 : \mu_x \neq \mu_y$

$$\bar{X} = 4.18 \times 10^7 ; S_x^2 = 1.17 \times 10^{13} ; n = 6$$

$$\bar{Y} = 1.22 \times 10^7 ; S_y^2 = 4.6 \times 10^{11} ; m = 6$$

$$S_p^2 = 6.08 \times 10^{14}$$

$$t_0 = 2.079$$

$$GL = 10$$

$$t_{0.05}(10) = 1.8125$$

$$H_0: \text{Si } t_0 > 1.8125 \text{ o } t_0 < -1.8125$$

Los resultados ponen de manifiesto que las medias de rendimiento entre ambos medicamentos no son iguales. La conclusión es que el Nifurtimox contribuye en la erradicación del parásito en el ratón, demostrando que el Nifurtimox disminuye más la carga parasitaria en comparación de la Pirimetamina.

2.- SOBREVIVENCIA DE RATONES AL DESAFIO

Con el fin de comprobar que un mayor número de ratones infectados con *T. gondii* que reciben tratamiento con Nifurtimox o Pirimetamina sobreviven a la infección, mientras que el lote de animales que no recibió tratamiento contiene un menor número de sobrevivientes.

Organizamos lotes al azar con ratones de la cepa BALB/c; primero se comparará el control de parasitosis (testigo), con cada uno de los lotes que reciben tratamiento ya sea con Nifurtimox o con Pirimetamina, y posteriormente se hará la comparación entre ambos medicamentos.

a)	TESTIGO	PROBLEMA
	(Control de desafío)	(Tratamiento con Nifurtimox)

Se pone a prueba la hipótesis de que al no recibir el tratamiento con Nifurtimox un mayor número de ratones sobreviven a la infección. Se empleó un nivel de significancia de 0.05 (X^2).

LOTE	RATONES QUE VIVIERON	RATONES QUE MURIERON	TOTAL
Tratado con Nifurtimox	98	62	160
Sin tratamiento	42	118	160
TOTAL	140	180	320

Se trata de una distribución X^2 doble.

$$e_{11} = 70 \quad e_{12} = 90$$

H_0 = En el lote que no recibe tratamiento con Nifurtimox hay un mayor número de ratones sobrevivientes a la infección (desafío).

H_a = En el lote que recibe el tratamiento con Nifurtimox se observa un mayor número de ratones sobrevivientes a la infección.

$$\alpha = 0.05$$

Se rechaza H_0 si $X^2 = \sum(\sigma - e/c)^2 > X^2_{\alpha}$.

Como el GL = 1, se aplica la corrección por continuidad:

$$X^2 = 38.4124$$

$$X^2_{0.95,1} = 3.8415$$

Como $X^2 = 38.4124 > X^2_{\alpha} = 3.8415$ se rechaza H_0 .

Por lo tanto, esto indica que el lote que recibe el tratamiento contiene un mayor número de ratones sobrevivientes al desafío; lo que indica que el Nifurtimox confiere protección en la infección por *T.gondii*.

b)	TESTIGO	-	PROBLEMA
	(Control de desafío)		(Tratamiento con Pirimetamina)

Se excluyen las dos primeras inoculaciones en las cuales no hubo lotes con tratamiento de Pirimetamina para obtener una cantidad equitativa en los lotes organizados, por lo tanto, cada lote cuenta con 120 ratones. Para este caso la hipótesis a analizar es:

H_0 = El lote de ratones infectados con *T. gondii* que no recibe el tratamiento con Pirimetamina tiene un mayor número de ratones sobrevivientes al desafío.

H_a = El lote de ratones infectados con *T. gondii* que si recibe el tratamiento con Pirimetamina tiene un mayor número de ratones sobrevivientes al desafío.

Nivel de significancia : $\alpha = 0.05$

LOTE	RATONES QUE VIVIERON	RATONES QUE MURIERON	TOTAL
Tratado con Pirimetamina	79	41	120
Sin tratamiento	42	78	120
TOTAL	121	119	240

$$e_{11} = 60.5 \quad e_{12} = 59.5$$

$$X^2 = 21.6012$$

$$X^2_{0.95,1} = 3.8415$$

De donde : $X^2 = 21.6012 > X^2_{\alpha} = 3.8415$

Por lo tanto se rechaza H_0 . Lo que indica que el lote con tratamiento de Pirimetamina tiene un mayor número de ratones sobrevivientes al desaffo.

c) TRATAMIENTO CON NIFURTIMOX - TRATAMIENTO CON PIRIMETAMINA
(En ratones infectados con *T. gondii*)

Se comprueba la acción de ambos medicamentos; se ponen a prueba las siguientes hipótesis:

H_0 = En el lote en que los ratones infectados con *T. gondii* reciben quimioterapia con Pirimetamina se observa un mayor número de ratones sobrevivientes.

H_a = En el lote en que los ratones infectados con *T. gondii* reciben quimioterapia con Nifurtimox se observa un mayor número de ratones sobrevivientes.

$$\alpha = 0.05$$

Se rechaza H_0 si $X^2 = \sum(\sigma - e/e)^2 > X^2_{\alpha}$

LOTE	RATONES QUE VIVIERON	RATONES QUE MURIERON	TOTAL
Tratados con Pirimetamina	79	41	120
Tratados con Nifurtimox	95	25	120
TOTAL	174	66	240

$$e_{11} = 87$$

$$e_{12} = 33$$

$$\chi^2 = 6.0397$$

$$\chi^2_{0.05,1} = 3.8415$$

$$\chi^2 = 6.0397 > \chi^2_{\alpha} = 3.8415$$

Por lo tanto H_0 se rechaza, lo que indica que el Nifurtimox es un medicamento que ayuda en el tratamiento de la Toxoplasmosis, siendo mejor que la Pirimetamina. Se observa que el lote que recibe la quimioterapia con Nifurtimox obtiene un mayor número de ratones sobrevivientes al desafío con *T. gondii*.

CAPITULO 6

ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados del presente trabajo indican que el tratamiento con Nifurtimox ayuda a erradicar al *Toxoplasma gondii* de los ratones que fueron infectados experimentalmente, ya que se observa una reducción de la carga parasitaria en los animales tratados con el medicamento relativo a la esperada en los animales que no recibieron tratamiento.

Desde las primeras observaciones se notó una gran diferencia tanto en el tiempo de vida del animal como en la disminución de la carga parasitaria.

Observando la tabla 4, en cada inoculación el lote que presenta el mayor número de ratones muertos es el lote control de desafío ya que éste no recibe ningún tipo de tratamiento; sin embargo los lotes que reciben tratamiento presentan un menor número de ratones muertos en el desafío y de éstos últimos lotes el tratado con Nifurtimox presenta una ventaja al tratado con Pirimetamina; en consecuencia, el número de ratones sobrevivientes es lo inverso de lo anterior, es decir, a un aumento del número de ratones muertos una disminución del número de ratones sobrevivientes. En lo que corresponde al tiempo de vida media, se puede apreciar que el lote control de desafío es el primero que presenta ratones muertos por el desafío (infección de *T. gondii*), siguiendo en número el lote que recibe tratamiento con Pirimetamina, y por último el de Nifurtimox. Se puede notar que el tiempo de vida media promedio de un ratón infectado experimentalmente con una cantidad de 1,000 a 105,000 parásitos (*T. gondii*) y sin tratamiento alguno es de 6 - 7 días; con la misma cantidad de parásitos inoculados al animal pero recibiendo tratamiento aumenta el promedio de vida del ratón de 2 - 4 días más. La octava inoculación no presentó

animales muertos al ser desafiados con 50 parásitos y tratados con Pirimetamina o Nifurtimox durante así hasta el tiempo máximo del experimento que fué de 31 días, al término de cual se sacrificó a éstos ratones para estudios posteriores los cuales resultaron negativos, lo que indica que los medicamentos a esa cantidad de parásitos inoculados al ratón son 100 % eficaces. En la gráfica 1 puede observarse el tiempo de vida media de los ratones y constatar lo mencionado anteriormente. El porcentaje de vida media definido como la relación que existe entre el tiempo de vida del animal y el tiempo máximo del experimento se muestra en la gráfica 2, en donde podemos apreciar que el porcentaje de vida media menor es para el lote control de desafío y el mayor para el lote que recibe tratamiento con Nifurtimox; obteniendo un máximo porcentaje al inocular 50 parásitos al animal y ser tratado con cualquiera de los dos medicamentos empleados en éste estudio, los valores del porcentaje de vida media se pueden observar en la tabla 5.

En la gráfica 2a se ilustra los resultados globales del % de vida media de tres poblaciones organizadas para el estudio; en donde se muestra que la proporción mayor (39.8%) pertenece a la población infectada con el parásito pero que recibió la quimioterapia con Nifurtimox, el valor intermedio (32.3 %) es para quien recibió tratamiento con Pirimetamina y por último el valor inferior es para la población infectada no tratada con los medicamentos antes mencionados.

Las siguientes consideraciones de nuestros resultados indican la diferencia que existe en los tratamientos (tabla 5):

a) Los resultados de carga parasitaria expresada en número de parásitos por mililitro, indican el efecto quimioterapéutico de los medicamentos observando así las diferencias cuantitativas entre el tratamiento con Pirimetamina y el tratamiento con Nifurtimox; en donde éste último presenta una mayor disminución

en la carga parasitaria, marcada más aún en el lote de animales que no reciben tratamiento.

b) El máximo porcentaje de eficiencia del tratamiento se obtuvo en la octava inoculación en los lotes que recibieron quimioterapia. El lote control de desafío muestra 0 % de eficiencia debido a que éste lote no recibe tratamiento, ahora bien, en cuanto a los medicamentos empleados se puede apreciar que el tratamiento con Nifurtimox tiene un porcentaje de eficiencia mayor al de la Pirimetamina, indicando así que el tratamiento con Nifurtimox tiene un mejor efecto contra el *T. gondii*; la gráfica 3 ilustra la gran diferencia en la eficiencia de los tratamientos.

c) Evaluando el porcentaje de animales muertos dentro de un lote, se puede observar que éste porcentaje es mayor en el control de desafío. También podemos observar un decaimiento del riesgo individual al recibir tratamiento con Nifurtimox, es decir se presenta un menor número de ratones muertos por la infección experimental. En la gráfica 4 se indica el porcentaje de riesgo individual; comparando con la gráfica 3 se puede demostrar que a mayor riesgo individual se observa menor eficiencia en el tratamiento.

Seleccionando los datos de 29 ratones de las ocho inoculaciones realizadas (tablas 9, 10 y 11), se pudo constatar que existe diferencia entre los tratamientos tanto cuantitativamente como cualitativamente; además se puede casi asegurar que la muerte del ratón no fue debida a otro tipo de infección; pues al tomar el exudado peritoneal y realizar el frotis en fresco se pudo apreciar que no había una cantidad significativa de bacterias (tabla 10).

Por otra parte, cuando se diseñó el experimento se pensó que otra forma de demostrar que el tratamiento con Nifurtimox eliminaría las formas libres y quísticas de *T. gondii* era por medio de la Histología, en

donde al realizar cortes histológicos de diferentes órganos del ratón se observaría una menor cantidad de parásitos en el lote tratado relativo al control de desafío. Observando la tabla 11 se puede notar que aunque también presentan parásitos los cortes histológicos de los animales que recibieron quimioterapia es menor la cantidad de parásitos así como de órganos infectados por el parásito en comparación con los que no recibieron quimioterapia, además la diferencia también se puede apreciar en los dos tratamientos, donde el Nifurtimox destaca por su erradicación del *T. gondii* de los diferentes órganos del animal.

Para los resultados patológicos se fotografió algunas preparaciones realizadas en el estudio (frotis, cortes histológicos), para demostrar algunas de las diferencias que existen entre los animales tratados con Nifurtimox y los no tratados. En la fotografía 1 se ilustra el exudado peritoneal de un ratón infectado experimentalmente con *T. gondii* teñida con Wright, donde podemos ver la forma semilunar del parásito, con el citoplasma teñido de un color azulado y una masa de cromatina (núcleo) teñida de rojo.

La fotografía 2 muestra el corte histológico al ojo de un ratón, esta preparación fue la única que presentó al parásito invadiendo al órgano; el animal fue desafiado con 105,000 parásitos y no recibió tratamiento. En la fotografía 3 ilustramos el corte histológico del hígado de un ratón infectado que no recibió quimioterapia.

Podemos apreciar la diferencia que existe entre los animales desafiados - tratados con Nifurtimox (fotografías 4,6,8,10) y los animales desafiados - sin quimioterapia (fotografías 5,7,9 y 11), comparando ambas poblaciones observamos que la población que no recibió tratamiento presenta una gran cantidad de parásitos invadiendo los tejidos, en tanto la que recibió el tratamiento con Nifurtimox aunque también presenta parásitos la cantidad es inferior; esto puede deberse a que el Nifurtimox desempeña un rol

importante en la erradicación de *T. gondii* de los tejidos de diferentes órganos del ratón.

Para verificar los resultados se afrontó el problema de comparar las medias probabilísticas de las poblaciones utilizando una distribución binomial (distribución X^2 doble), así como la prueba *t* para muestras aleatorias independientes. Esta comparación fue realizada para demostrar la sobrevivencia y disminución de la carga parasitaria en los ratones, en donde pudimos constatar que el Nifurtimox tiene una ventaja sobre la población tratada con Pirimetamina, y más aun sobre la población que no recibió tratamiento.

Con los resultados obtenidos pudimos determinar que el nifurtimox actúa eficazmente como antiparasitario en el ratón sobre las formas libres de toxoplasma, ahora bien en cuanto a las formas quísticas al parecer también presenta actividad antiparasitaria pues en las preparaciones histológicas no encontramos ningún pseudoquiste o quiste del parásito, con lo que podemos decir que Nifurtimox puede ser empleado como quimioterapia contra la toxoplasmosis en ratones infectados experimentalmente, claro para dar una eficacia del medicamento contra la patogenicidad del parásito en el hombre es necesario realizar estudios más profundos sobre la acción terapéutica del Nifurtimox.

CAPITULO 7

CONCLUSIONES

Las conclusiones más importantes a las que hemos llegado en el presente trabajo son :

- 1.- El Nifurtimox posee actividad antiparasitaria contra *T. gondii*.
- 2.- El Nifurtimox tiene acción contra las formas libres del parásito y al parecer también sobre las formas quísticas y pseudoquísticas, aunque para poder establecer su eficacia tendríamos que realizar más modelos experimentales como éste.
- 3.- El Nifurtimox tiene mejor propiedad antiparasitaria que el medicamento de elección empleado para la Toxoplasmosis (Pirimetamina).
- 4.- Los valores alcanzados del porcentaje de eficiencia oscilan desde 57.01 % hasta un 100 %, siendo los valores más elevados para la población que recibió quimioterapia con el Nifurtimox y como consecuencia el porcentaje del Riesgo Individual disminuye llegando a un 0 % en los animales inoculados experimentalmente con 50 parásitos.
- 5.- El Nifurtimox puede ser empleado como terapéutica de la toxoplasmosis animal (ratones de laboratorio); pero para emplearlo como tratamiento alternativo en la Toxoplasmosis Humana es necesario realizar una serie de estudios más profundos sobre el medicamento.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abbott, P.H. & Hamdi, M.A. Overdose of Pyrimethamine. Br. Méd. J. 1953, 1, 884-885.
- 2.- Alford, C.A. et al. Congenital Toxoplasmosis: clinical, laboratory and therapeutic considerations, with special reference to subclinical disease. Bulletin of the New York Academy of Medicine, 1974, 50, 160-181.
- 3.- Andrade SG; Megalhas JB; Pontes AL. Therapy of the Chronic Phase of the Experimental Infection by *Trypanosoma cruzi* with Benznidazole and Nifurtimox. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1989, Jul-Sep; 22(3):113-118.
- 4.- Araujo FG and Remington JS. Partially Purified Antigen Preparations of *Toxoplasma gondii* Protect Against Lethal Infection in Mice. Infection and Immunity, July 1984, p.122-126, vol. 45 No. 1.
- 5.- Armata, J. et al. Daraprim in Central Nervous System Leukaemia in Children. Polski Tygodnik Lekarski, 1972, 27/48, 1895-1897.
- 6.- Bakht FR; Gentry LO. Toxoplasmosis in Pregnancy: an Emerging Concern for Family Physicians. Am. Fam. Physicians Apr;45(4):1683-90.
- 7.- Bennett RN, M.D. Estadística en el laboratorio clínico. Ed. Reverte, S.A. 1983.
- 8.- Biagi F. Cutirreacciones con Toxoplasmina en Tampico. Rev. Med. Hosp. General. 14:191-195. 1951.
- 9.- Biagi F, F. Parasitosis Pediátrica. Ed. Hosp. Inf. de Méx. 1963.
- 10.- Briggs M. and Briggs M. Pyrimethamine toxicity. British Medical Journal, 1974, 1/5896, 40.
- 11.- Brown HW. Parasitología Clínica. Ed. Interamericana, 1988 5ª.ed.

- 12.- Cabeza Meckert P; Chambro JG; Laguens RP. Differences in Resistance to Reinfection with Low and High Inocula of *Trypanosoma cruzi* in Chagasic Mice Treated with Nifurtimox and Relation to Immune Response. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988 Feb;32(2):241-245.
- 13.- Cagigas Reig A de I; Pérez Perdueles A. Ensayo de Mutagenicidad de una Droga con Acción Antiparasitaria (Pirimetamina). *Rev. Cuba. Farm;*23(3):206-10, Sept-Dic. 1989.
- 14.- Castro JA; Díaz de Toranzo EG. Toxic Effects of Nifurtimox and Benznidazole, two Drugs Used Against American Trypanosomiasis (Chagas'Disease). *Biomed. Environ Sci.* 1988 Jun; 1(1):19-33.
- 15.- Cereisola JA. Evolución Serológica de Pacientes con Enfermedad de Chagas Aguda Tratados con Bay 2502.
- 16.- Cerisola JA. Chemotherapy of Chagas'Infection in Man. *Chagas' Disease Symposium Proceedings*, Pag. 35-47.
- 17.- Cerisola JA; Lugones H; Minoprio JL; Lampit. Ed. Bayer Argentina, 1978
- 18.- Chaudhuri, R.N. and Chakravarty, N.K. Pyrimetamine in the prophylaxis of malaria. *Br. Med. J.*, 1955, 1, 207 - 208.
- 19.- Chung Wang Ch, PhD. *Farmacología Básica y Clínica. Cap. Principios Básicos de la Quimioterapia Antiparasitaria. 4ª. ed*
- 20.- Couvreur J.; Desmonst G. Prophylaxis of congenital toxoplasmosis : effects of Spiramycin on placental infection. *J. Antimicrob. Chemother.* 1988, 22, 193 - 200.
- 21.- Couvreur J.; Nottin N. La Toxoplasmoso Congénitale Traitée Résultats Cliniques et Biologiques. *Ann. Pediatr.* 1980, 27, 647-652.
- 22.- Covell G; Shute P.G. Pyrimethamine as a Prophylactic Agent Against a West African Strain of *P.falciparum*. *Br. Med. J.* 1953, 1, 1081.

- 23.- Craig CR; Stitzel RE. *Farmacología Médica*. Ed. Interamericana, México 1984.
- 24.- Craig ChF; Faust EC. *Clinical Parasitology*. Ed. Lea & Febiger, 1984.
- 25.- Craven, S.A. Photosensitivity to Pyrimethamine ?. *Br. Med. J.* 1974,2/5918, 556.
- 26.- Daffos F, M.D., Forestier F. Prenatal Management of 746 Pregnancies at Risk for Congenital Toxoplasmosis. *The New England Journal of Medicine*, vol. 318 No. 5, Feb. 4, 1988.
- 27.- Davidson A.C.; Bateman C. Pulmonary Toxicity of Malaria Prophylaxis. *B. M. J.* vol. 297, 12 de Nov. 1988.
- 28.- Davidson WG. Toxicity of Pyrimethamine. *Br. Med. J.* 1954,1,703-704.
- 29.- Davies, C.S. Two Cases of Daraprim Poisoning. *Cent. Afr. J. Med.* 1956, 2/10, 364.
- 30.- de Meuter, F. Human Toxoplasmosis. *Bruxelles Medical* 1967, 47/32 - 33, 765 - 780.
- 31.- de Pailletets, F. et al. Prevention of Accidents Due to Use Pyrimethamine in the Treatment of Toxoplasmosis. *Ann. Pediatr.* 1975, 22/11, 801- 804.
- 32.- de Rovert-Bonnet, H. A Follow - up of Children with Congenital Toxoplasma Infections. *Proceedings of the Fourteenth International Congress Pediatrics*, Buenos Aires, 1974, 4, 11 - 19.
- 33.- Dern, R.J. et al. Toxicity Studies of Pyrimethamine (Daraprim). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1955, 4, 217 - 220.
- 34.- Derouin F; Mazon MC. Isolement et Identification de *T.gondii* pour Cultures Cellulaires. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* 1986, 1,85-88.
- 35.- Derouin F.; Thulleiz P. Early Prenatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis Using Amniotic Fluid Samples and Tissue Culture. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 1988, 7, 423 - 425.

- 36.- Desmonts G.; Daffos F. Prenatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. *Lancet* 1985, 1, 500 - 504.
- 37.- Desmonts G. y Couvreur J. Congenital Toxoplasmosis: A Prospective study on Pregnancies. *N. Engl. J. Med.* 290:111.
- 38.- Divaris, A. Toxoplasmosis in Rhodesia. *Central African Journal of Medicine*, 1973, 19/10, 216 - 218.
- 39.- Dubey JP; MVSc, Ph D and Sharma SP; MVSc, Ph D. Prolonged Excretion of *T.gondii* in Semen of Goats. *Am. J. Vet. Res*; Vol. 41, No. 5.
- 40.- Elmalen J; Poulet B. Les Accidents Graves Lors de la Prescription de Pyriméthamine Chez les Nourrissons Traités pour une Toxoplasmosis. *Thérapie*, 1985, 40, 357 - 359.
- 41.- Eyles DE; Coleman M. An Evaluation of the Curative Effects of Pyriméthamine and Sulfadiazine alone and in Combination on Experimental Mouse Toxoplasmosis. *Antibiot Chemother.* 1955, 5, 529-539.
- 42.- Eyles D.E.; Coleman M. Synergistic Effects of Sulfadiazine and Daraprim Against Experimental Toxoplasmosis in the Mouse. *Antibiot Chemother.* 1953, 3, 483 - 490.
- 43.- Ferreira H de O. Tratamento Específico na Fase Aguda da Doença de Chagas. *J. Pediatr.*(Rio de J.);64(4):126-128, abr.1988.
- 44.- Ferreira H de O. Treatment of the Undetermined Form of Chagas Disease with Nifurtimox and Benzimidazole. *Rev. Soc. Bras.Med. Trop.* 1990, Oct.- Dec.:23(4):209-211.
- 45.- Ferreira R de CC; Pereira LC de S. Evaluation of the Mutagenic- Carcinogenic Potential of Drugs by Salmonella/ Microsomal Fraction Assay: I. Anti-*Trypanosoma cruzi* Agents Mutagenicity. *Ciênc. Cult.* (São Paulo);38(4):696-702, abr. 1986.
- 46.- Flores Benites F, Nieves Hurtado A. *Problematario de probabilidad y estadística*. IPN - UNAM 1989.

- 47.- Frenkel J.K. La inmunidad en la Toxoplasmosis. Bol. of Sanit Panam 100(3) 1986.
- 48.- Frenkel J.K. Toxoplasmosis. Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases vol.1 A Succesor to Pathol. of Trop. Diseases an Atlas by Ash and Spitz, 1976. Chapter 6. Protozoa, Section 7.
- 49.- Frenkel J.K. Toxoplasma in and Around U.S. Bioscience. 23, 1973, 343 - 352.
- 50.- Frenkel JK and Ruiz A. Human Toxoplasmosis and Cats Contact in Costa Rica. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29(6) 1980, pag. 1167-1180.
- 51.- Ghosh, M. et al. Therapy of Toxoplasmosis Uveitis. American Journal of Ophthalmology, 1965, 59, 55 - 61.
- 52.- Giles C.L. The Treatment of Toxoplasma Uveitis with Pyrimethamine and folinic Acid. American Journal of Ophthalmology. 1964, 58, 611 - 617.
- 53.- Goodman LS; Gilman A. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Ed. Interamericana, 3ª ed, México 1979.
- 54.- Gorla NB; Ledesma OS; Barbieri GP; Larripa IB. Lack of Sensitivity of Sister-Chromatid Exchange for Lymphocyte Chromosomal Damage Detection Caused by Antichagasic Treatment. Toxicol Lett 1991, Oct; 58(2):225-230.
- 55.- Gorla NB; Ledesma OS; Barbieri GP; Larripa IB. Thirteenfold Increase of Chromosomal Aberrations Non-Randomly Distributed in Chagasic Children Treated with Nifurtimox. Mutat Res. 1989, Oct; 224(2):263-267.
- 56.- Grisham R.S.C. Central Nervous System Toxicity of Pyrimethamine (Daraprim) in Man. American Journal of Ophthalmology. 1962, 54, 1119 - 1121.
- 57.- Guignard J. Intoxication Aigue Accidentelle par la Pyrimethamine. Annl. Paediat. 1965, 41, 120 - 122.

- 58.- Gunther C.E.M. A Fatal Overdose of Daraprim. Med. J. Aust. 1954, 970.
- 59.- Gutteridge WE. Experimental Chemotherapy of Chagas Disease. Cap.IV.- A Chemotherapy, Insecticides, and other treatments and Control Approaches.
- 60.- H. Maisonneuve; C. Farer; M.A. Piens; J.P. Garin. Toxoplasmosis Congenitale. Presse Med. 1984, 13/14, 859 - 862.
- 61.- Harald Crámer. Elementos de la teoría de probabilidades. Ed. Aguilar, 6ª ed. 1977.
- 62.- Henry L. and Beverly J.K.A. Acquired Toxoplasmosis and its Laboratory Diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 1972, 26/6, 550.
- 63.- Hitchings G.H. Fatal Pyrimethamine Poisoning. Br. Med. J. 1954, 2, 416.
- 64.- Hogan M.J. Ocular Toxoplasmosis Transactions of the Pacific Coast Oto - Ophthalmological Society, 1969, 53, 1 - 21.
- 65.- Hughes HPA; Van Knapen F; Atkinson HJ; Balfour AH; Lee DL. A New Soluble Antigen Preparation of *T.gondii* and its use in Serological Diagnosis. Cli. Exp. Immunol.(1982) Vol.49 pag.239-246.
- 66.- Hurley M.G.D. Administration of Pyrimethamine With Folinic Acids In Human Malaria. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene. 1959, 53, 410 - 413.
- 67.- Infante Gil S; Zárate de Lara GP. Métodos estadísticos. Ed. Trillas, México 1984.
- 68.- Jörg ME; Reyes Oribe H; Llerena Marayo T. Miocarditis por *Toxoplasma gondii*. Prensa méd. Argent; 73(1): 5-10, 7 mar. 1986.
- 69.- Kagan B.M. Antimicrobial Therapy. W.B. Saunder Company , Philadelphia - London. 1980 3a. ed.

- 70.- Kaufmann H.E and Geister P.H. The Haematologic Toxicity of Pyrimethamine (Daraprim) in Man. Archives of ophtalmology. 1960, 64, 140 - 146.
- 71.- Laha P.N. et al. Acute Malaria Treated with Pyrimethamine (Daraprim). Indian Journal of Malariology. 1953 (6), 7/4, 339-346.
- 72.- Linch MJ; Raphael SS; Mellor LD; Sparel PD; Inwood MJH. Métodos de laboratorio. Ed. interamericana. 2ª ed. México 1990.
- 73.- Lothar C. Fuith. Scraening for Toxoplasmosis in Pregnancy. The Lancet, November 19, 1980.
- 74.- Marinkelle CJ. Effect of Lampit on *Trypanosoma rangeli* in experimentally infected mice. Tropenmed Parasitol. 1982 Sep;33(3) :151-152.
- 75.- Markus M.B. Symptoms, Transmission, Prevention and Treatment of Toxoplasmosis. South African Medical Journal. 1973,47/35,1580-1590.
- 76.- Mc Cabe Robert E. and Sharon Oster. Current Recomendations and Future Prospects in the Treatment of Toxoplasmosis. Drugs 38(6): pp. 973 - 987, 1989.
- 77.- Mendez I. Modelos Mixtos y Aleatorios en el diseño y Análisis de Experimentos. Serie Azul: Monografias 1981, UNAM 4(31).
- 78.- Miller NL; Frenkel JK and Dubey JP. Oral Infections with Toxoplasma Cysts and Oocysts in Felines, other Mammals, and in Birds. The Journal of Parasitology Vol.58 No.5, Oct. 1972, p.928-37.
- 79.- Mohr W. & Fliedner E. Clinical and Diagnostic Problems of Toxoplasmosis. Monatsschrift für Kinderheilkunde. 1969, 117/7, 508-511.
- 80.- Mooser H. Tabardillo. An American Variety of Typhus. J. Inf. Dis. 44:186-193. 1929.
- 81.- Moya PR; Blanco S; Lapasset M; Sanmartino C; Basso B; Moreti E; Cura D; Pao Lasse RD. Tratamiento de la Enfermedad de Chagas con Nifurtimox Durante los Primeros Meses de Vida. Medicina (B.Aires);

45(5):553-558, 1985.

82.- Moya PR; Trombotto GT. Enfermedad de Chagas: Efecto Clastogénico de Nifurtimox y Benzimidazol en Niños. Medicina (B.Aires);48(5):487-491, 1988.

83.- Murphy R.L. Phair J.D. Systemic Reaction to Pyrimethamine - Sulfadoxine. J. Fam. Pract. 1986, 22, 375-376.

84.- Nahalen B.L.; Alakija T.; Breman J.G. Lack of Efficacy of Pyrimethamine Prophylaxis in Pregnant Nigerian Woman. The Lancet, October 7, 1989.

85.- Noguera Torres B; Baeza Ramirez I; Wong Ramirez C. Orientación Actual de la Quimioterapia de la Enfermedad de Chagas. Acta Médica Vol. XXVII No. 105 - 106. Enero - Junio de 1991, Pag.37- 56.

86.- Oksenhendler E; Macheron S. Toxoplasmosis: New Aspects, Diagnosis and Treatment. Rev. Prat. 1992 Jan. 15;42(2):155-159.

87.- P. Hengst. Effectiveness of General Testing for *T.gondii* Infection in Pregnancy. Zbl - Gynaecol. 104, 1982, 949 - 956.

88.- P. Hohlfield MD; F. Daffos. Fetal Toxoplasmosis: out come of Pregnancy and Infant Follow-up After in uters Treatment. J. Pediatr. 1989, 115/5, Part. 1, 765 - 769.

89.- Pang J.A. Non - Cardiogenic Pulmonary Oedema Associated with Pyrimethamine. Respir. Med. 1989, 83/3, 247 - 248.

90.- Pat A. Ibeziako. The Effect of Malarial Chemoprophylaxis on Immunoglobulin Levels of Pregnant Nigerian Women and the Newborn. Br. J. Obstet. Gynaecol. 1980, 87/11, 976 - 982.

91.- Peake H.L. Case of Fatal Pyrimethamine Poisoning. Br. Méd. J. 1954, 1, 48.

92.- Remington J.S. Toxoplasmosis in the Adult. Bulletin of the N.Y. Academy of Medicine. 1974, 50/2,

211-227.

93.-Remington J.S.; Desmonts G. *Toxoplasmosis in Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* Ed. W.B. Saunders Company, London. 1976, 191 - 332.

94.- Remington J.S.; Efrom B. et al. *Studies on Toxoplasmosis in The Salvador.* Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 64. 1970

95.- Reyes P; Paucar J; Navarro J; Ore, L. Toxicidad Hematológica por Pirimetamina. Rev. serv. sanid. fuerzas polic;48(1):79-82, ene.-jun. 1987.

96.- Roch E. *Compendio de la Toxoplasmosis.* Ed. Patria México 1971.

97.- Roch U, E y Varela G. *Diversos Aspectos de la Investigación Sobre la Toxoplasmosis en México.* Rev. Invest. Salud Pública Vol. XXVI No. 1 (Ene.- Mar.1966).

98.- Ruiz A and Frenkel JK. *Intermediate and Transport Host of T.gondii in Costa Rica.* Am.J.Trop.Med.Hyg. 29(6),1980, pp.1161-1166.

99.- Ruiz A and Frenkel JK. *Toxoplasma gondii in Costa Rica Cats.* Am. J. Trop. Med Hyg, 29(6) 1980, pag. 1150-1160.

100.- Sabin A y A. Feldman. *Dyes as Microchemical, Indicators of a New Immunity Phenomenon Affecting a Protozoon (Toxoplasma).* Science, 108:660-663, 1948.

101.- Schenone H; Rojas A; Alfaro E; Concha L y Aranda A. *Estudio Longitudinal de la Persistencia de la Acción Terapéutica del Nifurtimox y del Benznidazol en Pacientes con Infección Chagásica Crónica.* Bol. Chile. Parasitol. 1981, 36(3/4):59 - 62, 1981.

102.- Schemidt L.H.; Hughes H.B. *The Pharmacological Properties of 2,4-diamino-5p-chlorophenyl-6-ethylpyrimidine (Daraprim).* J. Pharmacol. Exp. Ther. 1953, 107, 92 - 130.

- 103.- Shaw M; Petrone J; Iglesias D; Constantini S; Formentini E. Poliomiocitosis Aguda por Nifurtimox. Arch. Argent. Dermatol; 32 (3):191-195, 1982.
- 104.- Sterkckx M.P. & Laver V. Intoxication par Absorption de Daraprim. Anns. Soc. Belge med. Trop. 1956, 36, 905 - 908.
- 105.- Tay J; Velasco O; Lara R; Gutiérrez M; Parasitología Médica. Ed. Cervantes, México 1990.
- 106.- Thalhammer O. Diagnosis and Treatment of Toxoplasma Infection During Pregnancy. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1960,85,177-179.
- 107.- Thambo Becker S. Trasplante Renal y Parasitosis. Rev. Sanid. Def. Nac. (Santiago de Chile); 6(3):196-201, jul. - sept. 1989.
- 108.- Toxoplasmosis. Symposium by the Council for Research in Glaucoma and Allied Diseases. Edited by: A E Mumenoe, M.D. November 20,21 and 22, 1960.
- 109.- Varela G; Vásquez A y Torroella J. Probable Existencia de la Dietilamida del Acido d-lisergico en la Infección por *T.gondii*. Rev. Ist. Salubr. Enferm. Trop. 16:29. 1956.
- 110.- Varela G; Vasquez A. Utilización del pez *Lebistis reticulatus* en el Diagnóstico de la Toxoplasmosis. Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop. 17: 75. 1957.
- 111.- Velasco-Castrejón O. Toxoplasmosis. Pub. Técnica del INDRE # 14. México 1992.
- 112.- Vinke I.H. Preliminary Note on Chemoprophylaxis Using "Daraprim" in a Rural Environment. Annales de la Société Belge de Médecine. 1952, 3,2/1, 91 - 100.
- 113.- Werner APT. B. Tratamiento de la Enfermedad de Chagas. Rev. Med. Chile, 113(2):162 - 166, feb. 1985.
- 114.- Whitfield D. Presumptive Fatality due to Pyrimethamine - Sulfadoxine. Lancet 1982, ii, 1272.

115.- Wilson C.B; Remington. Prevention of Congenital Toxoplasmosis. Stuttgart: Georg Thieme. 1979, 76 - 89.

116.- Work K. and Hutchinson M. A New Cyst of *T.gondii*. Acta Path. Microbiol. Scand. 1969;75.

117.- World Health Organisation. Toxoplasmosis Technical Report. Series, 1969, 431.

118.- Yilmaz SM; and Hopkins SH. Effects of Different Conditions on Duration of Infectivity of *Toxoplasma gondii* Oocysts. The Journal of Parasitology vol.58 No. 5 oct. 1972, p.938-9.

APENDICE

PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución Salina Isotónica (SSI).

Como diluyente se utilizó SSI al 0.15 M, preparandola de la siguiente forma:

NaCl = 8.7 g.

H₂O dest. = 1,000 ml.

Diluir el NaCl en el agua destilada hasta su completa disolución, posteriormente para esterilizar la solución se usó un filtro millipore con membrana de 0.22 μ m; para ésto se pasa la solución por el filtro através de una jeringa y se va recolectando en tubos estériles en alícuotas de 5 y 10 ml.

Solución de Formol al 10 %.

Formol (q.p) ----- 10 ml

H₂O destilada cbp. ----- 100 ml

Medir en una probeta 10 ml de formol y aforar a 100 ml en agua destilada.

Solución de NaOH al 0.1 N.

NaOH ----- 4 g.

H₂O destilada cbp. ----- 1000 ml

Pesar el hidróxido de sodio, disolver en agua y aforar a un litro.

Solución Amortiguadora de Fosfatos pH = 7,6

Fosfato disódico ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ----- 11.87 g/l

Fosfato Monopotásico (K_2HPO_4) ----- 9.08 g/l

A 9 ml de la solución de fosfato disódico, añadir 1 ml de solución de fosfato monopotásico. Ajustar el pH con HCl 0.1 N.

Solución colorante de Wright.

Azul de Metileno ----- 1 g

Alcohol Metílico ----- 600 ml

Este colorante es muy empleado en América. Su preparación se basa en la obtención de la policromía de azul de metileno por el calentamiento con bicarbonato de sodio. La solución se prepara disolviendo cuidadosamente 1.0 g de polvo en 600 ml. de alcohol metílico.

Solución Colorante de Giemsa.

El colorante de Giemsa está rodeado de misterios y contradicciones por ciertos secretos de fabricación comercial. Sin embargo la composición recomendada es :

Eosinato de Azur A ----- 0.5 g

Eosinato de Azur B ----- 2.5 g

Azul de Metileno ----- 1.0 g

Cloruro de Azul de Metileno ----- 1.0 g

Glicerina ----- 375 ml

Alcohol Metílico ----- 375 ml.

Se necesita una proporción mínima de 40 % de glicerina para que la mezcla sea estable. También debe emplearse alcohol metílico sintético grado reactivo para evitar la contaminación con ácido acético que se encuentra en el alcohol metílico preparado por destilación de madera cuyo ácido abate el pH y tiende a ocasionar precipitados de eosina. La dilución con agua durante la tinción produce disociación con liberación de colorantes ácidos y básicos activos. (Conn 1961).

GLOSARIO

Adenopatía.- Cualquier enfermedad glandular especialmente la que se caracteriza por sudación y alargamiento de los ganglios linfáticos.

Agranulocitosis.- Enfermedad aguda grave caracterizada por notable disminución o ausencia de leucocitos en la serie mieloide asociada a ulceraciones necróticas de la boca, faringe, otras mucosas y piel. Es producida ordinariamente por preparados sedantes a base de amidopirina y barbitúricos y con menos frecuencia por sulfamídicos, arsenicales, benzal y/o radioterapia.

Ambliopía.- Disminución de la agudeza visual, especialmente la que no se debe a defectos de refracción o a una enfermedad orgánica ocular, puede ser congénita o adquirida.

Anastomosis.- Intercomunicación de los vasos sanguíneos o linfáticos através de dispositivos anatómicos normales (como sucede en las arterias cubital y radial, o a nivel de los arcos arteriales pulmonares), o por medio de canaliculos accesorios alrededor de una articulación (como se observa en la articulación del codo) y que se forma en todos aquellos lugares en los cuales las vías para el suministro sanguíneo de una parte periférica debe mantenerse tras la interrupción de una arteria principal. Siempre se forman anastomosis en los vasos periféricos. 2. Comunicación quirúrgica que se forma entre los vasos sanguíneos (por ejemplo entre la vena porta y la vena cava inferior) o entre dos órganos huecos, o entre dos porciones del mismo órgano (como sucede en el estómago y el yeyuno, el conducto hepático y el intestino delgado o entre la uretra y el colon). 3. Entrelazamiento de fibras de dos nervios, o la unión de dos extremos reunidos de un nervio.

Anemia.- Reducción por debajo de lo normal, de los eritrocitos, del contenido de hemoglobina, y del hematocrito.

Anemia Hipocrómica.- Anemia caracterizada por falta de saturación completa del estroma eritocítico con hemoglobina lo cual puede juzgarse mediante la palidez de los eritrocitos no teñidos cuando se examinan microscópicamente.

Anemia Macrofítica.- Aumento del tamaño de los hematíes; volumen corpuscular medio (VCM) $\geq 100\mu\text{m}^3$ con o sin alteraciones megaloblásticas en la médula ósea; ésta comprende la anemia perniciosa, la esprué y la anemia del embarazo.

Anemia Megaloblástica.- Anemia caracterizada por la presencia de megaloblastos en la médula ósea ; coincide por lo general con macrocitosis en la sangre periférica.

Anemia Microfítica.- Anemia caracterizada por la disminución del tamaño de los hematíes.

Anemia Normofítica.- Anemia por reducción del número de glóbulos rojos sin alteración de su tamaño ni contenido de hemoglobina.

Anemia Perniciosa.- Anemia megaloblástica macrofítica que se debe a la falta de vitamina B_{12} ; y es secundaria a atrofia gástrica y pérdida del factor intrínseco necesario para la absorción de la vitamina, coexiste con degeneración de la columna posterior y lateral de la médula espinal.

Anorexia.- Falta o ausencia de apetito.

Argirofílica.- Que se tiñe o impregna fácilmente de las sales de plata.

Artralgia.- Neuralgia o dolor en una articulación, especialmente de sus partes blandas.

Astenia.- Falta o pérdida de fuerza.

Ataxia.- Incoordinación en la actividad muscular voluntaria, particularmente de los músculos que se emplean para actividades como caminar o alcanzar un objeto. Se debe a cualquier tipo de interferencia en las vías periféricas o centrales del sistema nervioso que tiene bajo su control el balance de los movimientos musculares.

Cardiomiopatía.- Enfermedad del músculo cardíaco.

Catalasa.- Enzima oxidante que descompone el H_2O_2 con desprendimiento de O_2 . Existe prácticamente

en todas las células excepto en ciertas bacterias anaerobias.

Catarata.- Opacidad total o parcial del cristalino o de su cápsula.

Cigoto.- 1. Organismo producido por la unión de dos gametos. 2. Ovulo fertilizado antes de la segmentación.

Cinasa.- Enzima que cataliza la transferencia de fosfato del trifosfato de adenosina, a un aceptor.

Coloboma.- 1. Defecto congénito patológico o quirúrgico, especialmente del ojo; se presenta más comunmente en el iris, cuerpo ciliar o coroides, casi siempre como una endidura localizada inferiormente. 2. una o más fisuras congénitas del párpado generalmente el superior.

Coriorretinitis.- Inflamación simultánea de la coroides y la retina.

Corti, órgano espiral.- Porción sensitiva del conducto coclear; órgano terminal de la audición.

Corticosteroide.- Cualquier esteroide que tiene ciertas propiedades químicas y biológicas características de las hormonas secretadas por la corteza suprarrenal.

Cristaluria.- Presencia de cristales en la orina. Generalmente se considera normal.

Displasia.- 1. Desarrollo o crecimiento anormal especialmente con respecto a las células. 2. Grado o variedad en la que un individuo presenta diferentes componentes (somatotipos) en diferentes regiones del cuerpo, y que se expresan cuantitativamente considerando al cuerpo como formado por número específico de regiones y somatotipificando a cada una de ellas; pueden clasificarse en endomórficos, mesomórficos y ectomórficos.

Ectoplasma.- Capa exterior del citoplasma, más compacta e hialina, especialmente de los organismos unicelulares.

Edema.- Acumulación excesiva de líquido de los espacios tisulares debido a un aumento de la

transudación de líquido a partir de los capilares sanguíneos.

Encefalitis.- Inflamación del cerebro.

Encefalomicelitis.- Inflamación del cerebro y médula espinal.

Encefalomicelitis Aguda Diseminada.- Trastorno desmielinizante del cerebro y de la médula espinal con sintomatología neurológica muy difusa y variable. Puede presentarse después de una infección o vacunación y suele representar una respuesta alérgica inmune del sistema nervioso.

Encefalomicelitis Granulomatosa.- Enfermedad atribuida a microsporidios del género *Encephalitozoon*, caracterizada por necrosis y granulomas de las paredes de los ventrículos cerebrales.

Ependimitis.- Inflamación del epéndimo.

Epéndimo.- Células epiteliales que tapizan todas las cavidades del cerebro y de la médula espinal.

Epigastralgias.- Dolor en la región epigástrica.

Epigástrico.- Relativo o perteneciente al epigastrio.

Epigastrio.- La región epigástrica.

Epidemia.- Enfermedad accidental transitoria, generalmente infecciosa, que ataca al mismo tiempo y en el mismo país o región a gran número de personas.

Epizootia.- 1. Enfermedad que ataca a gran número de animales de un solo tipo, en cualquier región; enfermedad ampliamente difundida y de rápida diseminación. 2. Brote extenso de una enfermedad epizootica; enfermedad de los animales que prevalece en áreas contiguas.

Equimosis.- 1. Extravasación de sangre en los tejidos subcutáneo y cambio de color en la piel. 2. Extravasación de sangre dentro de los tejidos blandos. 3. Heridas que producen hemorragia capilar por

debajo de una piel intacta. 4. Contusión. 5. Raspón.

Eritema.- Enrojecimiento de la piel que se presenta en forma de placas de diferentes tamaños y formas. Puede tener gran variedad de causas: calor, ciertos medicamentos, rayos ultravioleta y radiaciones ionizantes.

Eritroblasto.- Precursor nucleado del eritrocito que conserva basofilia citoplásmica. De acuerdo con sus características nucleares y su tamaño puede dividirse en formas tempranas y tardías.

Esplenohepatomegalia.- Aumento del volumen del hígado y bazo.

Esplenomalacia.- Ablandamiento de los tejidos del bazo.

Esplenomegalia.- Aumento del volumen del bazo.

Espleniometomalacia.- Reblandecimiento del bazo y médula ósea.

Esporoblasto.- Célula madre; espora formada por la unión de dos gametos en ciertos protozoos. Cigotómero, cuerpo formado dentro del oocisto del parásito palúdico en el mosquito, del que se desarrolla al esporozoíto (producto final de la esporogonia en los esporozoos. En el paludismo, una de las fases de desarrollo del parásito, en la que éste pasa del mosquito al hombre en forma de cuerpos falciformes. Gametoblasto).

Esporocisto.- Saco o vesícula que contiene esporas o células reproductoras; oocisto. Envoltura que se forma alrededor de un esporoblasto cuando éste se desarrolla en espora.

Esporozoíto.- Organismo resultante de la multiplicación sexual de esporozoa.

Esquizogénesis.- Reproducción por fisión.

Esquizogonia.- 1. Esquizogénesis. 2. División múltiple, en la que el contenido del oocisto se divide en muchas esporas.

Esquizonte.- Estado en el ciclo de vida sexual de Plasmodium, que comprende desde el inicio de la división del material nuclear hasta la formación de los merozoítos maduros.

Esteróide.- Término genérico para cualquiera de los compuestos que tienen el sistema del anillo ciclopentanoperhidrofenantreno de los esteroides, pero sin incluir a éstos últimos. Sin embargo en el uso común también se incluyen los esteroides. Sustancia de importancia fisiológica, constituida por 4 anillos unidos de manera característica: 2 anillos de 6 miembros de carbono abajo y 2 anillos, uno de 6 y otro de 5 miembros de carbono arriba.

Estrabismo.- Anormalidad de los ojos en el cual los ejes visuales no se centran en el punto objetivo deseado; es una consecuencia de la acción incoordinada de los músculos extrínsecos del ojo.

Flavoproteínas.- Proteínas conjugadas que tiene como grupo prostético derivados de la isoxalocina que les confiere color amarillo.

Galactosidasa.- Enzima que cataliza el rompimiento de los galactósidos (glucósido que por hidrólisis da galactosa). Se conocen dos variedades, α y β , que actúan sobre las formas α y β , respectivamente, de los galactósidos.

Gameto.- Célula reproductora masculina o femenina capaz de unirse con otra en el proceso de fertilización o la conjugación. En los animales superiores éstas células sexuales son huevos y espermatozoides; en las plantas superiores los gametos masculinos es parte del grano de polen, mientras que el huevo está contenido en el óvulo. En las formas inferiores los gametos frecuentemente son similares en apariencia.

Gametocito.- Célula madre de la cual deriva un gameto [(célula sexual; ♂ o ♀). Elemento celular que se une con otro para formar el cigoto; macrogameto ♀ y microgameto ♂].

Gastralgia.- Dolor en el estómago.

Hemiparesia.- Debilidad muscular en un lado del cuerpo.

Hexocinasa.- Enzima que cataliza la transferencia del fosfato del trifosfato de adenosina a la glucosa o a la fructosa formando glucosa-6-fosfato o fructosa-6-fosfato y difosfato de adenosina.

Hialuronidasa.- Enzima polisacarasa, existe en espermatozoides, venenos de animales, y bacterias como *Streptococcus*, *Clostridium welchii* que desintegra al ácido hialurónico en las barreras polisacáridas protectoras y permite la invasión rápida y difusa por el agente patógeno. La que existe en el espermatozoide al destruir el ácido hialurónico de la masa que envuelve al óvulo facilita la penetración del espermatozoide.

Hidrocefalia.- Entidad anormal producida por un aumento en el volumen del líquido cefalorraquídeo del cráneo, por lo general indica distensiones acentuadas del sistema ventricular por el líquido cefalorraquídeo que no puede salir al espacio subaracnoideo, que está bloqueado en las vías subaracnoideas o que no puede ser absorbido al sistema venoso.

Hidrogenasa.- Enzima del grupo de las dehidrasas, cataliza la reducción del sustrato del hidrógeno molecular.

Hidrogenasa Fumárica.- Enzima que cataliza la reducción del ácido fumárico en ácido succínico.

Hiperfenilalaninemia.- Presencia de niveles sanguíneos anormalmente altos de fenilalanina, la cual puede o no coexistir con niveles elevados de tirosina; se observa en los prematuros y en los recién nacidos a término y coincide con el estado heterocigoto de la fenilcetonuria, de la fenilcetonuria materna o de la deficiencia transitoria de la fenilalanina hidroxilasa o oxidasa del ácido p-hidroxifenilpirúvico.

Hiperkinesia.- Movimiento excesivo, el que coincide con el espasmo muscular.

Hiperostosis.- Hipertrofia del tejido óseo.

Hiperplasia.- Formación excesiva de tejido; aumento en el tamaño de un tejido u órgano debido a un aumento en el número de células.

Hiperplasia linfocitaria.- Multiplicación anormal de los elementos de los tejidos; hipertrofia numérica.

Hipertrofia.- Aumento del tamaño de un órgano independientemente del crecimiento natural, debido a un aumento en el volumen de sus células constituyentes por lo general connota el aumento coexistente de la capacidad funcional.

Hipertrofia Frontal interna.- Entidad idiopática que aparece casi exclusivamente en las mujeres, en quienes se forma hueso nuevo en un patrón simétrico en la cara interna del hueso frontal; por lo general no tiene significado clínico pero históricamente se encuentra asociada en el síndrome de Steward-Morel-Morgan.

Hodgkin, enfermedad de.- Linfoma maligno constituido por células reticuloendoteliales anaplásicas y cantidades variables de células de estroma incluyendo fibrocitos, linfocitos y eosinófilos, con o sin focos de necrosis

Ictericia.- Coloración amarillenta de la piel, mucosas y secreciones debido a la presencia de pigmentos biliares en sangre.

Inclusión citomegálica, enfermedad.- Infección con citomegalovirus en hombres, monos y otros animales que se caracteriza por un crecimiento sorprendente de células epiteliales de las glándulas salivales y de otros órganos y por cuerpos prominentes de inclusión intranucleares. En el período neonatal coincide con hepatitis, microcefalia, hepatoesplenomegalia, púrpura trombocitopénica, ictericia y con subsecuente retraso mental. en el período posnatal puede ser asintomática o coincidir con neumonitis y hepatitis.

Letargo.- Sueño morbosos profundo y continuado con anestesia y exaltación de los reflejos. Muerte aparente.

Leucopenia.- Disminución del número de leucocitos en sangre por debajo de 5,000; hipoleucocitosis; puede ser Basófila o maligna.

Linfadenitis.- Inflamación de los ganglios linfáticos.

Linfadenopatía.- 1. Aumento de tamaño de los ganglios linfáticos. 2. Enfermedad de los ganglios linfáticos.

Linfogranuloma.- Enfermedad de hodgkin.

Linfoma.- Tumor maligno formado de tejido linfoide o adenoide con tendencias a la generalización.

Mácula.- 1. Pequeña mancha circunscrita de la piel; en especial aquella que no está perceptiblemente elevada sobre la piel circunscrita. 2. Mácula lutea de la retina. 3. Cicatriz u opacidad circunscrita de la córnea.

Maculopápula.- Pequeña elevación circunscrita con cambio de color de la piel (maculopapular).

Megaloblasto.- Gran eritroblasto con característico patrón nuclear; se forma en la médula ósea en caso de deficiencia de vitamina B₁₂ o ácido fólico.

Meninges.- Las tres membranas que envuelven el encéfalo y médula espinal. Duramadre:fibrosa; Piamadre:vascular; Aracnoidea:Serosa.

Meningitis.- Inflamación de las membranas del cerebro y de la médula espinal. Las meningitis se pueden clasificar de acuerdo a su agente causal, como tuberculosa, meningocócica, etc.

Meningoencefalitis.- Inflamación simultánea, aguda o crónica del encéfalo y las meninges.

Merozoíto.- Segmentos resultantes de la división del esquizonte en la forma asexual de reproducción los protozoos.

Microgameto.- Células reproductoras masculinas en ciertos protozoos, correspondiente al espermatozoide en metazoa.

Mialgia.- Dolor en los músculos.

Miasis.- Afección de un área o cavidad del cuerpo por larvas de moscas.

Miastenia.- Debilidad muscular por cualquier causa.

Myastenia Grave.- Trastorno caracterizado por debilidad y fácil fatigabilidad de los músculos esqueléticos voluntarios, en especial de los músculos inervados por los núcleos bulbares, que afecta dos veces más a las mujeres que a los hombres y que se acompaña con frecuencia, de hipertiroidismo o, en el grupo de mayor edad, con carcinoma; puede haber hiperplasia del timo en una elevada proporción de casos o tumor en éste mismo. Se desconoce su etiología, aunque los mecanismos más factibles son un defecto en la cantidad de producción o liberación de acetilcolina o una excesiva concentración de colinesterasa en la placa neuromuscular. Datos recientes sugieren una base inmunitaria para la enfermedad.

Microcefalia.- Trastorno caracterizado por una cabeza pequeña cuya circunferencia es menor que dos desviaciones estándar por debajo de la media para la edad y el sexo; puede deberse a hipoplasia congénita del cerebro, o ser consecuencia de una grave lesión cerebral en los primeros meses de la vida; suele coincidir con retardo mental, pero puede verse en enanos hipofisarios de inteligencia normal.

Microcéfalo.- Individuo con una cabeza sumamente pequeña.

Micropoliadenitis.- Pequeña adenopatía generalizada.

Miocarditis.- Inflamación del miocardio.

Miosis.- 1. Costricción de la pupila ocular, específicamente contracción anormal de la pupila más allá de 2 mm

Miositis.- Inflamación aguda en un músculo, por lo general de tipo voluntario.

Mononucleosis.- Alteración de la sangre, o de los tejidos, en el cual hay un incremento en el número de monocitos.

Mononucleosis Infecciosa.- Trastorno por lo general benigno, de probable etiología infecciosa, que se asocia con el virus de Epstein-Bar; se caracteriza por la presencia de fiebre irregular, faringitis, linfadenopatía, esplenomegalia, linfocitosis con linfocitos anormales y una concentración sérica anormalmente alta de un tipo específico de anticuerpos heterófilos contra los eritrocitos bovinos.

Nefrolitiasis.- Formación de cálculos renales, o a la entidad patológica caracterizada por su presencia.

Neumonía.-Inflamación de los pulmones coexistente con presencia de exudado en la luz alveolar.

Neumonía Intersticial.- Inflamación del estroma de los pulmones, que incluye a los tejidos peribronquiales y a los tabiques interalveolares; frecuentemente es de origen viral o rikettsiosico.

Neuralgia.- Dolor paroxístico intenso y agudo, a lo largo del trayecto de un nervio; no se acompaña de cambios estructurales demostrables en el nervio. El dolor por lo general, es breve; con frecuencia hay hipersensibilidad en los puntos donde emergen los nervios, y el paroxísimo puede ser producido por contacto con áreas específicas. Las diversas formas de neuralgias se denominan de acuerdo con su situación anatómica.

Neutropenia.- Deficiencia anormal de células neutrófilas de sangre.

Nistagmo.- Movimiento de oscilación de los globos oculares puede ser congénito, adquirido, fisiológico o patológico, y ser de naturaleza neurógena, miopática, laberíntica u ocular.

Oftalmía.- Inflamación del ojo, especialmente cuando está afectada la conjuntiva.

Oocistos.- Cigotos enquistados en el ciclo evolutivo de algunos esporozoos.

Orofaringeo.- Relativo a la unión de boca y farínge.

Osmosis.- Difusión de líquidos de diferentes concentraciones através de una membrana o tabique semipermeable que las separa, de una zona de menor concentración a otra de mayor concentración.

Oxidasa.- Enzima que cataliza la transferencia de electrones, o pares de átomos de hidrógeno del sustrato, exclusivamente al oxígeno por intermedio de la correspondiente coenzima o grupo prostético; promueve una reacción de oxidación.

Paresia.- Pérdida incompleta del poder muscular; debilidad de un miembro.

Parestesia.- Sensación de hormigueo o de quemadura de la piel, común en las neuropatías.

Pirimidina.- Es la 1,3 diacina, sustancia heterocíclica que contiene 4 átomos de C y 2 de N en el anillo; los átomos de N están separados por un átomo de C. A este grupo pertenecen el ácido barbitúrico y sus derivados, los productos de la hidrólisis del ácido nucleico (timina, citosina, uracilo), y muchos otros compuestos de importancia fisiológica y terapéutica. F.M $C_4H_4N_2$.

Pleocitosis.- Aumento del número de las células del líquido cefalorraquídeo.

Plexos.- Red de nervios entrelazados o de vasos sanguíneos o linfáticos amastomosados.

Plexos Coroideos.- Cordones vasculares que la piamadre forma al introducirse en los ventrículos laterales del cerebro y que se continúan con la tela coroidea. Red o entrecruzamiento de venas o nervios.

Purina.- Compuesto heterocíclico $C_5H_4N_4$, en el cual el anillo pirimídico se encuentra fusionado con un anillo de imidazolina. Diferentes derivados de la purina, genericamente llamados purinas de las que se distinguen tres grupos: Oxipurinas (hipoxantina, xantina y ácido úrico). Aminopurinas (adenina y guanina). Metilpurinas (caféina, tofilina, teobromina). Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza.

Púrpura.- Estado en el que aparecen hemorragias en la piel, en la mucosas, en las serosas y en otros epitelios. Las lesiones características de la piel son petequias, equimosis y vírices.

Púrpura hemorrágica.- Afección caracterizada por la formación de manchas rojas de la piel constituidas por pequeñas extravasaciones sanguíneas subcutáneas; síntomas de enfermedades diversas.

Púrpura trombocitopénica.- Púrpura caracterizada por disminución del número de plaquetas por unidad de volumen de sangre.

Reductasa.- Enzima que ejerce acción reductora, de acción contraria a las oxidasas; deshidrogenasas.

Retinocoroiditis.- Inflamación de la retina y la coroides.

Retinopatía.- Cualquier estado patológico de la retina.

Sinequia.- Unión anormal de varias partes; en especial la adherencia del iris a una porción vecina del ojo.

Sistema Retículo Endotelial.- Sistema de macrófagos que comprende todas las células fagocíticas del cuerpo, excepto los leucocitos granulocíticos. Estas células morfológicamente diversas tienen la capacidad para el almacenamiento selectivo de ciertos colorantes coloidales. Incluyen los histiocitos y los macrófagos del tejido conjuntivo laxo, las células reticulares de los tejidos linfático y mieloide, la microglia, los monocitos sanguíneos, las células literales similares a las endoteliales que recubren los senos linfáticos y los sinusoides de la médula ósea, las células que recubren los sinusoides de los suprarrenales y la hipófisis, los macrófagos de los alveolos pulmonares (células de polvo), y las células de microglia del SNC. 2. Término de Aschoff para un conjunto de elementos celulares de origen mesenquimatoso difundidos por todo el organismo, principalmente en el hígado (células de Kauffer), bazo, linfáticos, médula ósea (clasmotocitos), con caracteres reticulares y endoteliales al que se atribuyen funciones hemapoéticas, fagocitarias, de metabolismo e inmunidad y otras.

Taquicardia.- Aceleración de los latidos cardiacos.

Taquipnea.- Respiración acelerada superficial.

Teratogenia.- Formación o producción de monstruos.

Teratogénica.- Relativo a las condiciones de desarrollo de las monstruosidades.

Teratogéno.- Que se origina en las células pluripotenciales, como las que produce un feto bajo condiciones normales.

Trofoblasto.- Capa celular extraembrionaria epiblastica, que fija el embrión a la pared uterina y lo nutre.

Ubicuidad.- Facultad de estar presente en varios sitios a la vez.

Uvea.- Cara posterior pigmentada del ojo (iris).

Uveítis.- Inflamación de la úvea.

Vasculitis.- Inflamación de un vaso o vasos.

Vértigo.- Sensación de que el mundo exterior gira alrededor del paciente, o que el propio paciente se mueve en el espacio. Se emplea erróneamente como sinónimo de mareo, para indicar la sensación desagradable de trastorno de las relaciones con los objetos circundantes.

Yuxtapapilar.- Situado cerca del disco óptico.