TOXOPLASMOSIS EN CHILE

Demostración Parasitológica del primer caso de Toxoplasmosis Connatal

Drs. F. NAQUIRA y A. NEGhme
Cátedra de Parasitología de la U. de Chile.

En comunicaciones anteriores se dió a conocer los estudios que se están realizando en la Cátedra de Parasitología de la Universidad de Chile, después de la demostración de dos casos de toxoplasmosis humana^{1,3}, y un caso en animal autóctono (*Octodon d. degus*)¹⁷, a los que se suman experiencias sobre quimioterapia y otros^{16,78}. De acuerdo con esta línea de conducta se ha continuado investigando esta parasitosis en los servicios hospitalarios de Santiago: maternidades, servicios de pediatría, de enfermedades infecto-contagiosas y de oftalmología, etc.

La toxoplasmosis despierta cada vez más interés en los diferentes campos de la medicina, en atención a la diversidad de órganos que este parásito puede invadir. En los últimos años han aparecido numerosas comunicaciones de nuevos casos, justificando por tanto un estudio intensivo para su mayor conocimiento⁹.

Etiología.

El agente etiológico es el *Toxoplasma gondii*. Desde su descubrimiento por Nicolle-Monceaux, en 1908, en el *Ctenodactylus gondii*, en Túnez, y por Splendore, en 1909, en conejos del Brasil, se han descrito alrededor de 20 especies de *Toxoplasma* aislados en distintos animales. Actualmente se acepta la existencia de una

sola especie, por no haber diferencias inmunológicas ni morfológicas¹⁴.

Clasificación sistemática.

Su ubicación sistemática es discutida y no está aclarada en la actualidad. Para algunos autores, se trataría de un protozo⁷.

Morfología.

Habitualmente tiene una forma semilunar o de arco (toxó: arco) en su forma extracelular. Mide 4 a 6 micras de largo por 2 a 3 micras de ancho. En su forma intracelular es redondeado u ovalado y de menor tamaño. El núcleo es generalmente central y algunas veces próximo a uno de sus extremos.

Localización.

Este microorganismo es capaz de invadir prácticamente todos los tejidos del organismo y preferentemente el S.N.C., la retina, el S.R.E., etc.

Vitalidad.

A la temperatura ambiente muere a las 48 horas. Conserva su virulencia por varias semanas a menos de 75°, y en glicerina mantiene su vitalidad ocho días⁴. En

animales inoculados puede permanecer latente durante varios meses, condición que probablemente se repite en la especie humana.

Movilidad.

Posee escasa movilidad de flexión y reptación. Con el microscopio electrónico se ha fotografiado una red de fibras elásticas en su membrana¹⁰.

Multiplicación.

Es un parásito celular estricto, multiplicándose, por división binaria sólo dentro de la célula. Penetra a la célula por movimientos activos. En los tejidos se han diferenciado dos formas: la vegetativa, que correspondería a la enfermedad aguda; y la forma de pseudo-quiste, a la enfermedad crónica.

Cultivo.

Hasta el momento actual, todas las tentativas para cultivar el toxoplasma en medios artificiales han fracasado. Esto sólo ha sido posible en corioalantoides de embrión de pollo y en extractos embrionarios de corazón de rata. Últimamente se ha obtenido éxito, usando cultivos de macrófagos de animales adultos de laboratorio⁵.

Serología.

La infección por toxoplasma produce anticuerpos que fijan el complemento y otros del tipo de las precipitinas, etc. No se ha establecido la existencia de aglutininas, lisinas, ablastinas, etc.

Experimentalmente se ha demostrado que los primeros anticuerpos, son los que se evidencian con el test de Sabin y Feldman a los cuatro días de inoculación, luego los que fijan el complemento y precipitinas, alrededor de los 10 o 12 días, alcanzando títulos progresivamente mayores en el curso de la enfermedad. Los últimos en evidenciarse son los de la toxoplasmina^{8,10}.

Reservorios naturales.

Existe consenso unánime de que tanto los mamíferos, aves y reptiles pueden ser parasitados por el toxoplasma. Estos representarían el reservorio natural de la

enfermedad. El parásito ha sido aislado de animales domésticos^{8,13} y roedores. Se han descrito epidemias en animales de laboratorio y en criaderos de aves con alto porcentaje de mortalidad. Se ha encontrado el toxoplasma en todos los lugares, cuando los investigadores se han preocupado del problema⁹. Tales hallazgos revisten gran importancia epidemiológica y señalan la necesidad de hacer estudios amplios en el ambiente que rodea cada caso humano.

Portadores.

Este problema es de gran interés. Estadísticas de diversos autores señalan tests serológicos positivos de 40 y 60% en poblaciones normales de EE. UU., Alemania y países escandinavos^{9,8}.

Epidemiología.

Este es uno de los capítulos más oscuros e inciertos. No admite dudas la transmisión congénita de la toxoplasmosis humana. Los trabajos experimentales que se han realizado no son suficientemente numerosos como para sacar conclusiones definitivas.

Experimentalmente se ha encontrado el parásito en secreciones y excreciones de animales infectados¹¹ (secreciones nasales, salivales, expectoración, secreción láctea, orina y deposiciones). También está presente en la sangre y en el líquido céfaloraquídeo. Inicialmente se pensó en un mecanismo indirecto. Así lo concibieron Nicolle y Monceaux, atribuyendo a una garrapata el papel de intermediario en la transmisión de esta enfermedad.

Los intentos realizados para transmitir la enfermedad de animales infectados (laucha, rata, cuy, etc.) a animales sanos usando como vectores: *Pulex*, *Pedículos*, *Cimex*, garrapatas, triatomas, moscas y mosquitos, no han dado resultados satisfactorios. Estos vectores hematófagos alimentados con animales infectados ingieren el toxoplasma el que mantiene su vitalidad varias horas, incluso días⁴.

La endemia en los animales se mantiene probablemente por sus hábitos canibalísticos en algunos de ellos y por la costumbre de comerse los ectoparásitos.

Algunos autores⁴, usando la vía genital, han encontrado que la posibilidad de contagio en el animal embarazado, au-

menta con relación al sano, en la proporción de 3:1.

Estudios serológicos realizados en grupos de personas que conviven con perros, con sintomatología visceral intestinal, y otros con manifestaciones nerviosas de toxoplasmosis, han demostrado que, en el primer grupo, se encontró mayor número de casos con títulos altos; y en el segundo grupo, menor número de casos y títulos bajos.

En estudios realizados en nuestro laboratorio¹² se demostró la eficacia de las vías digestiva, respiratoria, conjuntival, escarificación, intradérmica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, intracerebral, etc.

En el estado actual de nuestros conocimientos, se piensa que la manera más probable de transmisión de la enfermedad, es la vía digestiva, ya sea mediante la ingestión de vísceras de animales enfermos, o por contaminación de los alimentos con las secreciones y excreciones de animales infectados^{10,13}.

A título ilustrativo, destacamos que últimamente⁵ se aisló el parásito de la secreción salival de un niño, en el que anteriormente se había identificado el toxoplasma, por inoculación de sangre en lauchas y cuyes.

Diagnóstico parasitológico.

El diagnóstico de esta enfermedad sólo se confirma con la demostración del parásito. Las reacciones serológicas sólo tendrían un valor presuntivo.

Aislamiento del parásito.

Se usa el examen directo al fresco, con tinción y la inoculación experimental en animales sensibles (cuyes, lauchas, etc.) del material sospechoso (sangre, L.C.R. y macerado de órganos obtenidos por punción, biopsia o necropsia).

Para las inoculaciones se emplean animales mantenidos en el laboratorio en los cuales sea posible descartar la toxoplasmosis espontánea. Nosotros usamos habitualmente 14 a 16 lauchas, inoculando la mitad por vía intracerebral y el resto por vía intraperitoneal. Se observan los animales, y se hacen punciones peritoneales repetidas; si éstas son negativas, se sacrifican los animales a los 8 días; el macera-

do de cerebro, bazo e hígado se traspasa a nuevas lauchas. Después de 4 pasajes, sin demostración del parásito, se da el estudio por negativo.

Métodos inmunobiológicos.

Los métodos actualmente en uso son: 1) Toxoplasmina; 2) Fijación del complemento; y 3) Sabin y Feldman.

Toxoplasmina. Esta prueba descrita por Frenkel¹⁴ mide el estado de sensibilización. Aparece tardíamente en el curso de la infección, pero se mantiene positiva por largo tiempo. El porcentaje de positividad en la población normal es muy alto, posiblemente porque junto a la alta sensibilidad posee escasa especificidad, en consecuencia, es de poca utilidad para el diagnóstico. Sería útil en encuestas epidemiológicas como reacción de presunción. Se usa antígenos totales obtenidos de corioalantoides o de serosa peritoneal de ratón. Las diluciones a usar son al 1:100 y al 1.500. La técnica y lectura es similar al test de tuberculina.

Fijación del Complemento. Este método está sujeto a las mismas causas de error que la reacción de Wasserman y no es constante en resultados específicos. Sirve para exámenes en sangre, controlándose con el Sabin y Feldman.

Sabin y Feldman. Este ingenioso método descubierto por Sabin y Feldman^{2,14}, fué aplicado al diagnóstico de la toxoplasmosis. Es la reacción más importante. Nosotros seguimos la técnica modificada por Westphal y Shulze^{2,7}. El suero es diluido e inactivado, agregando mezcla de exudado peritoneal de laucha infectada, heparina y factor accesorio (este último factor se encuentra en el 50% de las personas normales), es termolábil y no se ha identificado con el complemento, pero actúa como tal. Después de permanecer una hora a 37°, se agrega azul de metileno en solución de pH 11. La reacción es positiva cuando el 50% de los toxoplasmas no captan el colorante. El título de positividad es de 1:50.

Consideramos que estas tres reacciones, especialmente la de Sabin y Feldman, realizadas en óptimas condiciones y con buena técnica, son de valor en el diagnóstico de la toxoplasmosis.

DEMOSTRACIÓN PARASITOLÓGICA DEL PRIMER
CASO DE TOXOPLASMOSIS CONNATAL EN
CHILE

El 17 de Agosto de 1954, el Prof. A. Ariztía solicitó el concurso de la Cátedra de Parasitología para hacer el estudio parasitológico de un lactante, en el que se planteó clínicamente el diagnóstico de toxoplasmosis. Ese mismo día inoculamos con sangre del presunto enfermo 14 lauchas de laboratorio (cepa Balb), 7 por vía intraperitoneal y 7 por vía intracerebral.

Al día siguiente inyectamos L.C.R. previamente centrifugado en 28 ratones blancos, 14 por vía intraperitoneal y los restantes por vía intracerebral. Dichos animales fueron observados, sometidos a punción y examen de exudado peritoneal. Se hicieron pasajes sucesivos con macerado de cerebro, bazo e hígado.

El 21 de Septiembre, al tercer pasaje, en el grupo de ratones inoculados con L. C. R., observamos un toxoplasma en una serie de preparaciones al fresco, que no fué verificado en 6 frotis con teñidos con Giemsa.

El 25 de Septiembre, 4 días después del tercer pasaje, observamos abundante cantidad de toxoplasma en el exudado peri-

Fig. 2: Ratones blancos inoculados con Toxoplasmas aislados en el Hospital Luis Calvo Mackenna. Se observa la típica reacción de alarma, con erisamiento del pelaje, al 4º día de enfermedad.

toneal, y los animales mostraban signos evidentes de enfermedad. (Fig. 1 y 2).

El lote de ratones inoculados con sangre permanecen negativos después de una serie de pasajes.

Esta nueva cepa aislada se mantiene por pasajes en ratones blancos; su virulencia en lauchas y su conducta en la reacción de Sabin y Feldman son iguales a las cepas chilenas "Noé" y "Santiago".

También practicamos una encuesta serológica al grupo familiar, mediante las siguientes reacciones: Toxoplasma, Fijación del Complemento y Sabin y Feldman (Tabla Nº 1).

TABLA Nº 1

TOXOPLASMOSIS HUMANA. ENCUESTA SEROLÓGICA DEL GRUPO FAMILIAR

Grupo familiar	Toxoplasmina	Fijación del Complemento	Sabin y Feldman
Padre	+	1:15	1:80
Madre	+	1:80	1:128
Hermana	Dudosa	1:10	1:64
Enferma	(—)	1:80	1:512

Fig. 1: Exudado peritoneal de laucha. Tinción con Giemsa. Obsérvese la presencia de Toxoplasmas, que conservan su forma de arco, núcleo central en algunos y próximo a sus extremos en otros.

Al realizar la encuesta epidemiológica, encontramos pésimas condiciones de vivienda, un ambiente sanitario deficiente; verificamos una sola fuente de abastecimiento de agua y un pozo negro para una casa en que viven 8 familias; gran cantidad de roedores (ratas) e insectos (moscas, Cimex, Pulex, etc.); y entre los animales domésticos, únicamente gatos.

Buscando la probable fuente contagiante en ratas, capturamos un ejemplar macho, al que se le practicó la reacción de Sabin y Feldman, que resultó negativa.

El animal fué sacrificado y el macerado de cerebro, bazo e hígado se inoculó en 4 lauchas. Al cabo de varios pasajes, el resultado es negativo.

Comentario epidemiológico y parasitológico. Llamamos la atención sobre la importancia que tiene la colaboración del clínico y del parasitólogo en el estudio y diagnóstico de nuevos casos de toxoplasmosis. Prueba de ella es la presente comunicación, en que frente a la sospecha clínica, se solicitó el concurso de la Cátedra de Parasitología de la Universidad de Chile.

El buen éxito en el hallazgo del parásito depende mucho de la precocidad con que la muestra obtenida (sangre-líquido céfalo-raquídeo) se inocula en los animales receptivos, siendo las mejores vías la intracerebral e intraperitoneal, observación y pasajes seriados.

Consideramos que ante cada caso humano sospechoso de la enfermedad, debería procederse al estudio sistemático de los animales domésticos (perros, gatos, aves, etc.) roedores y ectoparásitos, buscando en ellos la fuente contagiante.

El hallazgo de títulos serológicos altos, en un cuadro clínico sospechoso, debe inducirnos a buscar el toxoplasma, por todos los medios, lo que no es fácil.

Como lo han señalado otros autores⁷⁻⁹⁻¹¹⁻¹⁷, es necesario investigar sistemáticamente el antecedente de abortos repetidos. En nuestra casuística existen dos enfermas¹⁻³. La madre de la lactante, motivo de esta presentación, tuvo dos abortos espontáneos, en los años 1951 y 1953, de 3 meses el primero y de 2 meses el segundo.

RESUMEN

1. Se revisa brevemente la biología, morfología, multiplicación, cultivo, serología, distribución geográfica y reservorios del *Toxoplasma gondii*, y el estado actual de la epidemiología de la toxoplasmosis.

2. Recalcamos la importancia del diagnóstico parasitológico, a través del examen directo, inoculación en animales sensibles, y métodos serológicos: Toxoplasmina, Fijación del Complemento y Sabin y Feldman, señalándose la importancia de esta última, en relación con la clínica.

3. Se describen los métodos parasitológicos seguidos en la demostración del primer caso de toxoplasmosis congénita en Chile.

4. Presentamos los resultados de la encuesta serológica y epidemiológica practicados en el grupo familiar; el estudio serológico e inoculación en lauchas de las vísceras de una rata capturada en el domicilio de la enferma.

SUMMARY

1. The biology, morphology, multiplication, culture, serology, geographical distribution and reservoirs of *Toxoplasma gondii* and epidemiology of toxoplasmosis is briefly reviewed.

2. We emphasize the value of parasitological diagnosis by direct examination, inoculation in sensitive animals and serological methods: toxoplasmina, complement fixation and Sabin and Feldmann reactions, pointing out the usefulness of this last one in connection with clinics.

3. The parasitological methods used in the first proved case of congenital toxoplasmosis in Chile are described.

4. We present the results of a serological and epidemiological survey carried out in the family group and that of a serological study and transmission of the disease to mice by inoculation of these with tissue of a rat captured in the family home.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.—CHRISTEN, R.; AGOSIN, M.; PINO, F.; JARPA, A.; THIEMANN, E. y NEGhme, A. — Primer caso confirmado de Toxoplasmosis Humana en Chile. *Rev. Méd. de Chile*, 9:714-716, 1951.
- 2.—THIEMANN, E. — La Reacción de Sabin y Feldman en el Diagnóstico de la Toxoplasmosis. *Bol. Par. Chileras*, 6:54-55, 1951.
- 3.—NEGhme, A.; THIEMANN, E.; PINO, F.; CHRISTEN, R. y AGOSIN, M. — Toxoplasmosis Humana en Chile. *Bol. Int. Par. Chileras*, 7:6-8, 1952.
- 4.—NAJERA, L. E. — La Toxoplasmosis: su importancia epidemiológica y sus relaciones con la embriopatía rebenica. *Anales Med. Publ. Santa Fe, Argentina*, 4: 111-186, 1952.
- 5.—WOLFANG, A.; VISCHER y SUTTER, E. — Intracellular Multiplication of *Toxoplasma gondii* in adult Mammalian Macrophages cultivated in vitro. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 86:413-415, 1954.
- 6.—CATHIE, I. A. B. — Toxoplasma in Adenopathy in a Child with isolation of the Parasite. *Lancet*, 2:115-116, 1954.
- 7.—WESTPHAL, A. — Investigaciones y observaciones complementarias sobre la reacción de Fijación del Complemento según Westphal. *Trop. Med. & Paras.*, 3: Febrero, 1952.
- 8.—EYLES, DON E. — Serologic response of White Rats to Toxoplasma infection. *Jour. Parasitol.*, 40:77-83, 1954.
- 9.—WEIMAN, D. — Toxoplasmosis. *Rev. Cubana. Lab. Cím.*, 8:47-64, 1954.

- 10.—DEMONTs, G. — Stat actuel du probleme de la Toxoplasmose humaine. Arch. Francaises de Pediatrie. 11:57-61, 1954.
- 11.—JACOBS, L.; JOHN, R.; FAIR; JOHN, H. BIC-KERTON. — Adult Ocular Toxoplasmosis. A. M. A. Arch. of Ophthalmology. 51:287, 1954.
- 12.—VERNEIL, C.; MAURIN, J. — Toxoplasmose et virus Choriomeningitique chez le canelero (Chamoelca vulgaris D.). Rev. Am. Parasitol. Humaine et comparee. 28:5-13, 1953.
- 13.—WICKMAN, N. y CARNE, H. R. — Toxoplasmosis in Domestic Animals. Austr. Vet. Jour. 26:1-3, 1950.
- 14.—SABIN, A. B.; EICHEWALD, H.; FELDMAN, H. A. y JACOBS, L. — Present status of clinical manifestations of Toxoplasmosis in man; indications and provisions for routine serologic diagnosis. J. A. M. A. 150:1063-1069, 1952.
- 15.—THIERMANN, E. y CHRISTEN, R. — Influencia de la edad, del sexo y de las vias de inoculación en el curso de la Toxoplasmosis Experimental del Ratón. Bol. Par. Chilenas. 8:45-49, 1953.
- 16.—CHRISTEN, R. y THIERMANN, E. — Quimioterapia Experimental de la Toxoplasmosis. II. Efectos de la Acromicina sobre la Toxoplasmosis Experimental del Ratón. 8:49-51, 1953.
- 17.—CHRISTEN, R. y THIERMANN, E. — Investigación de Toxoplasmosis en animales autóctonos chilenos. Bol. Int. Par. Chilenas. 8:75-77, 1953.
- 18.—CHRISTEN, R. y THIERMANN, E. — Ensayos de Quimioterapia de la Toxoplasmosis Experimental del Ratón. Bol. Int. Par. Chilenas. 8:24-26, 1953.