UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

MODELOS ANIMALES UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO DE LA TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA EN FACULTAD DE VETERINARIA

Por

Laura Rosana SOSA ISAAC

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias.
Orientación: MEDICINA VETERINARIA

MODALIDAD: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

MONTEVIDEO
URUGUAY
2014

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa: _____
Dra. María Soledad Valledor

Segundo miembro (Tutor): _____
Dr. Pedro Martino

Tercer miembro: _____
Prof. Oscar Correa

Cuarto miembro: _____
Dra. Analía Rodríguez

Fecha: 23/12/2014

Autor: _____
Br. Laura Sosa Isaac.

AGRADECIMIENTOS

A mi Tutor, Dr. Pedro Martino y a mi Co-tutora, Dra. Analía Rodríguez por su dedicación y el apoyo brindado.

TABLA DE CONTENIDO

Página:

3 È * , 1 $ $ 3 5 2 % $ & , Ï 1 « II

AGRADECIMIENTOS « III

LISTA DE TABLAS Y) , * 8 5 $ 6 « V

1. RESUMEN « 1
2. SUMMARY « .. 2
3. INTRODUCCIÓN « 3
   3.1. CICLO DE TOXOPLASMA GONDII « 3
   3.2. PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD
   EN DIFERENTES (6 3 (& , (6 « « « « « « « « « « « « « « « « « « «

LISTA DE TABLAS

Página:

Tabla 1. Resultado de la transmisión de Toxoplasmosis congénita al inocular ratas Wistar por vía oral con quistes de cepas de alta, intermedia o baja patogenicidad de T. gondii. « « « « « « « « « « « « « « « « 29

Tabla 2. Resultado de la transmisión de Toxoplasmosis congénita al inocular ratas Wistar por vía oral con ooquistes de cepas de alta, intermedia o baja patogenicidad de T. gondii. « « « « « « « « « « « « « «

Tabla 3. Resultado de la transmisión congénita de T. gondii en ratas inmunizadas por vía oral, y desafiadas durante la gestación con cepas homólogas y heterólogas del parásito, y sus respectivos controles. «

Tabla 4. Resultado del desafío de ratas inmunizadas por vía subcutánea con la cepa RH de T. gondii con quistes y ooquistes de tres cepas del parásito, por vía oral a los 12 días de gestación. « « « « « « «

Tabla 5. Resultados de los experimentos de inmunización oral con cepas completas de T. gondii, con o sin medicación supresiva, y desafío con bradizoítos u ooquistes del parásito. « « « « « « « « « « « « « « «

Tabla 6. Investigación de la transmisión congénita de T. gondii en ratas Fischer utilizando dosis bajas de bradizoítos. « « « « « « « « « « « « « «

Tabla 7. Investigación de la transmisión congénita de T. gondii en ratas Fischer inoculadas por vía oral a los 12-15 días de gestación, utilizando ooquistes. «

Tabla 8. Investigación de la transmisión lactogénica de la cepa Prugniaud de T. gondii en ratas Fischer inoculadas con bradizoítos u ooquistes a los 12 días de gestación. « « « « « « « « « « « « « «

Tabla 9. Resultado de la transmisión congénita tras la inoculación oral de ratas Fischer gestantes con bradizoítos u ooquistes de las cepas Prugniaud, M3 y M-7741 de T. gondii. « « « « « « « « « « « . « « « « « « «

Tabla 10. Resultado de la transmisión congénita tras la inoculación oral de ratas Fischer gestantes con dosis mínimas de bradizoítos u ooquistes de las cepas Prugniaud, M3 y M-7741 de T. gondii. « « « « « « « « « « « « « « « « « « «

Tabla 13. Estudio de la transmisión congénita de T. gondii en ratonas Balb/c tras la inoculación oral con ooquistes de las cepas Prugniaud y M-7741, a los 12 días de gestación. « « « « « « « « « « . « « « «

Tabla 14. Resultado de la transmisión congénita de T. gondii en hamsters tras la inoculación oral con ooquistes de las cepas Prugniaud y M-7741, durante la gestación. « « « « « « « « « « . « « « « « « «

Tabla 15. Resultado de la inmunización de hamsters con 2 x 10^2 bradizoítos de la cepa ME-49 previo a la gestación y posterior desafío durante la segunda gestación con quistes de la cepa M-7741. «

Tabla 16. Resultado de los ensayos de transmisión congénita de T. gondii al inocular hamsters con 10^2 o 10^3 ooquistes de la cepa Prugniaud durante la gestación. «

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de Toxoplasma gondii. « « « « « « « « « « . « « « « « « « « ...4
Figura 2. Ciclo de Toxoplasma gondii en el gato. « « « « « « « « « « . « « « «
Figura 3. Estadios de T. gondii. «

1. Resumen.

La Toxoplasmosis es una enfermedad causada por el protozoario parásito Toxoplasma gondii. Es una de las zoonosis más difundidas en el mundo. Afecta a los humanos provocando malformaciones congénitas que de acuerdo a su gravedad podrían provocar aborto. Toxoplasma gondii causa infertilidad, aborto y muerte perinatal en ovinos, siendo el agente etiológico que produce las mayores pérdidas reproductivas en esta especie en el Uruguay. En el presente trabajo se realizó una revisión de los experimentos realizados para el estudio de la Toxoplasmosis congénita en Facultad de Veterinaria de Montevideo durante 10 años (2003 y 2013). Para la investigación de la Toxoplasmosis congénita se utilizaron diferentes modelos animales con el objetivo de reproducir la enfermedad de una manera similar a lo que sucede en el humano y en el ovino. El modelo rata fue el de elección por la similitud en cuanto a la resistencia que presenta esta especie con la humana. Al utilizar el modelo ratón se demostró la protección natural que existe contra la Toxoplasmosis congénita al igual que ocurre en humanos y ovinos. Los modelos hamster y cobayo también fueron utilizados para el estudio de la Toxoplasmosis congénita, pero los resultados obtenidos con ellos no fueron tan satisfactorios como al utilizar las otras especies antes mencionadas.

2. Summary.

Toxoplasmosis is a disease caused by the protozoan parasite Toxoplasma gondii. This is one of the most widespread zoonosis in the world. It affects humans causing congenital malformations that depending on severity could result in abortion. Toxoplasma gondii causes infertility, abortion and perinatal death in sheep, being the etiological agent that causes the greatest reproductive looses in Uruguay. The present paper is a review of several experiments developed at the Veterinary Faculty of Montevideo for the study of congenital Toxoplasmosis during 10 years (2003 and 2013). With the aim of studying congenital Toxoplasmosis there were used different animal models to reproduce the disease in a similar way as occurs in humans and sheep. The rat model was the specie of choice because of its similarity in resistance with humans. The mouse model did not allow us to demonstrate the natural protection against congenital Toxoplasmosis. However, the results with hamsters and guinea pigs were not as satisfactory as the obtained using the other mentioned species.

3. Introducción.

La Toxoplasmosis es una enfermedad causada por el protozoario parásito Toxoplasma gondii (Hill D., Dubey J., 2002). Es una de las zoonosis más difundidas en el mundo (Cordero del Campillo, M., 1999). Se estima que cerca de un tercio de la humanidad ha estado expuesta a este parásito (Hill D., Dubey J., 2002).

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular potencialmente capaz de invadir y multiplicarse en cualquier célula nucleada (Cordero del Campillo, M., 1999).

Además de su implicancia en la casuística de abortos y malformaciones congénitas en la población infantil, la Toxoplasmosis se incluye dentro de las enfermedades oportunistas, por lo que representa un grave peligro en pacientes inmunosuprimidos (Cordero del Campillo, M., 1999).

Toxoplasma gondii ha sido identificado como el agente etiológico que ocasiona las mayores pérdidas reproductivas en ovinos del Uruguay (Freyre A. y col., 1999).

3.1. Ciclo de Toxoplasma gondii .

El ciclo de Toxoplasma gondii (T. gondii) se representa en la Figura 1.

Los gatos son los únicos hospedadores definitivos (en ellos se forman macro y microgametocitos), por lo que sólo los gatos infectados excretan los ooquistes del parásito en sus heces (Bowman D., 2011).

Los gatos eliminan ooquistes durante un período de tiempo relativamente corto (una a dos semanas) (Freyre A., 1989), y los que ya han eliminado ooquistes no vuelven a hacerlo en toda su vida, incluso si se produjera una re-infección (Soulsby E., 1988).

El gato que ya ha eliminado ooquistes y/o es serológicamente positivo, probablemente sea una mascota más segura que aquel que nunca ha estado expuesto al parásito, dependiendo de los hábitos de vida, si es un gato doméstico o salvaje, y de las posibilidades que tenga de encontrarse con el parásito en el medio ambiente (Bowman D., 2011).

La infección del gato puede producirse por la ingestión de ooquistes esporulados, taquizoítos o bradizoítos (Soulsby E., 1988; Freyre A., 1989) (Ver Figura 2). A nivel intestinal se producen los ooquistes. Como los tejidos extraintestinales también son colonizados, los gatos pueden ser hospedadores intermediarios y definitivos simultáneamente (Freyre A., 1989).

Dependiendo de la forma de infección será el tiempo que tardará en eliminar ooquistes no esporulados. De esta manera, un felino eliminará ooquistes de T. gondii al cabo de 3 a 10 días tras la ingestión de ratones infectados con bradizoítos enquistados, pero no antes de 19-48 días de haber ingerido ooquistes esporulados (Bowman D., 2011).

El ooquiste mide entre 11 y 13 µm, contiene un único esporonte y no es infectante cuando sale con las heces. La esporulación se completa al cabo de 1 a 5 días en el medio ambiente, formándose dos esporoquistes, cada uno de los cuales contiene cuatro esporozoítos. Completada la esporulación los ooquistes son infectantes al ser ingeridos prácticamente por cualquier animal de sangre caliente (hospedadores intermediarios), incluidos los gatos (Bowman D., 2011). Los diferentes estadios de T. gondii se muestran en la Figura 3.

Entre la variedad de hospedadores intermediarios de T. gondii, los herbívoros y los omnívoros son epidemiológicamente los más eficaces. Las especies ovina, caprina y porcina son importantes hospedadores en el entorno doméstico (Cordero del Campillo, M., 1999).

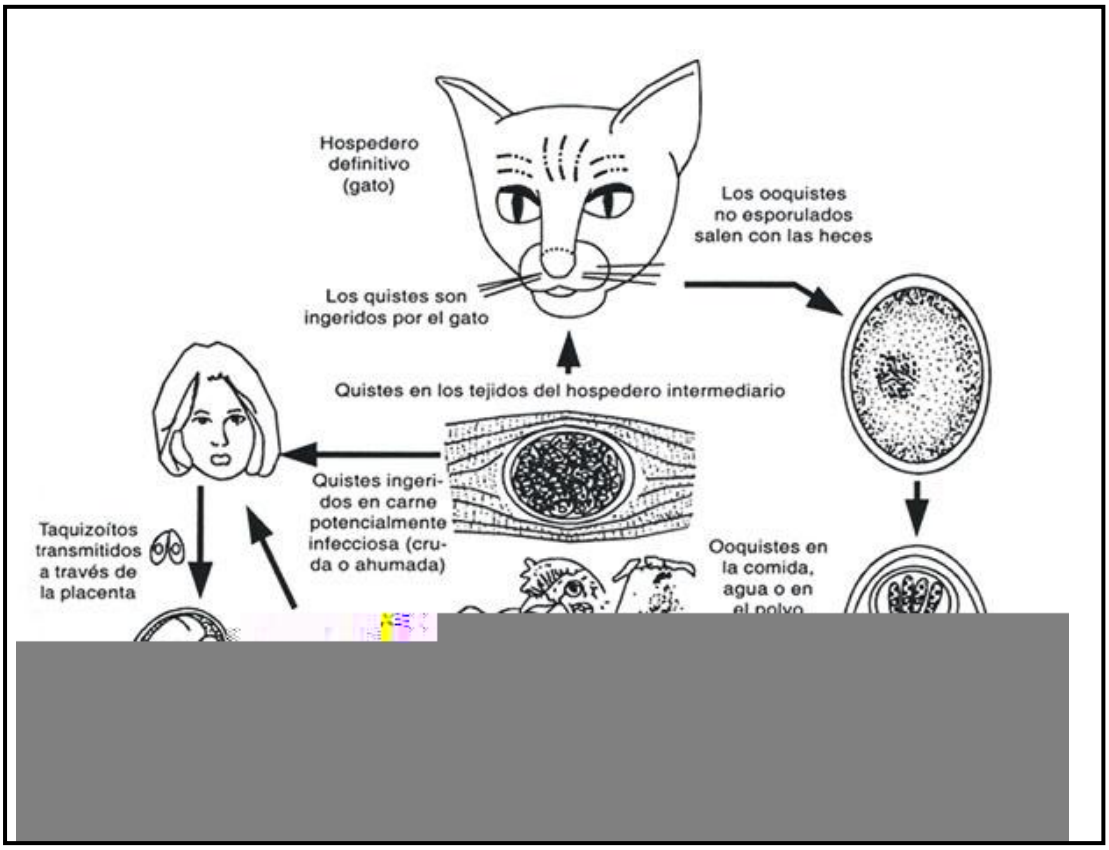

Figura 1. Ciclo de Toxoplasma gondii. Extraído de Hill D., Dubey J. (2002).

Cuando un hospedador intermediario ingiere el ooquiste esporulado, se produce la ruptura del mismo a nivel del intestino, liberándose esporozoítos, los cuales penetran y se multiplican en las células intestinales y en los ganglios linfáticos para formar los taquizoítos (estadios de multiplicación rápida). Estos últimos se diseminan a todos los tejidos, continúan multiplicándose e invadiendo células. Finalmente, se forman los quistes tisulares que contienen los bradizoítos (formas de multiplicación lenta) a nivel de cerebro, musculatura estriada e hígado, permaneciendo viables allí durante toda la vida del hospedador (Bowman D., 2011).

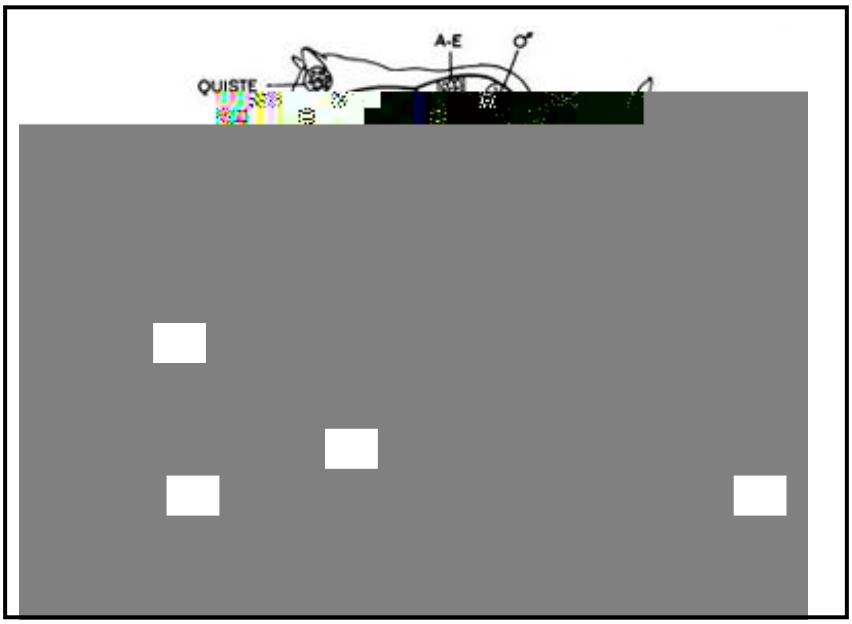

Figura 2. Ciclo de Toxoplasma gondii **en el gato.** El gato actúa como hospedador definitivo. Luego del desarrollo de T. gondii en el intestino (multiplicación asexuada y sexuada) se eliminan los ooquistes con las heces, luego de la esporulación alcanza el estadio infectante para los hospedadores intermediarios. En ellos se forman taquizoítos y bradizoítos (quistes). La infección del gato puede producirse por la ingestión de ooquistes esporulados, taquizoítos o bradizoítos. Extraído de Soulsby E., (1988).

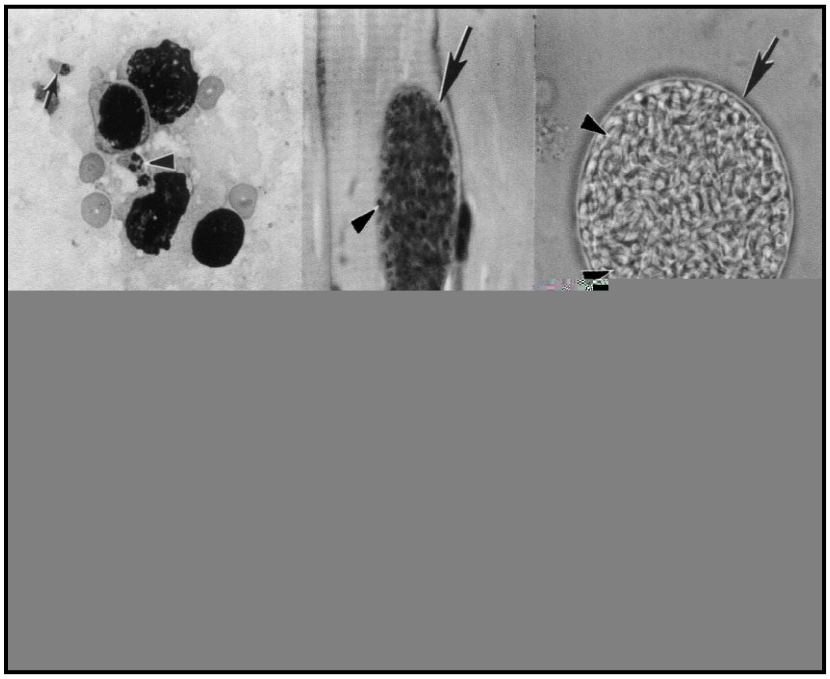

Figura 3. Estadios de T. gondii. Barra (escala) de A a D: 20 µm; de E a G: 10 µm. A: Taquizoítos en un frotis de pulmón. B: Quistes tisulares en una sección de tejido muscular. C: Quiste tisular separado del tejido cerebral del hospedador. D: Esquizonte con varios merozoítos, frotis de intestino de un gato. E: Gametocito masculino con dos flagelos. F: Ooquiste no esporulado obtenido de la materia fecal de un gato. G: Ooquiste esporulado, conteniendo dos esporoquistes. Extraído de Hill D., Dubey J. (2002).

En función de la vía de acceso del parásito al hospedador se distinguen dos tipos de Toxoplasmosis: **adquirida** (por vía oral) y **congénita** (transmitida de la madre al feto por vía transplacentaria) (Cordero del Campillo, M., 1999). Entonces, en los hospedadores intermediarios la infección por T. gondii adquirida, puede ser provocada por medio de la ingestión de ooquistes esporulados en las heces de los gatos o de quistes tisulares conteniendo bradizoítos en los tejidos de otros hospedadores intermediarios (Bowman D., 2011).

La ingestión de quistes tisulares a partir del consumo de carne de animales infectados es una fuente de infección importante para la especie humana, además, la enfermedad puede transmitirse por la ingestión de ooquistes esporulados, luego de que se produzca la esporulación de los ooquistes eliminados con las heces de los gatos (Cordero del Campillo, M., 1999; Soulsby E., 1988; Freyre A. y col., 1990).

3.2. Patogenia de la enfermedad en diferentes especies.

T. gondii puede afectar a una gran variedad de animales que se comportan como hospedadores intermediarios: bovinos, ovinos, caprinos, suinos, caninos, felinos, conejos y el hombre.

En caninos, las manifestaciones clínicas son muy variadas, pudiendo causar fiebre, anorexia, alteraciones digestivas, trastornos respiratorios, convulsiones, parálisis y otras manifestaciones nerviosas (Soulsby E., 1988).

El gato en condiciones naturales está frecuentemente infectado y produce millones de ooquistes. Sin embargo, muy raramente la infección da lugar a manifestaciones clínicas (Soulsby E., 1988).

La infección es altamente prevalente en cerdos, por lo que la carne de cerdo cruda podría ser una importante fuente de infección para el ser humano. Los cerdos recién nacidos y de hasta tres semanas de edad son los frecuentemente más afectados. Puede causar fiebre, debilidad, tos, incoordinación, diarrea, alteraciones pulmonares y muerte en lechones (Bowman D., 2011).

Los rumiantes también padecen la infección por Toxoplasma gondii en condición de hospedadores intermediarios. La infección suele cursar de forma leve en individuos adultos sanos, en los que tras un período de multiplicación activa, el parásito puede sobrevivir de por vida en forma latente, fundamentalmente en cerebro y musculatura estriada (Cordero del Campillo, M., 1999).

En el ganado caprino la Toxoplasmosis es generalmente más grave que en los ovinos, debido a que los abortos pueden repetirse durante sucesivas gestaciones. Los vacunos, por el contrario, son poco receptivos a la infección por Toxoplasma gondii (Cordero del Campillo, M., 1999).

En el ganado ovino, la Toxoplasmosis adquirida suele cursar de forma subclínica, excepto en hembras gestantes primo-infectadas, capaces de transmitir la infección al feto durante la fase septicémica. La infección durante los primeros 50 días de gestación causa la muerte rápida del embrión, y se puede confundir con infertilidad de la hembra. La infección entre los 50 y 60 días de gestación provoca también la

muerte del feto, y puede ir seguida de expulsión fetal, retención del feto con momificación. Entre los 60 y 120 días de gestación el feto suele sobrevivir a la parasitemia, pudiendo ocasionar: muerte fetal con maceración, aborto tardío, parto prematuro, nacimiento de corderos débiles que mueren a los pocos días. La primo-infección por T. gondii en ovejas primíparas confiere en la especie ovina una inmunidad protectora que impediría la infección del feto en futuras gestaciones. La respuesta inmunitaria evitaría, así mismo, la repetición del aborto toxoplásmico (Cordero del Campillo, M., 1999).

En humanos la infección puede ser adquirida de forma congénita o post-natal. La infección congénita ocurre solamente cuando la mujer se infecta por primera vez durante el embarazo (Hill D., Dubey J., 2002). Ésta genera mecanismos de defensa que protegen al feto contra futuras re-infecciones (Freyre A., 1989). Mientras que la madre raramente presenta síntomas de la infección, cursa temporalmente con una parasitemia. Primero provoca una infección generalizada en el feto, luego la infección se extiende a tejidos viscerales y puede alojarse en el sistema nervioso central. Algunos de los síntomas pueden incluir desde visión ligeramente disminuida hasta coriorretinitis. En casos esporádicos los síntomas pueden ser más espectaculares e incluir hidrocefalia, convulsiones y calcificación intracerebral (Hill D., Dubey J., 2002).

La incidencia de la Toxoplasmosis congénita humana demostró ser de 1 a 6 cada 1000 nacimientos (Freyre A. y col., 2009). De los niños que se infectan con Toxoplasma gondii durante su vida fetal el 5 a 15% muere, 8 a 10% tienen lesiones cerebrales y oculares severas, 10 a 13% presentan daño visual moderado a severo y 58 a 72% son clínicamente normales al nacimiento, pero una proporción importante de ellos desarrolla posteriormente coriorretinitis o retraso mental (Freyre A., y col., 1999).

A pesar de que las mujeres con anticuerpos contra T. gondii no deberían preocuparse por una posible transmisión congénita de Toxoplasmosis a sus fetos, estas mujeres sólo representan el 30% de la población en riesgo. El 70% restante debería evitar el contacto con las heces de los gatos y la carne cruda durante el embarazo (Bowman D., 2011).

En la adquisición post-natal de la infección la sintomatología puede ser localizada o generalizada (Hill D., Dubey J., 2002).

Si bien la infección toxoplásmica es frecuente, solamente un 25% de las personas que se infectan presentan sintomatología clínica (Freyre A., 1992). En muchos casos se observa linfoadenopatía (observación clínica más frecuente), fiebre, fatiga, mialgia, cefalea y dolor de garganta (Hill D., Dubey J., 2002).

3.3. Importancia de la Toxoplasmosis.

En relación a la Toxoplasmosis humana se ha estimado que el riesgo para el feto de contraer la enfermedad oscila entre 2 y 4 de cada 1000 niños, en Montevideo. De

acuerdo con ello, en Uruguay nacen unos 150 niños afectados de Toxoplasmosis anualmente (Freyre A. y col., 1999).

Además, Toxoplasma gondii se considera un importante organismo patógeno en pacientes inmunodeprimidos por otras enfermedades subyacentes.

Un estudio realizado en Uruguay en 1990 sugiere que el modo de infección de los humanos a través de los ooquistes emitidos con las heces de los gatos sería el más común durante la infancia. Sin embargo, es posible que luego de esta etapa comience a tomar importancia la infección por quistes toxoplásmicos al consumir carne infectada insuficientemente cocida (Freyre A. y col., 1991).

Se conoce que la carne vacuna no es una fuente importante de infección, que en la carne ovina la prevalencia de Toxoplasma gondii oscila entre 18,2% y 30,6%, y que la carne de cerdo es la más importante para la transmisión de la Toxoplasmosis humana.

Toxoplasma gondii se distribuye en forma inespecífica en los órganos y músculos del cerdo, pudiendo persistir en cortes comerciales por más de 2 años luego de la infección. Los quistes toxoplásmicos contenidos en esta carne pueden sobrevivir a -12ºC durante 3 días. En un estudio realizado en el año 1991 en nuestro país, se determinó que de un total de 600 cerdos el 70% fueron reaccionantes positivos a los test utilizados para la detección de anticuerpos anti-toxoplásmicos, concluyendo que la carne de cerdo desempeña un papel principal en la infección toxoplásmica de origen cárnico en Uruguay (Freyre A. y col., 1991).

Entre los rumiantes, Toxoplasma gondii tiene especial importancia en los ovinos en los que causa infertilidad, aborto y muerte perinatal (Freyre A., 1992).

Desde el punto de vista de la salud pública, se estima que en Europa el 50% de la carne ovina está parasitada y en países como Estados Unidos, Nueva Zelanda y Gran Bretaña, la Toxoplasmosis congénita ovina representa una de las principales causas de abortos y mortalidad neonatal en esta especie (Cordero del Campillo, M., 1999).

Toxoplasma gondii ha sido identificado como el agente etiológico que ocasiona mayores pérdidas reproductivas en ovinos en Uruguay. Las pérdidas totales de corderos se estiman entre 15 y 32% por año. En un estudio realizado en el país entre los años 1992-1994 con 1613 ovejas, se determinó que el 28,7% tenían anticuerpos contra T. gondii durante la gestación y 38,5% conservaba anticuerpos luego del parto, concluyendo que el 9,8% de las ovejas tenían riesgo de aborto (Freyre A. y col., 1999).

Las mayores pérdidas productivas para la industria ovina nacional lo constituye la pérdida de carne de cordero. Esta pérdida se estima en aproximadamente U$S 10-12 por cordero, estimándose una pérdida anual de U$S 1.400.000-4.680.000 para la industria ovina en Uruguay (Freyre A. y col., 1999).

4. Objetivos.

4.1. Objetivo general.

4.1. a. Realizar una revisión de los experimentos realizados en relación a la Toxoplasmosis congénita, en Facultad de Veterinaria de Montevideo en los últimos 10 años (2003-2013).

4.2. Objetivos específicos.

4.2. a. Describir los diferentes modelos animales que han sido empleados para el estudio de la Toxoplasmosis congénita.

4.2. b. Abordar la transmisión congénita de la enfermedad en la etapa aguda y crónica comparando los resultados obtenidos utilizando diferentes modelos animales con la especie humana y ovina.

4.2. c. Establecer ventajas y desventajas de los distintos modelos animales profundizando sus aspectos más relevantes.

5. Modelos animales utilizados para el estudio de la Toxoplasmosis congénita.

Para la investigación de la Toxoplasmosis congénita, se han utilizado diferentes modelos animales, con el objetivo de crear una vacuna que permita prevenir la infección o al menos la sintomatología clínica en humanos, evitar la infección en animales destinados al consumo humano, y en los gatos disminuyendo la

grupo control de ratas no inmunizadas recibió la misma dosis de desafío. Los tejidos de los recién nacidos se bioensayaron en ratones para determinar la presencia de T. gondii en los mismos.

Otro de los experimentos (n° 2) consistió en inmunizar un grupo de ratas y desafiarlas utilizando 10^4 ooquistes de las mismas cepas.

Se diseñó otro experimento (n° 3) similar al primero, pero utilizando ratas Fischer, con el objetivo de comparar entre ellas la protección alcanzada y la tasa de transmisión congénita utilizando una dosis 50 veces menor que la inoculada en el experimento nº 1 a las ratas Sprague-Dawley. Un grupo de ratas Fischer se inmunizó por vía oral con quistes de la cepa Prugniaud de T. gondii, 2 meses prev.

En el experimento nº 1 se observó que los bioensayos fueron negativos en ratas que habían recibido taquizoítos de la cepa Prugniaud por vía subcutánea, así como aquellas que recibieron taquizoítos de la cepa ME-49.

En los experimentos nº 2 y 3 los intentos de inmunizar ratas por inoculación subcutánea de taquizoítos o de bradizoítos seguida por supresión farmacológica resultaron infructuosos, ya que en el experimento número 2, todas las ratas desafiadas con ooquistes (3 de 3) y 7 de 8 ratas desafiadas con bradizoítos transmitieron la Toxoplasmosis en forma congénita a sus fetos. La razón por la cual no se obtuvo protección utilizando la vía subcutánea es difícil de determinar con precisión. Se cree que la vía oral es más eficaz que otras vías para realizar la inmunización.

El método de esterilización farmacológica del experimento nº 4 resultó efectivo.

En el experimento nº 5 la protección fue total en 7 ratas desafiadas con bradizoítos. En este experimento los taquizoítos protegieron completamente contra desafíos realizados utilizando bradizoítos. Sin embargo, la protección contra el estadio ooquístico fue nula: 2 de 3 ratas desafiadas con este estadio de la cepa M-7741 transmitieron la Toxoplasmosis a sus fetos (López L., 2007).

En el año 2008, en la Facultad de Veterinaria de Montevideo se estableció la dosis de desafío de T. gondii (proporcional al peso corporal de la rata), se estudió la transmisión congénita del parásito utilizando dosis bajas de bradizoítos y ooquistes, y se determinó la interferencia de la transmisión lactogénica en este modelo.

Se formaron grupos de 8 y 12 ratas Fischer y se inocularon por vía oral con 10^3, 10^4, 10^5 bradizoítos, 10^2 o 10^3 ooquistes de la cepa Prugniaud de T. gondii a los 12 días de gestación. También se utilizó la cepa M-7741 y M3. Los recién nacidos se bioensayaron en ratones, para investigar en ellos la presencia de infección por T. gondii.

Para el estudio de la transmisión lactogénica en este modelo se utilizaron grupos de madres infectadas, a las cuales se las colocaba junto a tres recién nacidos de madres no infectadas. A los 3 días los recién nacidos se bioensayaron en ratones, y luego de 25 días se investigó mediante aglutinación directa en el suero de los ratones la presencia de anticuerpos antitoxoplásmicos.

Los resultados obtenidos de la transmisión congénita de la infección toxoplásmica utilizando dosis bajas de bradizoítos y de ooquistes se resumen en las siguientes tablas (tabla 6 y tabla 7).

No se encontraron diferencias significativas en la tasa de transmisión congénita de T. gondii en ratas que se inocularon con diferentes dosis de bradizoítos de las tres cepas utilizadas (Prugniaud, M-7741 y M3). Tampoco se encontraron diferencias significativas en cuanto a la transmisión congénita de Toxoplasmosis entre los grupos de ratas que recibieron 10^2 o 10^3 ooquistes de las cepas utilizadas.

Los resultados obtenidos en el experimento diseñado para el estudio de la transmisión lactogénica se resumen en la tabla 8.

Ninguna de las ratas que recibieron 10^3 ooquistes, 10^3 o 10^5 bradizoítos de la cepa Prugniaud por vía oral, transmitieron la infección a los neonatos por vía lactogénica.

En experimentos anteriores sólo se observó una protección parcial contra la Toxoplasmosis congénita en ratas inmunizadas y desafiadas durante la gestación con 10^3 quistes o 10^4 ooquistes de T. gondii. El resultado obtenido en el modelo rata difiere con la especie humana en cuanto a la protección completa que se observa en la mujer inmune. Se cree que esta protección parcial ocurre debido a la dosis elevada utilizada para el desafío durante la gestación en relación al peso corporal de la rata. Por esta razón, se probó utilizar en este experimento dosis más bajas para realizar el desafío. Se debe utilizar como dosis de desafío 10^4 bradizoítos o bien 10^2 ooquistes en ratas Fischer para este modelo de transmisión congénita de T. gondii.

La ausencia de transmisión lactogénica, puede explicarse debido a que el pico de parasitemia ocurre 6 días luego de la inoculación oral de quistes de la cepa Prugniaud en ratas, y es muy baja a los 10 días post-infección. Para que no ocurra interferencia con la transmisión lactogénica el bioensayo de los recién nacidos debe realizarse antes de los 3 días. El presente experimento muestra que existe muy baja probabilidad de que la transmisión lactogénica ocurra en ratas y que las mismas presentan una resistencia natural ante la infección toxoplásmica similar a la de la especie humana (Freyre A. y col., 2008).

En la Tesis de Grado titulada: Optimización del modelo rata para el estudio de la inmunidad contra la toxoplasmosis congénita: método para el diagnóstico de la gestación de la rata y frecuencia de la transmisión congénita (Telechea C., 2011) 2 grupos de ratas gestantes de la cepa Fischer, fueron inoculadas al día 12 de gestación con dosis escalonadas de bradizoítos y ooquistes para evaluar la transmisión congénita de T. gondii. Se utilizó para un grupo de ratas 10^5 y 5 x 10^5 bradizoítos de las cepas Prugniaud, M3, M-7741, y para el otro grupo 10^3 y 10^4 ooquistes de las mismas cepas de Toxoplasma gondii. El hígado y los pulmones de los recién nacidos fueron bioensayados en ratones. Luego de 25 días se investigó en el suero de los ratones receptores la presencia de anticuerpos específicos contra T. gondii. Los resultados obtenidos de la transmisión de la infección hacia los fetos, cuando se inocularon ratas con 10^3 y 10^4 ooquistes, 10^5 bradizoítos o 5 x 10^5 bradizoítos de las cepas Prugniaud, M3 y M-7741 se muestran en la tabla 9.

Se produjo la transmisión congénita de la infección toxoplásmica en una proporción significativa (no menor al 50%) en ratas que recibieron 10^3 y 10^4 ooquistes, o bien 10^5 y 5 x 10^5 bradizoítos de la cepas anteriormente mencionadas. Sin embargo no existen diferencias significativas en la frecuencia de transmisión congénita cuando las ratas recibieron 10^3 y 10^4 ooquistes, o bien 10^5 y 5 x 10^5 bradizoítos de las cepas Prugniaud, M3 y M-7741. Los resultados obtenidos reafirman la viabilidad de este modelo.

En el año 2012 en la Facultad de Veterinaria se presentó la siguiente Tesis de Grado: Optimización del modelo rata para el estudio de la inmunidad contra la Toxoplasmosis congénita: umbral de la transmisión congénita. Se inoculó un grupo de ratas Fischer con 10^4 bradizoítos y otro grupo con 10^2 ooquistes de la cepa Prugniaud, M3 y M-7741 de T. gondii, al día 12 de gestación. Se determinó el porcentaje de transmisión congénita iniciada con dosis mínimas de bradizoítos y ooquistes (dosis umbral) en las camadas recién nacidas, en función de la cepa y los

estadios de Toxoplasma gondii. Los resultados de la transmisión congénita de la infección toxoplásmica al inocular ratas por vía oral con 10^2 ooquistes o 10^4 bradizoítos de las cepas Prugniaud, M3 y M-7741 de T. gondii se muestran en la tabla 10.

No hubo diferencias significativas de transmisión entre cepas, ni al utilizar diferentes dosis, ni entre dosis según los estadios de T. gondii utilizados. No es confiable utilizar dosis menores a 10^2 ooquistes de T. gondii, ni menores de 10^4 E U D G L] R t W R V \ D T X H H V W D V G R V L V S X H G H Q F R Q V L G H U D
de Toxoplasmosis congénita (Vitabar V., 2012).

5.2. Modelo ratón.

Los primeros estudios realizados en ratones se llevaron a cabo en 1988 por McLeod, y consistieron en la inmunización de ratonas Swiss Webster con cepas mutantes de T. gondii.

Luego, Roberts y Alexander (1992) estudiaron la transmisión congénita de la Toxoplasmosis durante la etapa crónica en ratonas BALB/c.

En la Facultad de Veterinaria de Montevideo se realizaron estudios de la transmisión congénita de la Toxoplasmosis en la etapa aguda, así como la transmisión congénita de Toxoplasma gondii originada por infecciones con números conocidos de bradizoítos.

Para evaluar la transmisión congénita durante la etapa aguda de la enfermedad, las ratonas BALB/c ByJ se inocularon oralmente con 10^3 o 10^4 bradizoítos de la cepa Prugniaud de T. gondii a los 12 días de gestación, y se alojaron individualmente en cajas de parición. Los ratones recién nacidos fueron bioensayados inmediatamente luego del nacimiento. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 11.

La menor frecuencia de transmisión observada cuando se utilizó una dosis más alta (10^4 bradizoítos), se debió sin duda a un número bajo de animales utilizados. Se observó en este experimento que la transmisión de la infección aguda durante la gestación ocurre con una frecuencia considerable. Esta es una condición favorable para la viabilidad del modelo murino de toxoplasmosis congénita.

En otro experimento se evaluó la protección contra la Toxoplasmosis congénita. Para ello, las ratonas BALB/c fueron inoculadas por vía oral con 10^4 bradizoítos de la cepa Prugniaud de T. gondii 45 días previos a la gestación. A los 12 días de gestación recibieron una dosis de desafío: 10^3 o 10^4 bradizoítos de la cepa Prugniaud por vía oral y se enjaularon en forma individual. Los ratones recién nacidos se bioensayaron inmediatamente luego del nacimiento. En este experimento se pudo apreciar que ninguna de las 7 ratonas inmunizadas antes de la concepción y desafiadas durante la gestación, transmitieron la infección a su descendencia, es decir que la inmunización ejerció un efecto protector en el 100% de los casos. Sin embargo, ocurrieron mortinatos (Rodríguez A., 2004).

También se estudió la transmisión congénita durante la etapa crónica de la enfermedad evaluando la relación entre la dosis infectiva y la tasa de transmisión congénita. Además, se realizaron experimentos de protección homóloga y heteróloga. Se utilizaron ratonas BALB/c que fueron inoculadas con 10^4 bradizoítos de la cepa Prugniaud de T. gondii, 45 días previos a la gestación, y luego del parto, a los recién nacidos se les realizó un bioensayo en ratones, para el estudio de la transmisión de la enfermedad durante la etapa crónica. Se observó que hubo transmisión congénita de T. gondii en la etapa crónica de la enfermedad en 2 de 10 crías. Se cree que esta tasa de transmisión no es un inconveniente en este modelo ratón, si se toman en cuenta los controles adecuados.

En otro experimento se estudió la transmisión congénita de Toxoplasma gondii iniciada con dosis específicas de bradizoítos, así como la transmisión lactogénica. La transmisión congénita iniciada con dosis específicas de bradizoítos y ooquistes fue testeada por primera vez en el modelo ratón. Las ratonas se inocularon con 10^3 bradizoítos de la cepa Prugniaud o con 10^2 o 10^3 bradizoítos de la cepa M-7741 y M3. Los recién nacidos se bioensayaron en ratones. Los resultados de este experimento se resumen en la tabla 12.

Como resultado de estos experimentos se desprende que 10^2 o 10^3 bradizoítos son capaces de provocar infección congénita con un porcentaje cercano al 50%, independientemente de la cepa utilizada.

Para el estudio de la transmisión lactogénica, los ratones nacidos de madres inoculadas con 10^3 bradizoítos fueron bioensayados y reemplazados con recién nacidos de madres no inoculadas. Estos últimos fueron bioensayados en ratones luego de tres días. No se detectó dicha transmisión (tabla 12).

También se estudió la transmisión de la Toxoplasmosis congénita utilizando ooquistes de T. gondii. Para ello se inocularon ratonas a los 12 días de gestación con 10^2 o 10^3 ooquistes de la cepa Prugniaud o bien 10^2 ooquistes de la cepa M-7741.

No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de transmisión congénita de T. gondii en los diferentes grupos.

Es posible obtener un porcentaje de transmisión congénita de T. gondii cercano al 50% utilizando 10^2 o 10^3 ooquistes.

Los resultados obtenidos en este experimento se muestran en la tabla 13.

En otro experimento se investigó la protección homóloga y heteróloga inducida por una infección toxoplásmica previa a la concepción. Para ello, las ratonas se inocularon con 10^4 bradizoítos de la cepa Prugniaud, y 30 días después se buscó en el suero anticuerpos específicos contra T. gondii. Luego de 45 días se colocaron en jaulas junto con machos, y a los 12 días de gestación, recibieron 10^3 o 10^4 bradizoítos de la cepa Prugniaud como desafío. Los recién nacidos fueron bioensayados en ratones. En un experimento de protección heteróloga, el diseño experimental se repitió, pero las hembras fueron inmunizadas con 2×10^1 quistes de la cepa ME-49 por vía oral y desafiadas con 10^3 bradizoítos de la cepa M3. En todos los ratones inoculados con la cepa Prugniaud o ME-49 se encontraron anticuerpos contra T. gondii. Ninguna de 7 ratonas inmunizadas 45 días previos a la concepción

y desafiadas durante la gestación con la misma cepa de T. gondii (desafío homólogo), transmitieron la infección a sus fetos. Cuando las ratonas se inmunizaron con la cepa ME-49 y se desafiaron durante la gestación con bradizoítos de la cepa M3, 1 de 10 transmitió la infección congénitamente a sus fetos. Se observó que la protección heteróloga fue menos consistente que la homóloga.

Se demostró que la ratona BALB/c puede mantener una respuesta inmune capaz de proteger contra un desafío durante la gestación, la cual se asemeja a la protección natural contra la Toxoplasmosis que se observa en la especie humana y ovina (Freyre A. y col., 2006).

5.3. Modelo hamster.

El hamster ha sido utilizado para varios modelos experimentales de Toxoplasmosis, entre ellos: el estudio de la transmisión congénita durante la etapa crónica de la infección, y la protección conferida por cepas mutantes de Toxoplasma gondii contra un desafío durante la gestación.

Se investigó la tasa de transmisión de la Toxoplasmosis durante las etapas aguda y crónica, y por vía lactogénica.

Para verificar la transmisión durante la etapa crónica de la enfermedad, 22 hembras recibieron 2 x 10^2 quistes de la cepa ME-49 de T. gondii por vía oral. Otras 10 hembras recibieron 4 x 10^1 ooquistes de la cepa ME-49 por vía oral. Luego de 60 días se colocaron junto a los machos, en relación 4:1. Los recién nacidos se bioensayaron en ratones. Luego del primer parto, las hembras fueron alojadas nuevamente con machos y el diseño experimental se repitió. De 32 hembras utilizadas en este experimento, sólo 3 de ellas transmitieron la infección durante la etapa crónica en forma congénita durante la primera gestación. Ninguna de ellas transmitió el parásito congénitamente en su segunda gestación. Es necesario que las hembras sean inmunizadas previo a la primera gestación y desafiadas durante la segunda gestación, para asegurar que un resultado positivo no sea producido por la transmisión de la infección durante la etapa crónica.

En otro experimento, se estudió la transmisión durante la etapa aguda de la enfermedad, originada con números precisos de bradizoítos u ooquistes. 78 hembras con 12 días de gestación se inocularon con las siguientes dosis de desafío: 10^3 o 10^4 bradizoítos, 10^2 o 10^4 ooquistes de la cepa Prugniaud y M-7741, y con 10^3 ooquistes de la cepa M3 de T. gondii. Las hembras se alojaron en forma individual en cajas de parición. Los recién nacidos se bioensayaron inmediatamente luego del nacimiento. Los resultados obtenidos en este experimento se muestran en la tabla 14.

La dosis utilizada de 10^4 ooquistes de la cepa M-7741 provocó la muerte de los hamsters previo al parto, por lo que el experimento se interrumpió.

Las dosis más bajas inoculadas que produjeron transmisión congénita fueron 10^3 bradizoítos y 10^2 ooquistes, independientemente de la cepa de T. gondii utilizada. Se obtuvieron porcentajes de transmisión de 25 a 33%, y de 25 a 61% cuando se utilizó 10^3 y 10^4 bradizoítos, respectivamente; y de 50 a 100% al desafiar con 10^2 a 10^4 ooquistes de T. gondii.

Para estudiar la transmisión lactogénica durante la etapa aguda de la infección, los hamsters nacidos de madres inoculadas con el parásito (10^2 o 10^3 ooquistes de la cepa Prugniaud, 10^2 ooquistes M-7741, y 10^4 bradizoítos de la cepa Prugniaud y M-7741) fueron bioensayados y reemplazados por hamster recién nacidos de madres no inoculadas. Luego de 3 días, estos hamster fueron bioensayados, en busca de T. gondii. De 17 hembras, 8 transmitieron el parásito por vía lactogénica. 7 de 8 hembras que transmitieron el parásito por vía lactogénica, lo transmitieron también congénitamente. La transmisión lactogénica de T. gondii compromete al modelo hamster debido a que un resultado positivo puede ser interpretado como transmisión congénita, siendo transmisión lactogénica. Para evitar esta situación es conveniente separar a los recién nacidos de sus madres de forma inmediata (Freyre A. y col., 2009).

En el año 2011 se estudió acerca de la protección contra la Toxoplasmosis congénita al inocular quistes y ooquistes del parásito en el modelo hamster, con cepas de diferentes genotipos. En el experimento nº 1 se investigó la protección conferida por una infección toxoplásmica iniciada previo a la concepción con la cepa ME-49 de T. gondii, contra el desafío realizado con la cepa M-7741 del mismo, durante la gestación. 8 hembras se inocularon 45 días previos a la concepción con 2 x 10^2 bradizoítos de la cepa ME-49 de T. gondii. A la primera progenie se le realizó la eutanasia. A los 12 días de la siguiente gestación, 2 de las hembras recibieron un desafío de 2 x 10^1 quistes de la cepa M-7741 como desafío. 12 hembras gestantes no inmunizadas se inocularon durante la gestación con una dosis de desafío similar, y se utilizaron como controles. Los hamster recién nacidos se bioensayaron inmediatamente luego del nacimiento. 6 hembras que habían sido inmunizadas previo a la primera concepción con la cepa ME-49 recibieron una dosis de desafío más alta: 10^3 quistes de la cepa M-7741. 8 hamsters fueron inoculados con similares dosis de desafío (controles). Además, 8 hamsters fueron inoculados con 2 x 10^2 bradizoítos ME-49, utilizándolos como control de la transmisión durante la etapa crónica en la segunda gestación. Los recién nacidos se bioensayaron en ratones. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 15.

No se observó transmisión congénita de la infección en hamsters inmunizados con quistes de la cepa ME-49 previo a la gestación y desafiados durante la segunda gestación con la cepa M-7741 de T. gondii.

En otro experimento, 60 hembras fueron inoculadas con 10^3 taquizoítos de la cepa RH y simultáneamente medicadas con 180mg de sulfadiazina por vía oral durante 20 días. Luego de 5 días, los hamsters que sobrevivieron se revacunaron con 5 x 10^4 taquizoítos de la cepa RH, y no se medicaron. Luego de 30 días, las hembras que sobrevivieron se colocaron en jaulas junto a un macho. El diseño experimental es similar al anterior, excepto que las hembras se desafiaron durante la gestación con 10^4 bradizoítos o 10^2 ooquistes de la cepa Prugniaud y M-7741 o con 10^3 ooquistes de la cepa Prugniaud y M3. 68 hamsters no inmunizados se inocularon con una dosis de desafío, siendo utilizados como control de la transmisión. 10

hamster inmunizados con la cepa RH pero no desafiados con otras cepas, se utilizaron como control de la transmisión de la cepa RH durante la segunda gestación luego de la infección. Ninguno de los recién nacidos de madres desafiadas con los diferentes estadios y dosis de la cepa Prugniaud estaban infectados con el parásito. No se observó transmisión incluso cuando las madres fueron desafiadas con 10^4 bradizoítos de la cepa M-7741, ni con 8 crías nacidas de madres desafiadas con 10^2 ooquistes de la cepa M-7741. Sin embargo, 3 de 15 hamsters nacidos de madres desafiadas con 10^3 ooquistes de la cepa M3, estaban infectados con T. gondii. Todos los grupos control mostraron algún porcentaje de transmisión, entre 25 y 77%. Ninguno de 10 hamster no desafiados, inoculados con RH, transmitieron el parásito a su descendencia. Fue estadísticamente significativa la protección total que se obtuvo en hamsters inmunizados con la cepa RH contra el desafío con bradizoítos de la cepa Prugniaud y M-7741, y contra ooquistes de la cepa M-7741. En el caso que se desafío con bradizoítos M-7741 hubo una protección aparente del 100% pero no es significativo estadísticamente. También hubo una protección aparente parcial (67%) contra ooquistes M3, pero tampoco es significativo estadísticamente.

Con estos resultados se presume que el modelo hamster se comporta de una forma similar a lo que sucede tras una infección toxoplásmica en las especies humana y ovina, en las cuales una infección previa a la gestación protege al feto de una infección durante la misma. En el modelo hamster, se constató la transmisión congénita de T. gondii durante la etapa crónica de la enfermedad.

Una de las desventajas de este modelo es que debe esperarse a la segunda gestación luego de la inmunización con la cepa RH previo al desafío.

El hamster es más susceptible a la infección con la cepa RH que la rata, y presenta una susceptibilidad similar que el ratón BALB/c. La infección con la cepa RH en el hamster debe ser controlada con sulfadiazina, en cambio la rata sobrevive luego de la infección con RH sin necesidad de aplicar dicho tratamiento.

Se observó protección completa contra la Toxoplasmosis congénita tras el desafío con quistes y ooquistes de tres cepas de T. gondii (Freyre A. y col., 2011).

5.4. Modelo cobayo.

Este modelo es considerado valioso porque aunque su gestación dura más del doble que la gestación de la rata o ratona, la vida reproductiva del cobayo es también proporcionalmente más prolongada, con lo cual puede ser utilizado para comprobar la duración de la inmunidad por un período de tiempo mayor.

Este modelo se ha utilizado en varios experimentos de transmisión congénita. Uno de ellos consistió en estudiar la factibilidad de la transmisión en una infección originada por ooquistes toxoplásmicos, utilizando dosis muy pequeñas, es decir, estableciendo la dosis umbral de T. gondii utilizando ooquistes de la cepa Prugniaud. Se formaron 2 grupos de 9 hembras, recibiendo un grupo 10^3 y otro grupo 10^2

ooquistes por vía oral, durante la gestación, entre la sexta y la séptima semana. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 16.

La transmisión congénita de T. gondii ocurrió casi en la misma proporción, independientemente de la dosis de ooquistes utilizada, por lo cual se decidió emplear la dosis más baja (10^2 ooquistes) para el desafío de la prueba vaccinal en futuros ensayos de inmunización pre-gestacional y posterior desafío durante la gestación. Esta puede ser considerada la dosis umbral. Contrasta la alta tasa de transmisión congénita observada en el modelo cobayo, con las tasas intermedias de transmisión obtenidas en ratones BALB/c y ratas Fischer. La conocida mayor susceptibilidad del cobayo a la Toxoplasmosis con respecto a la mayor resistencia natural de la rata y el ratón BALB/c explicaría esta diferencia (Magnin A., 2012).

6. Ventajas y desventajas comparativas de los modelos rata, ratón, hamster y cobayo.

Se han realizado numerosos experimentos con cada uno de estos modelos, con el objetivo de estudiar la forma de transmisión del parásito, la resistencia a la enfermedad y la inmunidad protectora conferida al utilizar como desafío diferentes cepas del mismo. Se evaluó cuál de estos modelos presentaba mayor similitud con lo sucedido en las especies humana y ovina.

Para poder establecer las ventajas y desventajas comparativas entre ellos se consideraron otros aspectos relevantes como: docilidad de los animales de laboratorio seleccionados, practicidad para detectar la gestación en los mismos, costos asociados a infraestructura y mantenimiento de los animales para la puesta en marcha y seguimiento de los experimentos.

La Toxoplasmosis en ratas y humanos es muy similar, considerando la forma de transmisión congénita y el curso clínico de la enfermedad (Dubey J., Frenkel J., 1997). Las ratas adultas son resistentes a la Toxoplasmosis clínica.

La transmisión congénita puede ocurrir en un alto porcentaje cuando las mismas se infectan por primera vez durante la gestación. Sin embargo, una infección crónica con T. gondii previene la infección fetal luego de realizar un desafío durante la gestación (Zenner L. y col., 1999; Dubey J., Frenkel J., 1997). Otra ventaja que presenta este modelo es que existe muy baja probabilidad de que la transmisión lactogénica ocurra (Freyre A. y col., 2008). Por tales motivos este modelo puede ser utilizado para el estudio de la Toxoplasmosis congénita (Zenner L. y col., 1999).

En el ratón se observó que la transmisión congénita de la infección aguda durante la gestación ocurre con una frecuencia considerable (Rodríguez A., 2004). No se detectó transmisión por vía lactogénica. Se demostró que la ratona BALB/c puede mantener una respuesta inmune capaz de proteger contra un desafío durante la gestación, la cual se asemeja a la protección natural contra la Toxoplasmosis que se observa en la especie humana y ovina.

Las ventajas que presenta el modelo ratón frente al modelo rata son: requiere menor espacio, los costos para su mantenimiento son más bajos, son más fáciles de manipular, y las dosis de T. gondii requeridas son más bajas.

Como desventajas del modelo ratón se plantean: una mayor dificultad para obtener la fecha del inicio de la gestación, y que algunas ratonas inoculadas con ooquistes durante la gestación mueren previo al parto (Freyre A. y col., 2006).

En el modelo hamster se observó transmisión congénita de T. gondii durante la etapa crónica en la primera gestación, sin embargo no se observó en las sucesivas gestaciones. La transmisión lactogénica de T. gondii observada en el hamster hace que éste no sea un buen modelo para el estudio de la Toxoplasmosis congénita (Freyre A. y col., 2009).

Debido a que el cobayo presenta una gestación y una vida reproductiva más prolongada en el tiempo que la de la rata o ratona, puede ser utilizado para comprobar la duración de la inmunidad por un período de tiempo mayor (Magnin A., 2012). Además, la placenta tiene una estructura similar a la de la especie humana, lo que sugiere que la transmisión congénita se produce de forma semejante (Flori P. y col., 2002).

La principal desventaja que se plantea en este modelo es que presenta una mayor susceptibilidad a la Toxoplasmosis con respecto a la rata y el ratón (Magnin A., 2012).

7. Discusión.

En experimentos realizados en el modelo rata por Dubey y Shen (1991) se observó que la transmisión congénita de la Toxoplasmosis ocurre solo cuando las ratas se infectan por primera vez durante la gestación, y no se produce durante la etapa crónica de la infección. En el año 1993, Zenner y col. demuestran que la infección crónica en ratas protege contra un desafío durante la gestación, evitando así la transmisión congénita de T. gondii, tal como se observa en humanos.

En experimentos realizados para evaluar la transmisión congénita durante la etapa aguda de la enfermedad, se observó que ésta se produce independientemente del estadio de T. gondii utilizado, la vía o el momento de inoculación (7 a 15 días de gestación) (Dubey J., Shen S., 1991). En los experimentos realizados en la Facultad de Veterinaria de Montevideo también se observaron resultados similares: la frecuencia de transmisión no se vio afectada por la cepa, dosis, momento de la inoculación (Freyre A. y col., 2001), o estadio de T. gondii (Freyre A. y col., 2002). No se detectó transmisión lactogénica del parásito (Dubey J., Shen S., 1991; Freyre A. y col., 2008). Sin embargo Sepúlveda (2003) observó transmisión lactogénica en ratas Fischer infectadas por vía oral con 250 quistes de la cepa Prugniaud de T. gondii durante la gestación. Según Freyre (2008) esta divergencia puede ser explicada por la excesiva dosis utilizada para inocular las ratas, la cual es desproporcionada en relación al peso corporal de las mismas.

En el modelo ratón se demostró que la transmisión congénita de T. gondii durante la etapa aguda de la infección ocurre con una frecuencia considerable (Rodríguez A., 2004). Otros investigadores obtuvieron resultados similares. Roberts y Alexander (1992) observaron un 20% de transmisión congénita al inocular ratones con una dosis de 2×10^1 quistes de T. gondii. Según Dubey y Shen (1991) en el modelo ratón ocurre transmisión congénita durante la etapa crónica y varias generaciones nacen infectadas con T. gondii, por lo que no es un modelo viable para el estudio de la Toxoplasmosis congénita.

En experimentos realizados en Facultad de Veterinaria de Montevideo se observó que hubo transmisión congénita de T. gondii durante la etapa crónica de la enfermedad, sin embargo, esta tasa de transmisión no representa un inconveniente en este modelo, si se toman en cuenta los controles adecuados (Freyre A. y col., 2006). Roberts y Alexander (1992) no obtuvieron transmisión congénita durante la etapa crónica de la enfermedad, las ratonas infectadas con T. gondii durante la etapa crónica generaron inmunidad capaz de proteger al feto de la transmisión congénita, incluso cuando se desafió durante la gestación. En experimentos realizados en Facultad de Veterinaria de Montevideo se demostró que la ratona BALB/c es capaz de mantener una respuesta inmune que protege al feto contra un desafío durante la gestación, similar a la protección natural contra la Toxoplasmosis que se observa en la especie humana y ovina (Freyre A. y col., 2006).

En el hamster se observó transmisión congénita durante la etapa crónica de la infección toxoplásmica, en la primera gestación, pero no se repitió en sucesivas gestaciones. Se obtuvieron porcentajes de transmisión congénita de la Toxoplasmosis durante la etapa aguda de 25 a 100% al desafiar con bradizoítos y ooquistes de T. gondii. La transmisión lactogénica de T. gondii observada en este modelo es un inconveniente, ya que un resultado positivo puede ser interpretado

erróneamente como transmisión congénita (Freyre A. y col., 2009). Se demostró protección contra la Toxoplasmosis congénita tras el desafío con quistes y ooquistes de algunas cepas de T. gondii, similar a lo que sucede tras una infección toxoplásmica en las especies humana y ovina (Freyre A. y col., 2011).

Las altas tasas de transmisión congénita de T. gondii observadas en el modelo cobayo al inocular ooquistes también fueron observadas por otros investigadores. (Magnin A., 2012). Se han realizado otros experimentos en los que se determinó que la transmisión congénita en este modelo se produce de forma similar a los humanos (Haumont M. y col., 2000). Se observó un 66 a 86% de protección contra la transmisión congénita de T. gondii luego de la inmunización previo a la gestación con una proteína recombinante (SAG1), y tras el desafío con taquizoítos del parásito (Haumont M. y col., 2000).

8. Conclusiones.

La rata ha sido la especie de elección para el estudio de la Toxoplasmosis congénita debido a la similitud de la resistencia a la enfermedad que presenta con respecto a la especie humana y ovina. La transmisión congénita de T. gondii en la rata se produce durante la etapa aguda de la infección en un alto porcentaje, siendo que durante la etapa crónica ésta no ocurre debido a que la inmunidad generada protege al feto. Esta situación se observa también en humanos y ovinos. Otra ventaja de este modelo es que no se observó interferencia en la transmisión congénita por vía lactogénica.

El ratón es menos resistente a la Toxoplasmosis que la rata, y si bien algunos investigadores (Dubey J., Shen S., 1992) mencionan que no es un modelo adecuado porque se observó transmisión congénita durante la etapa crónica de la infección, otros (Freyre A. y col., 2006) sostienen que esta situación no es un inconveniente para este modelo. Tampoco se observó transmisión por vía lactogénica en el ratón. Por lo tanto el modelo ratón podría ser adecuado para el estudio de la Toxoplasmosis congénita.

El hamster presenta una susceptibilidad mayor a la Toxoplasmosis que la observada en la rata. Se demostró transmisión congénita durante la etapa crónica de la infección solamente durante la primera gestación, pero no en las subsiguientes.

Se demostró además la interferencia de la transmisión por vía lactogénica de T. gondii en el modelo hámster, lo cual representa una desventaja para su utilización y lo vuelve no tan adecuado como la rata y el ratón para el estudio de la Toxoplasmosis congénita.

En el modelo cobayo se han realizado muy pocas investigaciones en Facultad de Veterinaria, habiéndose demostrado la transmisión congénita de T. gondii durante la etapa aguda de la infección, quedando pendientes estudios más profundos acerca de la transmisión durante la etapa crónica, además de la posible interferencia de la transmisión lactogénica.

Este trabajo pretendió resumir las investigaciones realizadas en la Facultad de Veterinaria de Montevideo por el Prof. Dr. Alvaro Freyre, durante 10 años y dejar así abierta la posibilidad de que nuevos equipos de trabajo puedan continuar con esta línea de investigación.

Tabla 1.

Resultado de la transmisión de Toxoplasmosis congénita al inocular ratas Wistar por vía oral con quistes de cepas de alta, intermedia o baja patogenicidad de T. gondii.

Cepa de T. gondii	**Dosis**	**Fecha de inoculación (2)**	**Resultado (1)**	**% de transmisión congénita de** T. gondii
Alta patogenicidad				
M-7741	10^3	15	2/6	33%
M-7741	2×10^2	15	6/8	75%
Patogenicidad intermedia o baja				
M3	10^3	15	6/11	55%
Hopa-Hopa	10^3	15	3/7	43%
KSU	10^3	15	2/13	15%
KSU (*)	10^3	15	4/8	50%
Rodent	10^3	15	2/5	40%
KSU	10^3	8	1/6	17%
La Plata	10^3	6		

Tabla 14.
Resultado de la transmisión congénita de T. gondii en hamsters tras la inoculación oral con ooquistes de las cepas Prugniaud y M-7741, durante la gestación.

	Cepas de T. gondii **(1)**		
Dosis	**Prugniaud**	**M-7741**	**M3**
10^3 bradizoítos	2/6	2/8	
10^4 bradizoítos	8/13	3/12	
10^2 ooquistes	10/13	6/10	NR
10^3 ooquistes	NR	NR	6/10
10^4 ooquistes	6/6	NR	NR

(1) nº de ratas que transmitieron T. gondii congénitamente/nº de ratas inoculadas.
NR: no realizado.
Extraído de Freyre A. y col., (2009).

Tabla 15.
Resultado de la inmunización de hamsters con 2 x 10^2 bradizoítos de la cepa ME-49 previo a la gestación y posterior desafío durante la segunda gestación con quistes de la cepa M-7741.

Dosis (cepa M-7741)	**Grupo inmunizado (1)**	**Grupo control (2)**
2 x 10^1 quistes	0/2	3/12
10^3 quistes	0/6	2/8

(1) nº de hembras inmunizadas que transmitieron congénitamente la infección toxoplásmica / nº total de hembras inmunizadas.
(2) Hembras no inmunizadas desafiadas con T. gondii durante la gestación que transmitieron la infección congénitamente/ nº total de hembras no inmunizadas y desafiadas durante la gestación.
Extraído de Freyre A. y col., (2011).

Tabla 16.
Resultado de los ensayos de transmisión congénita de T. gondii al inocular hamsters con 10^2 o 10^3 ooquistes de la cepa Prugniaud durante la gestación.

Cepa de T. gondii	**Dosis**	**Resultado (1)**
Prugniaud	10^2	8/9
Prugniaud	10^3	9/9

(1) nº de hamsters que transmitieron la infección congénitamente/ nº total de hamsters inoculados. Extraído de Magnin A. (2012).

9. Bibliografía.

1. Bowman D. (2011) Parasitología para veterinarios. 9a ed. Barcelona, Ed. Elsevier Saunders, 453 p.

2. Cardoso A. (2005) Investigación de la inmunidad cruzada en la Toxoplasmosis congénita experimental. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria de Montevideo, 17 p.

3. Cordero del Campillo, M. (1999) Parasitología veterinaria. Madrid, Ed. McGraw-Hill-Interamericana, 968p.

4. Dubey J., Frenkel J. (1997) Toxoplasmosis of rats: a review, with consideration of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. Vet Parasitol; 77:1-32.

5. Dubey J., Shen S. (1991) Rat Model of Congenital Toxoplasmosis. Infect Immun; 59: 3301-3302.

6. Flori P., Hafid J., Bourlet T., Raberin H., Genin C., Tran Manh Sung R. (2002) Experimental model of congenital Toxoplasmosis in guinea-pigs: use of quantitative and qualitative PCR for the study of maternofetal transmission. J Med Microbiol; 51: 871-878.

7. Freyre A. (1989) Toxoplasmosis en las especies domésticas y como zoonosis. Montevideo, Ed. Dpto. de Publicaciones de la Universidad de la República, 332 p.

8. Freyre A. (1992) Prevención de la Toxoplasmosis humana y animal. Diagn Biol; 41: 87-95.

9. Freyre A., Araujo F., Fialho C., Bigatti L., Falcón J. (2011) Protection in a hamster model of congenital Toxoplasmosis. Vet Parasitol; 183: 359-363.

10. Freyre A., Bonino J., Falcón J., Castells D., Correa O., Casaretto A. (1999) The incidence and economic significance of ovine Toxoplasmosis in Uruguay. Vet Parasitol; 81: 85-88.

11. Freyre $ & R O R P E R $ ' µ $ Q J H O R -) D O F y Q - Toxoplasmic infection in swine in Uruguay and its zoonotic significance. Avan Cienc Vet; 6: 166-171.

12. Freyre A., Falcón J., Cedda C. (1990) El papel de la carne vacuna en la adquisición de la infección toxoplásmica. Iber Parasitol; 50: 15-24.

13. Freyre A., Falcón J., Correa O., Méndez J., Venzal J. (1999) Título de la ponencia Seminario Enfermedades Parasitarias en Uruguay, sus fundamentos y consecuencias sociales y económicas. Montevideo, Uruguay, p. 89-94.

14. Freyre A., Falcón J., Méndez J., González M. (2008) Toxoplasma gondii: An improved rat model of congenital infection. Exp Parasitol; 120: 142 ±146.

15. Freyre A., Falcón J., Méndez J., González M., Venzal J., (2001) Some factors influencing transmission of Toxoplasma in pregnant rats fed cysts. Parasitol Res; 87: 941-944.

16. Freyre A., Falcón J., Méndez J., González M., Venzal J., Morgades D., (2002) Fetal Toxoplasma infection after oocyst inoculation of pregnant rats. Parasitol Res; 89: 352-353.

17. Freyre A., Falcón J., Méndez J., Rodríguez A., Correa L., González M. (2005) Toxoplasma gondii: partial cross-protection among several strains of the parasite against congenital transmission in a rat model. Exp Parasitol; 112: 8-12.

18. Freyre A., Falcón J., Méndez J., Correa O., Morgades D., Rodríguez A. (2004) An investigation of sterile immunity against Toxoplasmosis in rats. Exp Parasitol; 107: 14-19.

19. Freyre A., Falcón J., Méndez J., Rodríguez A., Correa L., González M. (2006) Refinement of the mouse model of congenital Toxoplasmosis. Vet Parasitol; 113: 154-160.

20. Freyre A., Fialho C., Bigatti L., Araujo F., Falcón J., Méndez J., González M. (2009) Toxoplasma gondii: Congenital transmission in a hamster model. Exp Parasitol; 122: 140-144.

21. González P. (2007) Ensayo de la protección contra la Toxoplasmosis congénita obtenida mediante la cepa RH, en el modelo rata. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria de Montevideo, 18 p.

22. Haumont M., Delhaye L., García L., Jurado M., Mazzu P., Daminet V., Verlant V., Bollen A., Biemans R., Jacquet A. (2000) Protective immunity against congenital Toxoplasmosis with recombinant SAG1 protein in a guinea pig model. Infect Immun; 68: 4948-4953.

23. Hill D., Dubey J. (2002) Toxoplasma gondii: transmission, diagnosis and prevention. Clin Microbiol Infect; 8:634-640.

24. Jongert E., Roberts C., Gargano N., Förster-Waldl E., Petersen E., (2009) Vaccines against Toxoplasma gondii: challenges and opportunities. Mem Inst Oswaldo Cruz; 104: 252-266.

25. López L. (2007) Ensayo de la protección contra Toxoplasmosis congénita obtenida mediante la inmunidad estéril por las vías subcutánea e intravenosa, en el modelo rata. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria de Montevideo, 21 p.

26. Magnin A. (2012) Transmisión de la Toxoplasmosis congénita experimental en el modelo cobayo. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria de Montevideo, 27p.

27. Roberts C., Alexander J., (1992) Studies on a murine model of congenital Toxoplasmosis: vertical disease transmission only ocurrs in BALB/c mice infected for the first time during pregnancy. Parasitol; 104: 19-23.

28. Rodríguez A. (2004) Modelo murino de inmunidad contra la Toxoplasmosis congénita. II) Detección de la gestación por colpocitología, su combinación con el tapón mucoso; transmisión congénita iniciada con quistes y protección prototípica. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria de Montevideo, 12 p.

29. Soulsby E. (1988) Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7a ed. México D.F., Ed. Interamericana, 823 p.

30. Telechea C. (2011) Optimización del modelo rata para el estudio de la inmunidad contra la Toxoplasmosis congénita: método para el diagnóstico de la gestación de la rata y frecuencia de la transmisión congénita. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria de Montevideo, 21 p.

31. Torres X. (2007) Ensayo de la protección contra la Toxoplasmosis congénita obtenida mediante la premunición y mediante inmunidad estéril por la vía oral, en el modelo rata. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria de Montevideo, 21 p.

32. Vitabar V. (2012) Optimización del modelo rata para el estudio de la inmunidad contra la Toxoplasmosis congénita: umbral de la transmisión congénita. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria de Montevideo, 27p.

33. Zenner L., Darcy F., Cesbron-Delauw M., Capron A. (1993) Rat model of congenital Toxoplasmosis: rate of transmission of three Toxoplasma gondii strains to fetuses and protective effect of a chronic infection. Infect Immun; 61: 360-363.

34. Zenner L., Estaquier J., Darcy F., Maes P., Capron A., Cesbron-Delauw M. (1999) Protective immunity in the rat model of congenital Toxoplasmosis and the potential of excreted-secreted antigens as vaccine components. Parasite Immun; 21:261-272.