

LSD 464

Rev. Inst. salubr. enferm. trop., México
17, 75 (1957).

REVISTA DEL INSTITUTO DE SALUBRIDAD
Y ENFERMEDADES TROPICALES

Tomo XVII — Núm. 2 — Junio de 1957

México, D. F.

UTILIZACION DEL PEZ *LEBISTES RETICULATUS* (GUPPY)
EN EL DIAGNOSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS

GERARDO VARELA, LUIS PALENCIA Y ARMANDO VÁZQUEZ

Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales

México, D. F.

El diagnóstico serológico de la toxoplasmosis se ha venido haciendo por varios métodos tales como la fijación del complemento (Warren y Sabin, 1942); pero esta técnica es complicada y no es suficientemente sensible.

Otro de los procedimientos usados es la prueba del colorante o de la modificación citoplásmica (Sabin y Feldman, 1948) que hasta ahora ha demostrado ser la más útil y que ha sido modificada (Pangalos y Col., 1956) tiñendo los toxoplasmas con May-Grunwald-Giemsa para facilitar la lectura de los resultados. La prueba del colorante exige, entre otras cosas, la conservación del toxoplasma vivo por pases frecuentes en ratones.

La hemoaglutinación (Jacobs y Lunde, 1957) ha sido usada en el diagnóstico de la toxoplasmosis, pero su aplicación es laboriosa y también requiere disponer de cepas vivas de toxoplasma.

La investigación de la reacción alérgica usando lisados de toxoplasmas parece ser útil en encuestas epidemiológicas (Biagi, 1953, Varela y col., 1953); pero su importancia como método de diagnóstico es limitada, pues aparentemente la sensibilidad cutánea al antígeno del toxoplasma es tardía e inconstante.

Después de encontrar (Varela y col., 1956) la existencia de una sustancia que posiblemente sea la dietilamida del ácido d-lisérgico (LSD 25) en la infección por el *Toxoplasma gondii*, hemos tratado de

explorar las posibilidades que este hallazgo tiene para el diagnóstico de la toxoplasmosis.

METODOS Y RESULTADOS

La técnica que empleamos para la extracción de la posible dietilamida del ácido d-lisérgico (LSD 25) ha sido la siguiente: el triturado del material del que se hace la extracción lo tratamos agitándolo con dos a cinco volúmenes de piridina (C_5H_7N) según su consistencia. Después se centrifuga y el líquido sobrenadante se calienta en baño de agua a $55^{\circ}C$. haciéndole pasar una corriente de aire para eliminar la piridina. El residuo que resulta se disuelve en 20 c.c. de agua de la llave poniéndola en un tubo de 195 por 22 mm. para que tenga suficiente agua el pequeño pez que se colocará en tal recipiente. En ese líquido hacemos la prueba de Cerletti y Berle (1955) que se ha recomendado para buscar la dietilamida del ácido d-lisérgico. Esta prueba consiste en poner en el extracto diluido uno o dos peces hembras *Lebistes reticulatus* (Guppy). Estos peces son de color gris verdusco y si la prueba es positiva el animal se ennegrece, lo que puede ser apreciado desde los 10 a 15 minutos. Termina de oscurecerse a las dos horas aproximadamente. Se puede observar al microscopio que los cromatóforos de la aleta dorsal han estallado (Figs. I y II).



Fig. 1.—Aleta dorsal del *Lebistes reticulatus*, con los cromatóforos que aparecen como pequeñas líneas.



Fig. 2.—La aleta dorsal después de haber puesto el pez en extracto de toxoplasma. Los cromatóforos aparecen como manchas estrelladas negras.

Hemos tratado con la técnica descrita, cerebros, exudado peritoneal y bazo de ratones infectados con *Toxoplasma gondii*. La prueba resulta positiva después del tercer día de la infección y es sensible hasta el uno por diez mil o más de la dilución del extracto descrito previamente. Estudiamos asimismo cerebros de ratas con toxoplasmosis crónica, de ratas con infección aguda de *Trypanosoma lewisi*, ratones con infección aguda de *Plasmodium berghei*, ratas con infección de *Trichinella spiralis*, sangre total de cobayos con infección aguda de toxoplasma, bazo, cerebro y lavado peritoneal de ratones normales. Los resultados se consignan en el siguiente cuadro:

RESULTADOS DE LA BUSCA DE LA POSIBLE DIETILAMIDA DEL ACIDO D-LISERGICO

MATERIAL EMPLEADO	PRUEBAS BIOLÓGICAS CON <i>Lebistes reticulatus</i>
Ratones con infección aguda de <i>Toxoplasma gondii</i>	
Cerebro	Positiva intensa
Exudado peritoneal	Positiva intensa
Bazo	Positiva
Ratones sanos	
Cerebro	Negativa
Lavado peritoneal	Negativa
Bazo	Negativa
Ratas con infección crónica de <i>Toxoplasma gondii</i>	
Cerebro	Positiva

Cobayos con infección aguda de <i>Toxoplasma gondii</i> Sangre total	Positiva
Ratas con infección aguda de <i>Trypanosoma lewisi</i> Cerebro	Negativa
Ratones con infección aguda de <i>Plasmodium berghei</i> Cerebro	Negativa
Ratas con infección de <i>Trichinella spiralis</i> Músculos	Negativa
Cultivos de <i>Toxoplasma gondii</i> en tejidos	Negativa

Obtuvimos resultados positivos para LSD 25 únicamente en las infecciones por *Toxoplasma gondii* en ratones, ratas y cobayos. En otras parasitosis tales como las de *Trypanosoma lewisi*, *Plasmodium berghei*, *Trichinella spiralis*, la busca de LSD 25 fue negativa. Los cultivos de toxoplasma en tejidos también fueron negativos. (Células Hella.)

DISICUSION

Los resultados positivos obtenidos en el *Lebistes reticulatus* con la prueba de Cerletti y Berde (1955) usando sangre total de cobayo infectado con toxoplasma, nos hace pensar que pueden hacerse estudios similares en la infección natural del hombre.

Es interesante hacer notar que los cultivos de toxoplasma dan resultados negativos para el LSD 25; probablemente sólo en el organismo vivo se libera o se produce la sustancia encontrada por nosotros.

Existen diversos métodos biológicos para la investigación de LSD 25 que son: el tratamiento de arañas con esta sustancia; después de ser inyectados estos animales son incapaces de reconstruir sus telas apropiadamente. Otro de los procedimientos es la utilización de ratas (Winter y Flataker, 1956) en las que previamente han sido desarrollados reflejos condicionados; después de la administración de LSD 25 se modifica sensiblemente la conducta de estos roedores. También se emplean los llamados "peces peleadores siameses" (*Betta splendens*); después de poner LSD 25 en el agua donde viven, estos peces sufren trastornos psicobiológicos consistentes en cambios de su actitud tranquila normal; hacen movimientos de torsión, adoptan posturas que no toman habitualmente y se erizan (Abramson y Evans, 1954). Hemos llevado a cabo investigaciones de este tipo con *Betta splendens* y nuestros extractos de toxoplasma, pero nuestra experiencia es aún limitada.

CONCLUSION

Consideramos que la prueba de Cerletti y Berle (1955) para el LSD 25 que hemos utilizado en el estudio de nuestros extractos, es la más fácil de practicar. El *Lebistes reticulatus* es un pez común en México y aún se cree que es originario de este país.

Hasta ahora los resultados que tenemos en el estudio químico de nuestros extractos han revelado que tienen las reacciones de los alcaloides (Frohde, Keller y Mayer), que también comparte el LSD 25. Estamos tratando de conocer más la naturaleza química de la sustancia que produce el *Toxoplasma gondii*.

Si estudios posteriores nos demuestran que no es LSD 25 lo que recogemos de animales con infección toxoplásmica, su presencia constante en esta enfermedad podría ser utilizada de todos modos para el diagnóstico de la toxoplasmosis.

RESUMEN

Se presentan los primeros estudios para utilizar en el diagnóstico de la toxoplasmosis, la acción sobre el pez *Lebistes reticulatus* (Guppy) de una sustancia, posiblemente la dietilamida del ácido d-lisérgico, que encontramos en los animales de laboratorio infectados por *Toxoplasma gondii*.

SUMMARY

Herewith are presented the first studies towards the utilization in the diagnosis of toxoplasmosis of the action on the *Lebistes reticulatus* (Guppy) of a substance, possibly the dietilamide of the d-lysergic acid, which has been found by the authors in laboratory animals infected with *Toxoplasma gondii*.

REFERENCIAS

- ABRAMSON, H. A. y EVANS, L. T. 1954. "Lysergic acid diethylamide (LSD 25): II. Psychobiological effects on the Siamese fighting fish". *Science*. 120, 3128: 990-991.
- BIAGI, F. F. 1953. "Intradermo-reacciones con tuberculina y toxoplasmina en Escárcega, Campeche, México. Trasmisión de la toxoplasmosis". *Medicina Rev. Mexicana*. 678:268-272.
- CERLETTI, A., BERLE, B. 1955. *Experientia*. 11, 312.

- JACOBS, L. Y LUNDE, M. N. 1957. "Hemagglutination Test for Toxoplasmosis". Science. 125, 3256:1035.
- PANGALOS, G. E., PAVLATOS, M Y MERCIER, P. 1956. "The Sabins-Feldman dye test". Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 50, 6:583-586.
- SABIN, A. Y FELDMAN, H. A. 1948. "Dyes as microchemical indicator of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (toxoplasma)". Science. 108:660.
- VARELA, G., MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, A. E. Y TREVIÑO, A. 1953. "Toxoplasmosis en la República Mexicana". Rev. Inst. Salub. Enf. Trop. México, 12, 3:217-224.
- VARELA, G., VÁZQUEZ, A. Y TORROELLA, J. 1956. "Probable existencia de la dietilamida del ácido d-lisérgico en la infección por *Toxoplasma gondii*". Rev. Inst. Salub. Enf. Trop. México, 16, 4:29-32.
- WARREN, J. AND SABIN, A. B. 1942. "The complement fixation reaction in toxoplasmosis infection". Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 51:11.
- WINTER, C. A. Y FLATAKER, L. 1956. "Effects of Lysergic Acid Diethylamide upon performance of trained rats". Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 92:285.
- Agradecimientos: Al Dr. M. Ramos-Alvarez por su ayuda para cultivar el toxoplasma en tejidos. Al Sr. Alfonso Tort que nos colectó los peces usados en el Estado de Morcos, Rep. Mexicana.