

# Investigaciones sobre Toxoplasmosis\*

HORACIO MAYER

*Mediante inoculación a ratones blancos de líquido extraído de 20 cerebros de cuervos, se consiguió aislar 10 cepas de T. gondii. Y de la retina de 304 bovinos sacrificados, se obtuvieron 74 cepas (24,34%). Se demuestra experimentalmente que el agente se elimina por la leche, y que, en cucarachas Periplaneta americana, el T. gondii puede sobrevivir no menos de 65 días.*

No se conocen aún todos los mecanismos de transmisión de la toxoplasmosis tanto humana como animal, ni tampoco las fuentes de infección de esta protozoosis.

La elevada prevalencia de esta infección en los países donde se la ha investigado y la gran ubicuidad de su agente en distintos huéspedes, ha hecho pensar en una posible relación de la infección humana con la animal, y en que ciertos invertebrados representen el rol de reservorios o de vectores de dicho agente.

Es larga ya la lista de aves tanto domésticas como silvestres que se han hallado naturalmente infectadas por *Toxoplasma gondii*, Nicolle y Manceaux, 1909.

Esa lista, que se puede consultar en la recopilación de Coutelen y colaboradores (1) y que se puso al día en 1961 con las referencias de Simitch, nos indujo a investigar, en aves falconiformes de la Argentina, la prevalencia de infección natural crónica, pensando que quizá algunas especies, por su género de alimentación, podrían ser reservorios de *T. gondii*.

Hasta la fecha, en Argentina, sólo se ha hallado infección toxoplásmica entre aves

domésticas: Rosenbuch (2), en canarios; Boehringer y colaboradores (3), en patos caseros, y Mayer (4), en gallinas.

También, desde que en 1913 Nicolle y Conor sugirieron la posibilidad de que la toxoplasmosis fuera transmitida por artrópodos, se han hecho numerosas tentativas tendientes a corroborarla.

Jacobs (5) publicó una larga lista de especies de los órdenes *Acarina*, *Suctorina*, *Diptera*, *Anoplura*, *Hemiptera* y *Coleoptera*, que han sido estudiadas por diversos investigadores. En ella se destaca que en 1951 Weyer logró una supervivencia de 13 días del parásito en el huésped *Pediculus humanus*.

En fecha posterior, Woke y colaboradores (6), mediante numerosos experimentos con 17 especies de artrópodos picadores, consiguieron resultados que parecen confirmar la transmisión por *Dermacentor variabilis*, *D. andersoni*, *Amblyomma americanus* y *Pediculus humanus*.

También Laarman (7) hizo ensayos de transmisión por picadura de *Stomoxys calcitrans*, y obtuvo una probabilidad de transmisión mecánica hasta 24 horas después del hematofagismo en fuentes infectantes.

Más adelante Nussenzweig y Deane (8) obtuvieron una supervivencia de 20 días del protozoario en *Rhodnius prolixus*.

\* Manuscrito recibido en febrero de 1964.

Director Interino del Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Chaco, Argentina, y Profesor Titular de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

De las tentativas de transmisión por artrópodos no picadores, cabe decir que Varela y Zabala (9) realizaron experimentos con *Musca domestica*, a las que habían facilitado alimento contaminado con toxoplasmas; inyectando a ratones blancos el triturado de los insectos así alimentados, sólo obtuvieron resultados positivos hasta 24 horas después de la indicada ingesta.

Por nuestra parte, hemos pensado que tal vez otros artrópodos podrían prestarse mejor a esta transmisión y en tal sentido hicimos experimentos con una especie del orden *Blattariae*, *Periplaneta americana*, Linneo, 1758, que es la cucaracha doméstica de mayor tamaño que invade las habitaciones.

La posibilidad de la transmisión por la leche procedente de animales infectados también ha sido mencionada, y se ha referido el hallazgo de toxoplasmas en leche de distintas especies animales.

Jacobs (5) dijo que Eichenwald en 1948 los encontró en leche de ratones, y Westphal (1950), en leche de rata. También, Sanger y colaboradores (10) dijeron haberlos descubierto en calostro de vaca; el mismo Sanger y Cole (11), en cerdas, y este mismo autor nos dice que en 1953 Chamberlain y colaboradores encontraron dichos toxoplasmas en leche de perra.

Sin duda, adquiere importancia la cuestión de demostrar, en forma inobjetable, la transmisión por la leche, como así también la fase de la enfermedad y curso más propicio a la infección de los individuos o de los animales que toman la leche.

Por esto, nos propusimos infectar ratas parturientas y con su leche alimentar, complementariamente, a ratones blancos, a fin de ver si es posible producir la infección por este medio.

Como posibles reservorios de *T. gondii*, han despertado especial interés los mamíferos destinados al consumo público, ante la posibilidad de que constituyan fuentes de infección humana, por vía digestiva, si su carne no está lo suficientemente cocida.

Guilhon (12) afirma que la toxoplasmosis bovina fue diagnosticada por primera vez por Hoeusdorf y Holtz (1952), en Alemania; por Sanger y colaboradores (10), en Estados Unidos; por Cole en 1956, en Canadá, y que en fecha posterior se ha notificado en numerosos países.

Por otra parte, Jacobs (13) ha probado la diseminación del parásito en músculos y órganos de cerdos y ovinos inyectando a ratones blancos el producto de músculos diafragmáticos digeridos artificialmente, y así aisló *T. gondii* de 4 cerdos de un total de 50, objeto de investigación, y de un ovino entre 60 examinados. El mismo Jacobs (14) repitió las pruebas en un lote de 18 ovejas positivas al "dye test", y obtuvo el parásito en el 83,3 %, y en otro lote de 16 ovejas, con títulos más bajos, obtuvo el 50 % de positivos.

Entre las localizaciones más frecuentes de las formas latentes del parásito, tanto del hombre como de los animales, están el cerebro y la retina, dado el neurotropismo del agente causal.

Jacobs (15) menciona el aislamiento del parásito de un ojo humano enucleado por Jacobs, Fair y Bickerton (1954), y del fluido subretinal, por Habegger (1954).

Francois (16) señala que Hogan en 1958 también consiguió aislar toxoplasmas de retina humana de un enfermo que padecía de coriorretinitis congénita desde hacía veinte años.

Por lo que se refiere a animales, Varela y colaboradores (1959), en México, al examinar 817 ojos de cerdos sacrificados para el abasto, mediante frotis de las lesiones en la coroides, identificaron *T. gondii* en 87.

Después de haber comprobado Mayer (1963) que el 50 % de cuervos, *Coragyps atratus foetens*, cazados en terrenos adyacentes a un matadero, presentaban infección latente del cerebro, demostrada mediante aislamiento del parásito por pasaje en ratones blancos y teniendo presente las costumbres de estas aves de alimentarse de los despojos de cadáveres, en especial de los

ojos, pensamos que quizá el globo ocular de animales bovinos podría ser una fuente de infección toxoplásmica de dichas aves y que un resultado positivo de infección latente en los bovinos de consumo adquiriría una especial significación sanitaria, económica y social.

### Material y métodos

Los cuervos, *Coragyps atratus foetens*, fueron cazados con arma de fuego alrededor del frigorífico "CAP", de Puerto Vilelas (Chaco); pertenecen a la familia *Cathartidae*, y su distribución geográfica tiene por límite sur el paralelo 40°, o sea, en la Argentina, hasta Río Negro, y en Chile, desde Coquimbo hasta la Isla Chiloé.

A fin de facilitar el aislamiento de alguna cepa, se trabajó al comienzo con cerebros de 12 cuervos; de cada 4 cerebros se hizo una mezcla, que se procedió a triturar por separado en mortero con solución fisiológica y 2.600 unidades de penicilina y 0,032 g. de estreptomycin por ml.; la emulsión de cada mezcla, una vez filtrada por gasa, se inyectó a 2 ratones blancos, a razón de 0,25 ml., por vía intraperitoneal.

Posteriormente, ante las comprobaciones iniciales y para determinar la prevalencia, se utilizaron 20 cuervos, la emulsión de cuyos cerebros se inoculó en la misma forma, si bien a razón de un ratón blanco por cada cerebro.

Para los ensayos de transmisión por ingestión de leche procedente de animales infectados experimentalmente, se utilizaron una perra, una gata y una cabra, a las que, 48 horas después del parto, se les inoculó por vía endovenosa 1 ml. de una suspensión de toxoplasmas, el equivalente a 2 ó 3 millones de parásitos, obtenida del líquido ascítico de ratón blanco inoculado con la cepa "S", procedente de Santiago de Chile, y que conservamos en el laboratorio; a la gata, por excepción, se le inoculó la suspensión por vía intraperitoneal.

La leche obtenida en distintos períodos y

en algunos en partos subsiguientes, se ordeñó a mano y se administró a diario, como complemento de alimentación, a lotes de ratones blancos de 45 a 50 días de edad.

Las pruebas referentes a la supervivencia de *Toxoplasma gondii* en la cucaracha, *Periplaneta americana*, se hicieron con las cucarachas capturadas vivas en distintos domicilios y depósitos de comestibles, manteniéndolas en recipientes de vidrio o en cajas de Petri acondicionadas con trozos de papel, como es práctica en entomología.

Después de 24 horas de cautividad, se administró manualmente a cada cucaracha, por vía bucal, mediante jeringa y aguja, una pequeña gota del líquido ascítico de ratones blancos infectados experimentalmente de toxoplasmosis, con la misma cepa de los ensayos anteriores.

Las cucarachas se conservaron en las mismas condiciones, se mantuvieron a la temperatura variable del laboratorio, que osciló de 15° a 35°C., y se alimentaron con pequeñas porciones de pan humedecido.

A partir de las 24 horas de la ingestión del líquido toxoplásmico por el insecto, se iniciaron los ensayos para comprobar el grado de supervivencia de los toxoplasmas en las cucarachas.

Para tales efectos, después de extraerle las alas y las patas, las cucarachas se trituraron en morteros por grupos de tres, y se les añadieron 2 ml. de solución fisiológica, una dosis de 2.600 unidades de penicilina y 0,032 g. de estreptomycin, a fin de evitar las infecciones secundarias.

Del líquido del filtrado por gasa, recogimos 0,5 ml. que se inocularon por vía intraperitoneal a razón de un ratón blanco de 35 a 50 días de edad, para cada prueba.

Las tentativas de aislamientos de *T. gondii* de retina de bovinos, mediante pasajes en ratones blancos, se hicieron utilizando ojos de animales destinados al abasto público, en distintos mataderos del país.

En todos los casos se extrajo, por enucleación, un globo ocular de cada res, los que se

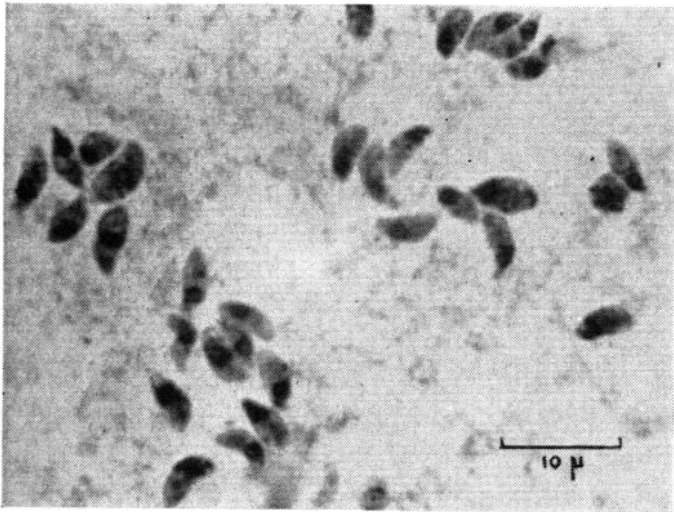
CUADRO 1— Resultado de las pruebas con material aislado de 12 cerebros de cuervo.\*

Prueba	Ratones inoculados	Muerte (días)	Resultado <sup>1</sup> ( <i>T. gondii</i> )
Primera.....	2	8	positivo
Segunda.....	2	—	negativo
Tercera.....	1	24	positivo
	1	25	

\* En cada una de las tres pruebas se utilizó mezcla de 4 cerebros.

<sup>1</sup> Entre otros, se examinó el líquido peritoneal y el frotis de hígado de los ratones.

FIGURA 1 — Toxoplasmas en líquido ascítico de ratón blanco en el primer pasaje, partiendo de una emulsión de cerebro de cuervo.



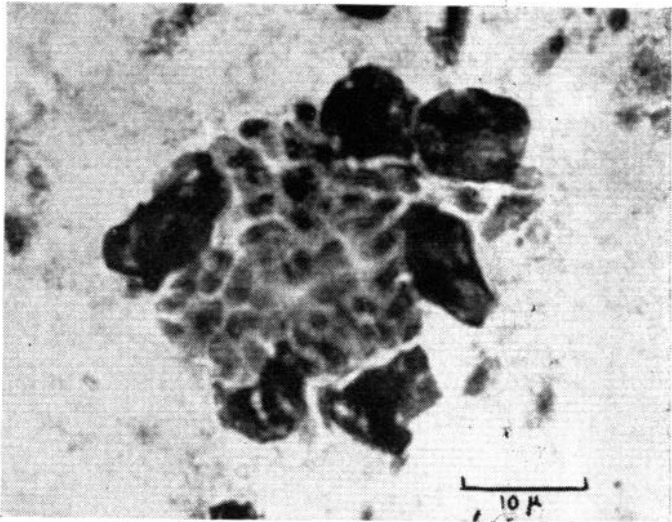
conservaron en cámara frigorífica, en algunos casos con hielo, para asegurar las condiciones del transporte por vía terrestre o aérea, según las distancias de donde procedían.

De cada ojo por separado se extrajo la retina, en especial de las proximidades de la mácula lútea, por ser ésta la región más sensible del complejo celular nervioso y neuróglíco que integra las capas retineanas, y dado el neurotropismo del parásito investigado.

Se trituró la retina en un mortero con 2 ml. de solución fisiológica, a la que se añadieron 2.600 unidades de penicilina y 0,032 g. de estreptomicina por ml.; del filtrado en gasa se utilizaron 0,5 ml. que fueron inyectados a un ratón blanco de 35 a 50 días de edad para cada prueba.

En el transcurso de estos trabajos hemos

FIGURA 2 — Nido de *Toxoplasma gondii* en frotis por impresión de hígado, en segundo pasaje en ratón blanco.



visto también la necesidad de evaluar la elección de retina como material para las pruebas, y para tal fin hicimos inoculaciones simultáneas a dos ratones blancos, uno con 3 g. aproximadamente de corteza cerebral, preparado e inyectado en la misma forma, y el otro, con retina del mismo animal.

A fin de descartar la posibilidad, muy remota, de una infección latente de los ratones utilizados, realizamos controles mediante pasajes en serie con ejemplares de las distintas partidas empleadas en los experimentos.

Resultados

- 1. Aislamientos de *T. gondii* de cuervos, *Coragyps atratus foetens*.

Con este experimento inicial (Cuadro 1), se consiguieron, en el primer pasaje por ratones blancos, 2 cepas de *Toxoplasma gondii* (1a. y 3a.).

Con la cepa obtenida en la primera prueba, se hizo un segundo pasaje por vía intra-peritoneal a 2 ratones blancos, y ambos murieron a los 10 días; un tercer pasaje los mató en 3 días. Sucesivos pasajes matan al ratón en 3 ó 4 días, según la edad de éste, lo que evidencia que es una cepa muy patógena, con abundantes toxoplasmas en líquido peritoneal (Figura 1), en frotis por impresión

CUADRO 2—Transmisión de *T. gondii* por ingestión de leche de perra con infección experimental.\*

Prueba	Ratones alimentados	Días entre la inoculación y el comienzo de la prueba	Total de leche administrada (ml.)	Positivos			Negativos
				1 <sup>er</sup> pasaje	2 <sup>o</sup> pasaje	3 <sup>er</sup> pasaje	
Primera	6	1	12	1	3	2	—
Segunda	6	7	12	2	4	—	—
Tercera	6	12	12	—	2	2	2

\* El primer pasaje fue por vía digestiva, el segundo y tercero, de ratón a ratón.

CUADRO 3—Transmisión de *T. gondii* por ingestión de leche de gata con infección experimental.

Prueba	Parto	Ratones alimentados	Días entre la inoculación y el comienzo de las pruebas	Total de leche administrada (ml.)	Positivos			Negativos
					1 <sup>er</sup> pasaje	2 <sup>o</sup> pasaje	3 <sup>er</sup> pasaje	
Primera	1 <sup>o</sup>	4	1	10	4	—	—	—
Segunda	2 <sup>o</sup>	4	153	10	2	2	—	—
Tercera	3 <sup>o</sup>	4	270	10	—	—	—	4

de hígado (Figura 2) y otros órganos, excepto el cerebro.

El mayor período de supervivencia que se observó en los ratones inoculados en la tercera prueba, 24–25 días, con respecto a los de la primera prueba, 8 días, puede estar vinculado con el número de parásitos inoculados, pues, como sostienen Eyles y colaboradores (17), la supervivencia en días está en relación inversa con el número de toxoplasmas inyectados.

De los 20 ratones inoculados con aislamiento de 20 cerebros (en pasaje individual), la mitad (50 %) murieron como sigue: 3 a los 7 días, 3 a los 8, 1 a los 9, 1 a los 10, y 2 a los 11 días. Estos resultados muestran que, en un primer pasaje en ratones blancos, el 50 % de los cuervos investigados tenían una infección cerebral crónica de toxoplasmosis.

Las cepas así obtenidas son también muy patógenas para el ratón, pues lo mata en sucesivos pasajes, en 3 ó 4 días.

## 2. Toxoplasmosis por ingestión de leche de animales infectados experimentalmente.

Con la leche de una perra de 2 años y 8 Kg. de peso, infectada 48 horas después del

parto, se hicieron 3 pruebas de transmisión de la toxoplasmosis por la leche, por vía digestiva, utilizando 6 ratones blancos en cada una. La primera prueba se inició 24 horas después de la inoculación experimental, y se prosiguió durante 5 días; la segunda se inició a los 7, y la tercera, a los 12 días (Cuadro 2).

No obstante la pequeña cantidad de leche que pudo haber ingerido cada ratón en los cinco días (2 ml.), se obtuvieron resultados positivos en la totalidad de los ratones de la primera y segunda prueba; en la iniciada 12 días después, sólo dos resultaron negativos.

Con la leche de una gata de 4 años, inoculada 48 horas después del primer parto, se complementó la alimentación, desde el día siguiente y durante 5 días consecutivos, de 4 ratones blancos de 40 días de edad. La misma gata, a los 153 días de la infección experimental, tuvo un segundo parto, y se repitió la prueba en idénticas condiciones. En la misma forma se procede en el tercer parto, ocurrido 270 días después (Cuadro 3).

Estas pruebas nos muestran que, al igual que en la perra, los toxoplasmas infectantes se eliminan por la leche de gata, y que, aún 5 meses después, con motivo del segundo parto, subsiste o se estimula dicha elimina-

CUADRO 4—Transmisión de *T. gondii* por ingestión de leche de cabra con infección experimental.

Prueba	Ratones alimentados	Días entre la inoculación y el comienzo de la prueba	Total de leche administrada (ml.)	Positivos			Negativos
				1 <sup>er</sup> pasaje	2 <sup>o</sup> pasaje	3 <sup>er</sup> pasaje	
Primera.....	7	2	3	3	4	—	—
Segunda.....	4	20	3	1	3	—	—
Tercera.....	5	38	3	1	4	—	—

CUADRO 5—Resultados de pasajes por ratones blancos inoculados con triturado de cucarachas alimentadas con líquido ascítico toxoplásmico.

Días transcurridos desde la alimentación de las cucarachas	No. de ratones inoculados	Muerte de positivos (días)
1	1	10
2	1	11
3	1	13
6	1	5
7	1	7
8	1	9
9	1	8
10	1	9
11	1	10
12	1	6
13	1	7
14	1	6
16	1	6
17	1	8
18	1	7
19	1	11
21	1	9
24	1	4
28	1	8
33	1	8
38	1	8
44	1	9
49	1	9
54	1	11
65	1	10
69	1	Negativo hasta en 2 <sup>o</sup> pasaje

ción. Recién en el tercer parto, 270 días después de la infección experimental, los ratones blancos no contraen el estado de enfermedad toxoplásmica.

Los resultados confirman igualmente que el estado de infección o enfermedad aguda sería el momento más propicio, debido a una mayor parasitemia, de que la secreción

láctea se constituya en un vehículo difusor de la toxoplasmosis.

Una cabra de 4 años, inoculada 48 horas después del parto, presentó una toxoplasmosis aguda que se tradujo en fiebre, gastroenteritis, metritis, inapetencia y agalactia.

No obstante, se inició el ordeño 48 horas después y con la escasa leche obtenida, en total 3 ml. en 5 días, se administró a 7 ratones blancos; 20 días después, se procedió en igual forma con 4 ratones, y 38 días después de la inoculación, con 5 ratones (Cuadro 4).

Sin excepción, durante el período de lactancia, muy escasa por el estado de enfermedad, la totalidad de los ratones blancos utilizados en las tres pruebas, murieron de toxoplasmosis, confirmada por aislamiento del parásito.

Estas pruebas se repitieron 6 meses después, con motivo de un segundo parto, alimentando con la leche 4 ratones blancos, durante 5 días; dichas pruebas resultaron negativas en su totalidad, lo que no excluye la posibilidad de que, en futuras gestaciones, por ruptura de quistes, hubiere reinfecciones endógenas provocadas por nuevas parasitemias.

### 3. Supervivencia de *T. gondii* en la cucaracha, *Periplaneta americana*, Linneo, 1758

A continuación especificamos los resultados obtenidos mediante un primer pasaje por ratones blancos, uno para cada prueba, con la inoculación por vía intraperitoneal de 0,5 ml. del líquido resultante de triturar 3 cucarachas *Periplaneta americana* por vez, e infectadas experimentalmente (Cuadro 5).

Es de notar que, con la adición de penicilina y estreptomycin al líquido del triturado, las inoculaciones por vía intraperitoneal resultaron inocuas respecto de infecciones secundarias que se pueden producir, dado el material utilizado.

Transcurrido los primeros 14 días, se hicieron las inoculaciones observando cierta alternancia, a fin de economizar ratones blancos.

El negativo correspondiente a 69 días fue considerado como tal después de un segundo pasaje, de ratón a ratón.

En todos los casos positivos, estos animales de laboratorio presentaron una toxoplasmosis aguda, sintomática y mortal, y se individualizó entonces el *Toxoplasma gondii* por sus caracteres morfológicos, biológicos y patógenos.

La microscopia de rigor siempre se hizo en fresco con líquido ascítico y frotis de dicho material e impresiones de hígado, coloreados con Giemsa.

Para corroborar la posibilidad de la infección por vía digestiva, se administró a 8 ratones blancos, a razón de 5 gotas a cada uno, líquido obtenido triturando 6 cucarachas en 2 ml. de solución fisiológica (Cuadro 6).

Estas cucarachas, *Periplaneta americana*, habían sido infectadas experimentalmente

CUADRO 6 — Resultados de la ingestión por 8 ratones del triturado de cucarachas infectadas experimentalmente.\*

1º pasaje (vía digestiva)		2º pasaje (inoculación)	
Positivos	Muerte (días)	Positivos	Muerte (días)
+	10		
+	10	+	4
+	10		
		+	4
		+	5
		+	5
		+	5

\* Con estos experimentos se probó que la vía digestiva puede ser una ruta de infección toxoplásmica en caso de que animales susceptibles ingieran cucarachas naturalmente infectadas.

FIGURA 3 — Toxoplasmas penetrando en una célula de la mucosa del esófago de la cucaracha, a los 90 minutos de la ingestión infectante.

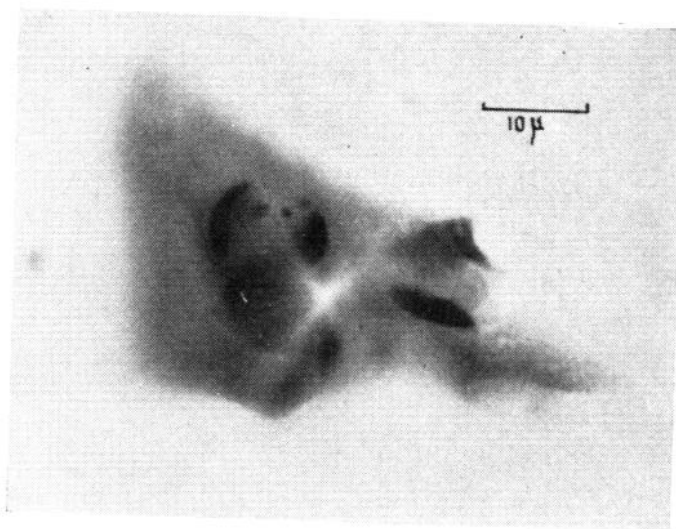
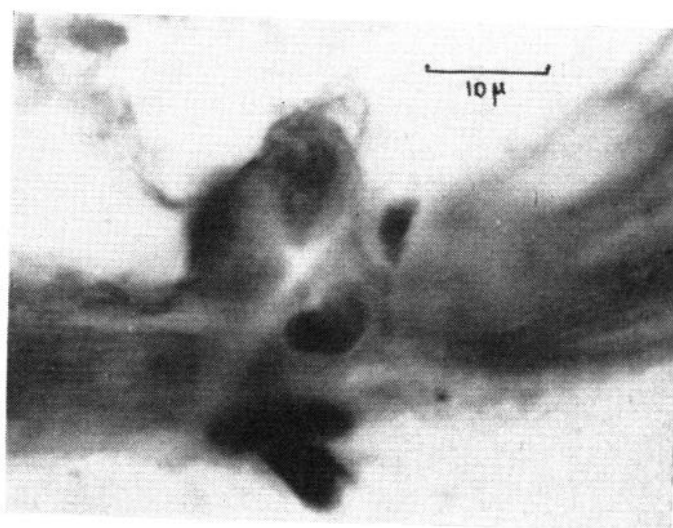


FIGURA 4 — A las 24 horas de la ingestión infectante, se aprecia la invasión de la túnica muscular del esófago de la cucaracha.



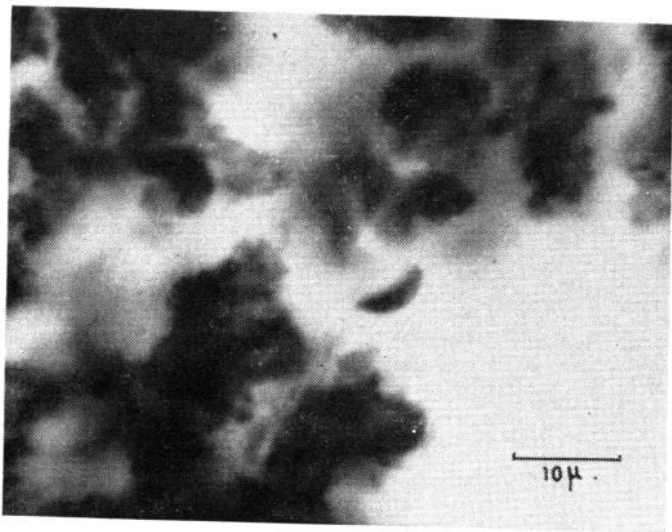
17 días antes por ingestión de una gota de líquido ascítico toxoplásmico de ratón.

Se hizo la disección de cucarachas y se extrajeron el esófago, estómago e intestino en distintas horas y días del estado de infección experimental.

Si bien los cortes histológicos coloreados con hemalumbre-eosina, no han permitido individualizar estados evolutivos del parásito, se ha podido ver cómo, a los 90 minutos de la ingestión del material infectante, los protozoarios penetraban en las células del revestimiento de la mucosa del esófago y del estómago (Figura 3), y a las 24 horas, ya



FIGURA 5 — En un corte histológico de intestino de cucaracha, 30 días después de la ingestión, se observa, en los restos del contenido, una forma libre de *T. gondii*.



habían alcanzado la túnica muscular (Figura 4).

En los cortes histológicos de los órganos digestivos de cucarachas, a los 30 días de infección, no se pudo encontrar toxoplasmas libres en sus tejidos, pero sí se observaron formas muy semejantes a *Toxoplasma gondii* en el contenido intestinal del insecto. (Figura 5).

4. Aislamiento de *Toxoplasma gondii* de retina de bovinos

En un lote de 27 animales bovinos en que había toros, novillos y vacas de 6 a 8 años procedentes de las provincias del Chaco y Formosa, tuvimos ocasión de evaluar la retina como material de elección, y de comparar los resultados con los obtenidos en el mismo animal; como controles se utilizaron ratones inoculados con la emulsión resultante del triturado de 3 g. de masa encefálica extraída de la corteza cerebral. De este lote, 5 resultaron positivos y 16 negativos a ambos materiales, 4 positivos sólo con retina y 2, con cerebro (Cuadro 7).

Estos ensayos nos permiten establecer que la retina y el cerebro ofrecen parecido número de posibilidades de aislamiento del parásito, aunque los resultados son más favorables a la retina, lo que puede explicarse

en razón de la menor superficie que ofrece la retina.

Trabajando con material de animales procedentes de distintas zonas del país, se pudo comprobar que se estaba en presencia de una verdadera enzootia de toxoplasmosis crónica y asintomática. Los resultados revelan un porcentaje de incidencia que oscila del 7,14 al 60, según la procedencia, así como lotes indemnes, y cuyos detalles se exponen en los Cuadros 8, 9, y 10.

En general, de 304 bovinos investigados, 74 (24,34%) fueron positivos: 46 en el

CUADRO 7 — Comparación de los resultados de la inoculación de ratones con soluciones de retina y de masa encefálica de bovinos respectivamente.

Bovinos	Resultados			
	Retina		Cerebro	
	1er pasaje	2º pasaje	1er pasaje	2º pasaje
Toros	—	—	—	—
	—	—	—	—
	—	—	—	—
	—	—	—	—
	—	—	—	—
	—	+	—	+
Novillos	—	—	—	—
	—	+	—	+
	—	+	—	+
	—	—	—	+
	—	+	+	
	—	—	+	
	—	+	—	—
	—	—	—	—
	—	—	—	—
	+	—	—	—
Vacas	—	—	—	—
	+	—	—	—
	—	—	—	—
	—	—	—	—
	—			
	—			
	+		—	—
	+		+	
Total.....	4	5	3	4



CUADRO 8 — Aislamiento de *T. gondii* de retina de bovinos de la provincia del Chaco, Argentina.

Procedencia	Ani- males inves- tigados	Nega- tivos	Positivos		
			1er paseje	2º paseje	%
La Sabana	10	4	2	4	60,00
Gral. Obligado	14	6	5	3	57,14
Cote Lai.	14	13	1	—	7,14
El Palmar	6	6	—	—	—
Gral. San Martín	9	6	3	—	33,33
Col. Castelli	13	13	—	—	—
Total	66	48	11	7	27,27

CUADRO 9 — Aislamientos de *T. gondii* de retina de bovinos de la provincia de Corrientes, Argentina.

Procedencia	No. de ani- males inves- tigados	Nega- tivos	Positivos		
			1er paseje	2º paseje	%
Mburucuyá	32	20	9	3	37,50
Bella Vista	20	16	4	—	20,00
Mercedes	26	21	5	—	19,23
Total	78	57	18	3	26,92

primer paseje (retina a ratón) y 28 en el segundo (de ratón a ratón).

El examen microscópico de retina y coroides, no ha permitido apreciar lesiones. En cortes histológicos de retina, en especial de la mácula lútea, coloreados con hemalumbre y eosina, procedente de reses positivas a la prueba de la inoculación, no se tuvo la suerte de encontrar parásitos.

Conceptuamos que en las formas crónicas inaparentes, el hallazgo de formas quísticas o proliferativas del protozoario, es siempre un hecho casual.

#### Discusión

Hemos partido del supuesto de que, cuando por pasajes en ratones blancos se consigue aislar un protozoario que reúne los caracteres morfológicos, biológicos y patógenos de *T. gondii*, la diagnosis no se

discute, porque se tiene la prueba fundamental.

Giroud y colaboradores (18) y Roger (19) han considerado, con vasta experiencia, que se ha exagerado mucho el riesgo de encontrar cepas patógenas de *T. gondii* en ratones de criaderos, que se mantengan bien separados de los inoculados.

Y al mismo respecto, Jacobs (20) dice textualmente: "Algunos expertos insisten en contar con ratones controles en los ensayos de aislamiento. Sin embargo, esto no parece ser de gran importancia."

Por todo ello adquieren especial significación nuestros experimentos y comprobaciones sobre toxoplasmosis.

Así pues, se notifica el hallazgo de un huésped natural más de *Toxoplasma gondii*, el cuervo *Coragyps atratus foetens*, y se aporta la primera prueba de toxoplasmosis en aves silvestres de la Argentina, infección cuya elevada prevalencia (50 %), implica una

CUADRO 10 — Aislamiento de *T. gondii* de retina de bovinos de las Provincias de Formosa, Misiones, Santiago del Estero, Santa Fé y Buenos Aires, Argentina.

Procedencia	Ani- males inves- tigados	Nega- tivos	Positivos		
			1er paseje	2º paseje	%
Villa Escobar (Formosa) ...	18	12	1	5	33,33
Carupá (Misiones) ...	20	10	10	—	50,00
Mariano Moreno (Santiago del Estero) . . . . .	23	16	2	5	30,43
Los Amores (Santa Fe) ..	18	16	1	1	11,11
Tacuarendí (Santa Fe) . .	10	9	1	—	10,00
Buenos Aires*					
Lote 1 . . . . .	26	26	—	—	—
Lote 2 . . . . .	20	20	—	—	—
Lote 3 . . . . .	25	16	2	7	36,00
Total	160	125	17	18	21,25

\* Los animales de la Provincia de Buenos Aires se han clasificado en tres lotes, pues correspondían a tres remesas de material recibidas en distintas fechas y porque no se pudo establecer el lugar de donde procedían.

marcada receptividad de dicha especie y gran difusión del toxoplasma.

La posibilidad de la transmisión de la toxoplasmosis por ingestión de leche procedente de animales infectados, es motivo de preocupación.

En efecto, Van Thiel y Van der Waaij (21) estiman que la infección por vía bucal sería difícil a partir de toxoplasmas libres, y han conseguido infectar cobayos y ratones por ingestión de tejido pulmonar que sólo contenía pseudo-quistes.

En contra de esta aseveración, nuestros trabajos con ratones blancos, a los que se hizo ingerir leche procedente de animales infectados experimentalmente, prueban que es posible conseguir la infección por vía digestiva con los toxoplasmas libres eliminados por la leche.

Eyles y Coleman (17) establecieron que el número de días de supervivencia de ratones inoculados, es proporcional al logaritmo del número de toxoplasmas inyectados. Esta misma relación se podría establecer con los toxoplasmas ingeridos; estimamos así que el período agudo, con más toxoplasmas, ofrecería más posibilidades de transmitir por la leche, al ratón, una infección toxoplásmica aguda, aparente y mortal.

En cuanto a lo discutido sobre el papel que pueden representar ciertos insectos en relación con la infección humana y animal, resulta muy interesante recordar los resultados obtenidos con la cucaracha *Periplaneta americana*, en cuyo organismo, el *T. gondii* se ha mostrado capaz de sobrevivir no menos de 65 días.

Conociendo el sistema de vida de las cucarachas y que pueden ser comidas por perros, gatos y aves, se comprende que se descubren grandes posibilidades epidemiológicas en el terreno de las toxoplasmosis.

Otra grave preocupación la crea el hallazgo de *T. gondii* en animales destinados al abasto público.

El ganado bovino es la principal especie de consumo de Argentina; y la elevada prevalencia de toxoplasmosis que hemos

encontrado (24,34 %), plantea un serio problema a la vez económico, sanitario y social.

De tales comprobaciones resultó el dato preciso de que la retina es el material más importante para el diagnóstico *postmortem*.

Este hecho es también de importancia si se tiene en cuenta que la supervivencia de toxoplasmas en la retina puede alcanzar muchos años en forma de quiste y que, como demostraron Frenkel en 1951-1954 y Beverley en 1958 (16), ésta no es una localización cerrada, sino que puede ser el punto de partida de reinfecciones endógenas y originar nuevas parasitemias al diseminarse en músculos y otros órganos.

En la toxoplasmosis se reconocen el estado de infección y el estado de enfermedad. El primero es asintomático, como sucedía en los casos aquí estudiados, pero quienes los padecen pueden transformarse en portadores crónicos y facilitar la difusión del agente por medio de sus secreciones o transmitirlo durante la vida intrauterina, causando así abortos o mortinatalidad.

La descripción de Guilhon (12) de la enfermedad toxoplásmica de los bovinos, coincidente con la de Sanger y colaboradores (10), según la cual la mortalidad de los bovinos jóvenes puede alcanzar elevadas proporciones (57 %), pone de relieve la significación económica y sanitaria de dicha enfermedad.

En la Argentina, la toxoplasmosis no ha despertado el interés médico debido.

Sin embargo, hay que destacar los trabajos de Romaña (22), quien, en Buenos Aires, inició en 1960 la investigación de casos clínicos humanos por métodos serológicos, y ha conseguido diagnosticar 106 casos, de un total de 222 individuos, estudiados en colaboración con distintos especialistas, de los cuales 56 eran de oftalmías toxoplásmicas, 15 de encefalitis infantiles, 20 de madres con embarazos patológicos, y 15 de infecciones indefinidas (adenopatías, mononucleosis, etc.).

De todo lo expuesto, adquiere especial

significación la relación epidemiológica humana y animal, la trascendencia social y económica y las derivaciones e inquietudes que, en el orden científico, sanitario o profiláctico, pueden promover estos hallazgos.

### Resumen

Mediante pasajes individuales por 20 ratones blancos, y por vía intraperitoneal de la emulsión de cerebros de 20 cuervos, *Coragyps atratus foetens*, se consiguió aislar 10 cepas de *Toxoplasma gondii* (50 %).

Con esto se pone de relieve la gran susceptibilidad de un huésped hasta ahora ignorado a la infección toxoplásmica crónica, y se establece la primera observación de este agente en aves silvestres de la Argentina.

Alimentando ratones blancos con leche obtenida por ordeño de una perra, una gata y una cabra, infectadas experimentalmente con toxoplasma, se demuestra de modo fehaciente que el parásito se elimina por la leche, la que, ingerida por los ratones, les causa, en su casi totalidad, enfermedad mortal.

Se considera que las hembras en producción láctea, durante el período agudo de la infección, por efecto de una parasitemia más intensa, eliminan mayor cantidad de toxoplasmas, lo que hace más fácil la transmisión en dicho período.

Administrando a cucarachas *Periplaneta americana*, por vía digestiva, una gota de líquido aséptico extraído de ratones blancos afectados de toxoplasmosis, se consigue demostrar, mediante inoculaciones del triturado del insecto a ratones, que el *T. gondii* sobrevive por lo menos 65 días en el organismo del artrópodo.

Se prueba que es posible la infección por

ruta digestiva al conseguir la transmisión de la enfermedad a ratones blancos, alimentándolos con triturado de cucarachas infectadas experimentalmente 17 días antes.

Estas comprobaciones, el sistema de vida y alimentación de las cucarachas y la posibilidad de que éstas puedan ser ingeridas por perros, gatos y aves, permiten suponer que los mismos puedan representar algún rol en la gran cadena epidemiológica humana y animal.

Inoculando el líquido resultante del triturado de retina de animales bovinos sacrificados para el abasto público, en distintas zonas del país, se consigue aislar por primera vez en la Argentina, 74 cepas de *T. gondii*, a partir de 304 animales investigados (24,34 %).

En estudios comparativos y simultáneos, inoculando la emulsión del triturado de 3 g. de corteza cerebral del mismo animal, se consigue evaluar la significación de la retina como depositaria del parásito, y la excelencia del material para el diagnóstico *postmortem*.

Se estima que los primeros aislamientos obtenidos de la retina de bovinos, la elevada prevalencia de esta infección crónica e inaparente que denuncian y la posible relación entre humanos y animales, ya señalada, ponen de manifiesto un serio problema social, económico y sanitario.

### Agradecimiento

Al señor Antonio Uferer, ayudante de laboratorio, a cuya dedicación, capacidad y sentido de responsabilidad se debió en mucho el éxito de estos trabajos, y al Centro Panamericano de Zoonosis (Oficina Sanitaria Panamericana) de Azul, provincia de Buenos Aires, Argentina, por habernos enviado los ratones blancos necesarios para completar nuestros experimentos.

### REFERENCIAS

- (1) Coutelen, F.; Biguet, J.; Doby, J. M., y Debloek, St.: Le problème des Toxoplasmoses aviaires. Réceptivité variable de

quelques oiseaux a uné souché humaine de toxoplasmes, *Ann. Parasit. Humaine et Comparée*, 28(3):129-156, 1953

- (2) Rosenbuch, F.: *Toxoplasmosis avium* en los canarios, M.E.P.R.A. (VII), Salta, Argentina, 1931.
- (3) Boehringer, E. G.; Fornari, O. E., y Boehringer, I. K.: Primer hallazgo de *Toxoplasma gondii* en patos caseros en nuestro país. II Congreso Nacional de Veterinaria, Buenos Aires, 1960.
- (4) Mayer, J. F.: Toxoplasmosis espontánea en gallina. *An. Inst. Med. Reg.* (Arg.), 5(3):15-19, 1961.
- (5) Jacobs, L.: *The biology of toxoplasma*. Reimpreso, Secretaría de Salud, Educación y Bienestar, Estados Unidos, 1953.
- (6) Woke, P. A.; Jacobs, L.; Jones, F. E., y Nelton, M. L.: Experimental results on possible arthropod transmission of Toxoplasmosis, *Jour. Parasit.*, 39:523-532, 1953.
- (7) Laarman, J. J.: Transmission of experimental toxoplasmosis by *Stomoxys calcitrans*, *Acta Leidensia*, 26-27:116, 1957.
- (8) Nussenzweig, R. S., y Deane, M. P.: Estudos sobre a transmissão de *Toxoplasma gondii* I. Experiencias con triatomeos, *Rev. Bras. Malariol. e Doen. Trop.*, 10(4):543-550, 1958.
- (9) Varela, G. y Zabala, J.: Ensayos de transmisión de la toxoplasmosis por insectos, *Rev. Inst. Salub. y Enferm. Trop.* (Méx.), 21(3-4):141-148, 1961.
- (10) Sanger, V. L.; Chamberlain, D. M.; Chamberlain, K. W.; Cole, C. R., y Farrel, R. L.: Toxoplasmosis. V. Isolation of toxoplasma from cattle; *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, 123:87-91, 1953.
- (11) Sanger, V. L., y Cole, C. R.: Toxoplasmosis. VI. Isolation of Toxoplasma from milk, placentas, and newborn pigs of asymptomatic carrier sows. *Am. Jour. Vet. Res.*, 16(61):536-539, 1955.
- (12) Guilhon, J.: Colloque sur les toxoplasmes et les toxoplasmoses animales, *Rec. Med. Vet.* (Paris), 133(11):779-782, 1957.
- (13) Jacobs, L.; Remington, J. S., y Melton, M. L.: A survey of meat samples from swine, cattle, and sheep for the presence of encysted toxoplasma, *Jour. Parasit.*, 46(1):23-28, 1960.
- (14) Jacobs, L.: Toxoplasmas in man and animals, *New Zealand Vet. Jour.*, 9:85-91, 1961.
- (15) Jacobs, L.: *Ocular Toxoplasmosis laboratory contributions to diagnosis and chemotherapy*. Reimpreso, Secretaría de Salud, Educación y Bienestar, Washington, D. C., Estados Unidos, 1960.
- (16) François, J.: Recidivas tardías de la toxoplasmosis ocular congénita, *Symposium Ciba*, 11(1):2-12, 1963.
- (17) Eyles, D. E., y Coleman, N.: Relationship of size of inoculum to time to death in mice infected with *Toxoplasma gondii*, *Jour. Parasit.*, 42:272-276, 1956.
- (18) Giroud, F.; Roger, F., y Le Gac, P.: La valeur de l'isolement des souches de toxoplasme no pent entre mise en doute par l'existence d'affections latentes possibles des animaux de laboratoire dans un élevage correctement surveillé, *Soc. Path. Exot. Bull.*, 49:31-35, 1956.
- (19) Roger, F.: L'isolement de la souche reste le seul critere indisentable d'identification du toxoplasme lorsque le diagnostic doit être posé sur des pièces d'autopsie, *Bull. Soc. Path. Exot.*, 49(2):239-241, 1956.
- (20) Jacobs, L.: Toxoplasmosis, *New Zealand Med. Jour.*, 61(353):2-9, 1962.
- (21) Van Thiel, P. H., y Van Der Waaij, D.: The significance of pseudocysts in the oral infection of man and animal with *Toxoplasma gondii*. *Acta Leidensia*, 26-27:193-198, 1957.
- (22) Romaña, C.: La toxoplasmosis en la Argentina, trascendencia social de la enfermedad. Séptimos Congressos Internacionais de Medicina Tropical e Malaria, Rio de Janeiro, 1963.

### Experiments and Results in Toxoplasmosis (Summary)

The author succeeded in isolating 10 strains of *Toxoplasma gondii* (50%) by means of individual passages through 20 white mice of an emulsion of the brains of 20 ravens of the species *Coragyps atratus foetens*. The emulsion was administered intraperitoneally.

This result proves that a hitherto unknown host is highly susceptible to chronic toxoplasmosis. This is the first observation of this agent in feral birds in Argentina.

By feeding white mice with milk obtained by milking a bitch, a cat, and a goat which had been

experimentally infected with toxoplasma, it was conclusively proved that the parasite is eliminated through the milk which killed almost all the mice that ingested it.

It is believed that females in milk eliminate more toxoplasma during the period of acute infection owing to the higher degree of parasitemia so that transmission is easier during that period.

By administering to cockroaches *Periplaneta americana*, via the digestive route, one drop of ascitic liquid extracted from white mice affected with toxoplasmosis, it was possible to show that, through inoculations of the trituration of the insects into mice, *T. gondii* survives at least 65 days in the organism of the arthropod.

Infection by the digestive route was shown to be possible when the disease was transmitted to white mice by feeding them with a trituration of cockroaches which had been experimentally infected 17 days earlier.

These findings, the mode of living and feeding of the cockroaches, and the possibility that these

may be ingested by dogs, cats, and birds, would seem to indicate that cockroaches may play a certain role in the long chain of human and animal epidemiology.

By inoculating the liquid resulting from the trituration of retinas taken from bovine cattle slaughtered in public slaughterhouses in various parts of the country, it was possible for the first time in Argentina to isolate 74 strains of *T. gondii* from 30 animals (24.34%).

Comparative and simultaneous studies showed that by inoculating a 3 g. trituration of cerebral cortex of the same animal, it is possible to evaluate the significance of the retina as a depository for the parasite, and the excellence of the material for post-mortem diagnosis.

Because of the high prevalence of this chronic and inapparent infection and its possible transmission from animal to man, the fact that toxoplasma has now been isolated from bovine retina, indicates a serious social, economic, and health problem.

---

The science of mental disease has sometimes been represented to you as a narrow discipline limited to the study of the mentally deranged, of those who have become alienated from the community of human beings. It is, on the contrary, a living science, fully awake to these fundamental problems in which no man can be uninterested, and you least of all, who are called upon to become doctors, that is, men to whom nothing human should be foreign.

Jean Delay