

Coloración del toxoplasma Gondii con Giemsa-Walker

LUIS PALENCIA*

PARA EL ESTUDIO morfológico e identificación del *Toxoplasma gondii*, se han empleado las técnicas generales de coloración de hemoparásitos, como son el Wright y Giemsa. Faust (1957).

Los estudios realizados sobre la biología de este microorganismo, han demostrado que tiene un marcado pleomorfismo que está relacionado con la reproducción y los métodos de fijación, Jacobs (1956).

La técnica de coloración de Giemsa-Walker, propuesta para la observación e identificación del Plasmodium, permite resaltar la morfología de este parásito, Walker (1955). De acuerdo con esto y según la experiencia obtenida en esta técnica, Palencia (1960) se pensó en la posibilidad de su empleo en la coloración del *T. gondii*.

En esta comunicación exponemos el resultado obtenido por medio de la coloración de Giemsa-Walker, en la identificación del *T. gondii*, así como un estudio comparativo con la técnica de Wright y Giemsa.

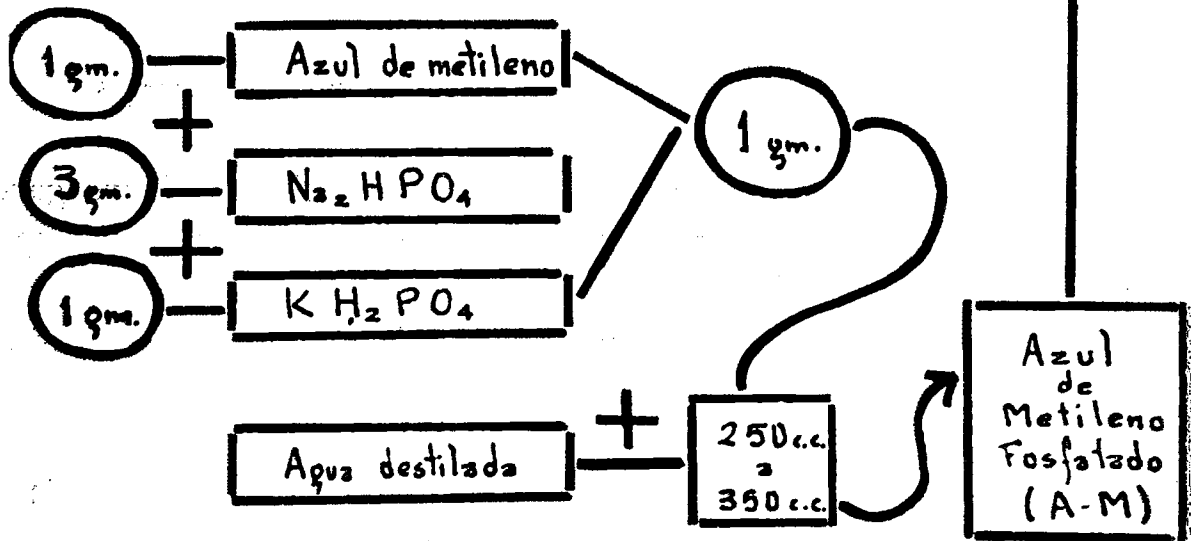
MATERIAL Y MÉTODO

La técnica de coloración seguida corresponde a la descrita por Walker (1955), y que en forma esquemática detallamos a continuación.

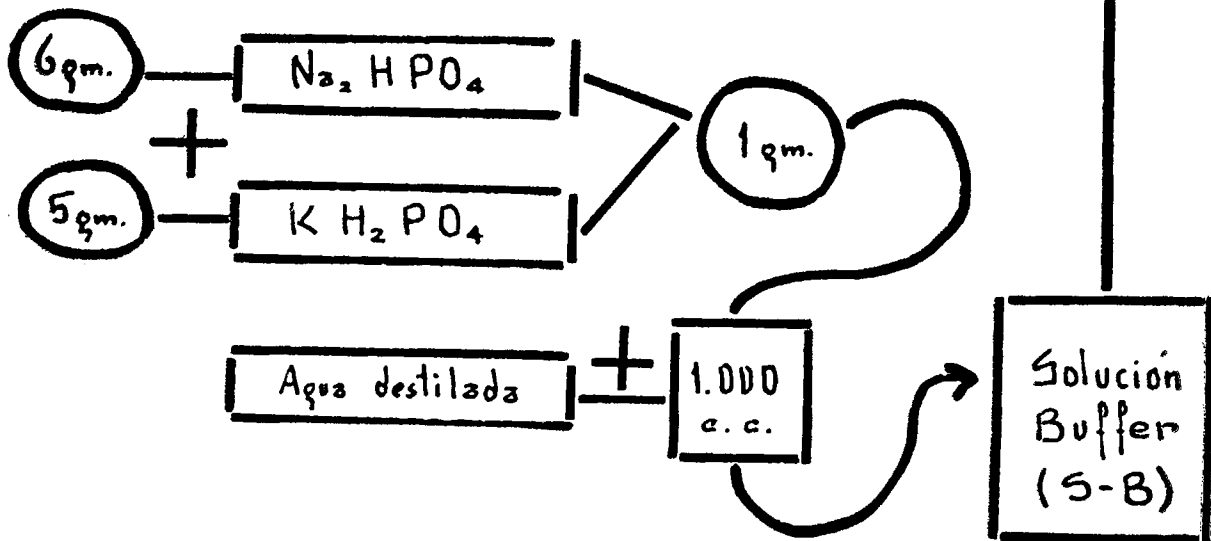
*Profesor e Investigador de Tiempo Completo del Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Medicina, U. N. A. M.

Preparación de reactivos para la coloración de Giemsa-Walker

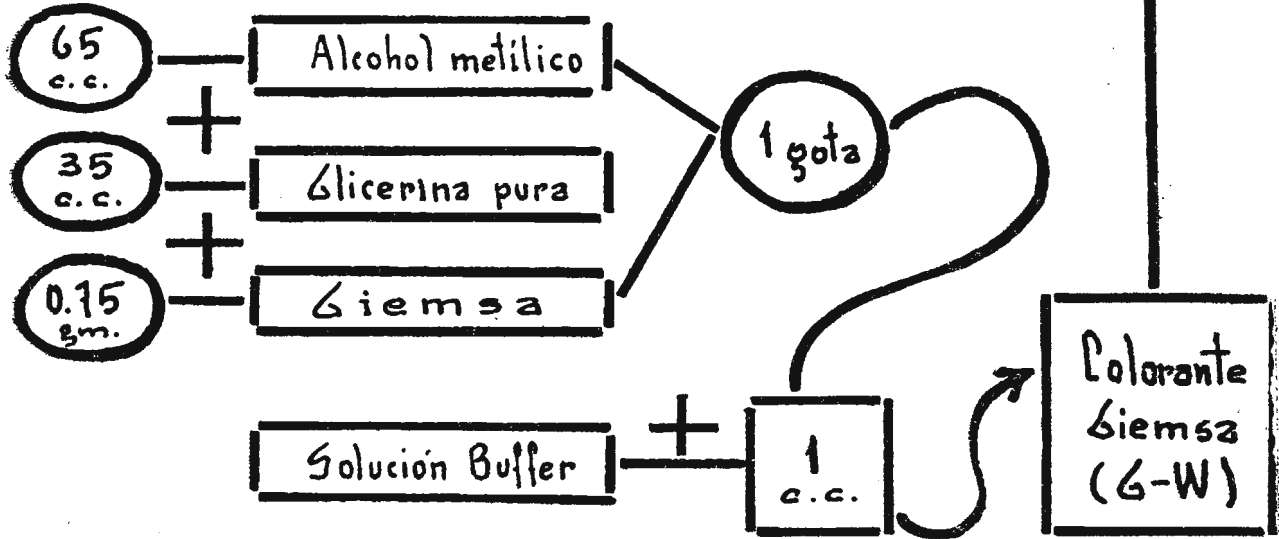
R. No. 1



R. No. 2



R. No. 3

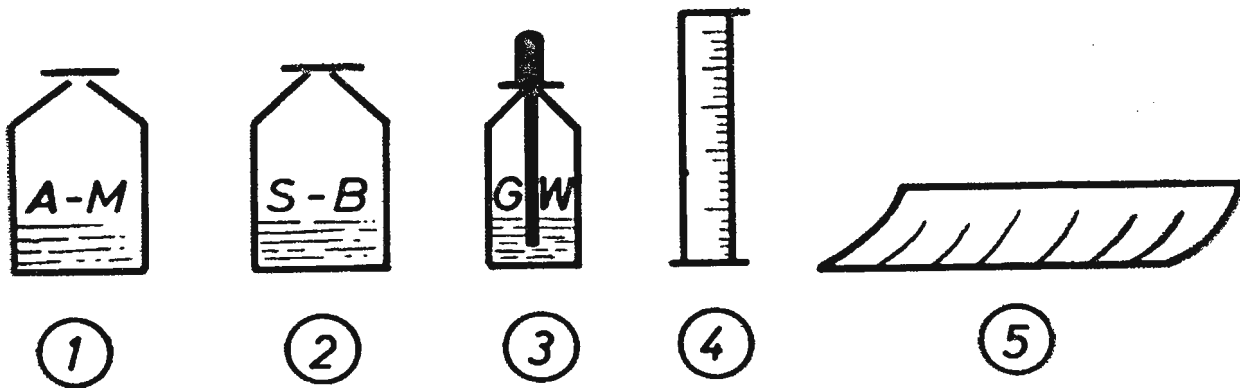


Dr. Palencia
Mex-60

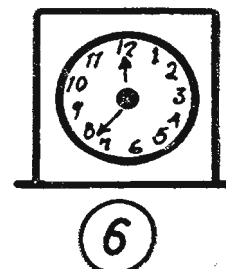
NOTA:

A la mezcla de alcohol metílico y glicerina, depositada en un balón, se le agrega el colorante en polvo y unas 50 perlas de vidrio, que facilitan la homogenización. Se agita intensamente unas 10 veces por día, durante 3 días y luego se filtra.

Material :

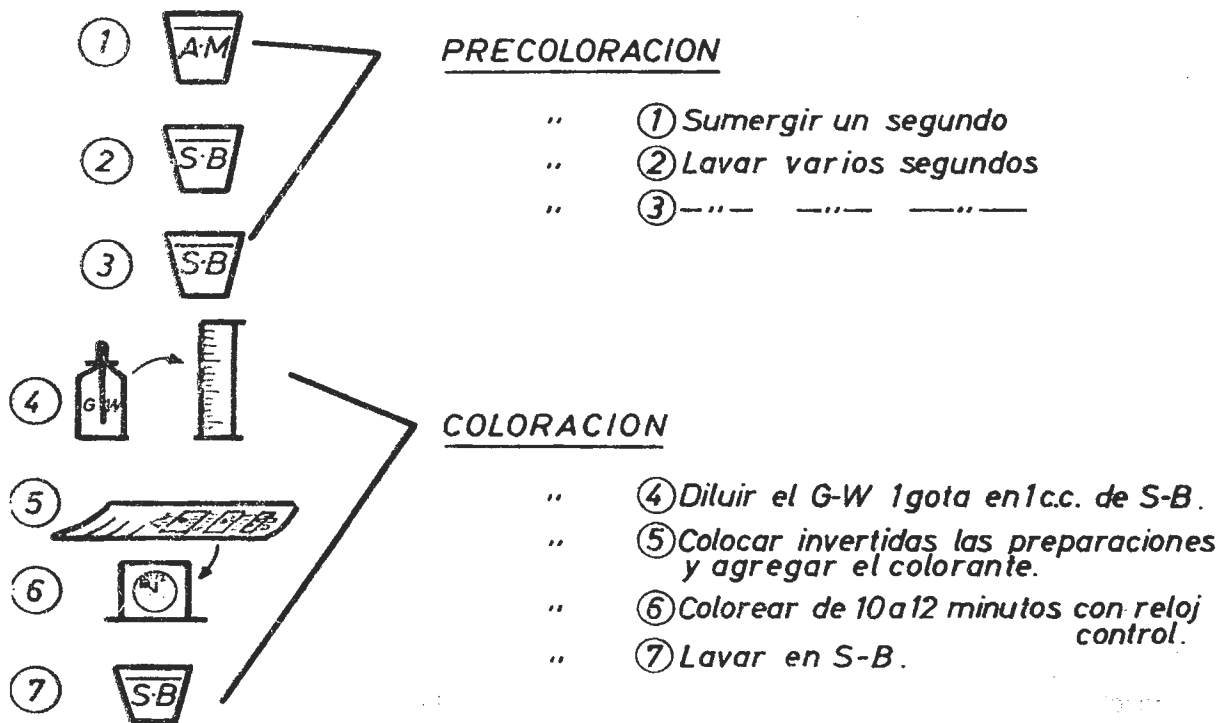


- ① Azul de metileno fosfatado: A-M.
- ② Solución Buffer: S-B.
- ③ Giemsa - Walker: G-W.
- ④ Probeta.
- ⑤ Placa de plástico.
- ⑥ Reloj de control.



Dr. L. Palencia F.
Mex. 60

Técnica de coloración]:



PRECOLORACION

- " ① Sumergir un segundo
- " ② Lavar varios segundos
- " ③ --- --- ---

COLORACION

- " ④ Diluir el G-W 1gota en 1cc. de S-B.
- " ⑤ Colocar invertidas las preparaciones y agregar el colorante.
- " ⑥ Colorear de 10 a 12 minutos con reloj control.
- " ⑦ Lavar en S-B.

Dr. L. Palencia F.
Mex. 60

NOTA:

Como puede observarse en la coloración en placa, la preparación se coloca en posición invertida, lo que hace que el colorante actúe por adherencia y la gravedad determine el que las partículas extrañas a la preparación se depositen sobre la placa. Esto hace que la deshemoglobinización, se realice en una forma más completa, pues las moléculas de hemoglobina se desprenden fácilmente del frotis para depositarse sobre la superficie de la placa (esquema), así como los restos de detritus de la preparación y precipitados del colorante, lo que determina una coloración más limpia, más nítida y mejor contrastada.

Este procedimiento de coloración en placa, puede utilizarse en otras coloraciones, pues por experiencias que estamos realizando, ha demostrado su aplicación y ventajas.

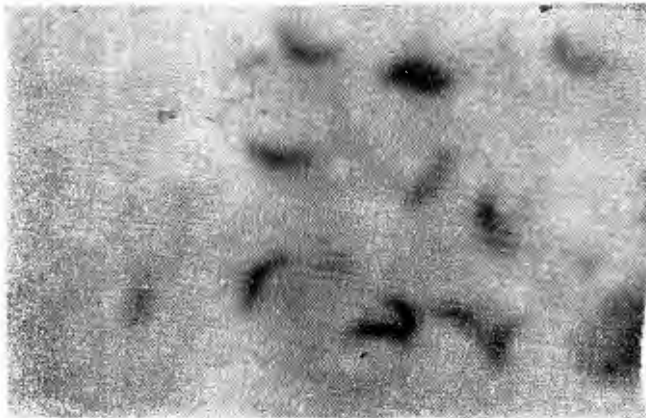
EXPLICACION DE LA TÉCNICA

La precoloración tiene por objeto facilitar la coloración de los microorganismos, pues tal parece que predispone a los elementos celulares para tomar el Giemsa-Walker. Además tiene un efecto deshemoglobinizante y de preservación. Esto último permite conservar las preparaciones por algún tiempo sin que se deterioren, antes de ser coloreadas, circunstancia que ofrece ventajas sobre otras coloraciones en que es necesario practicarlas de inmediato.

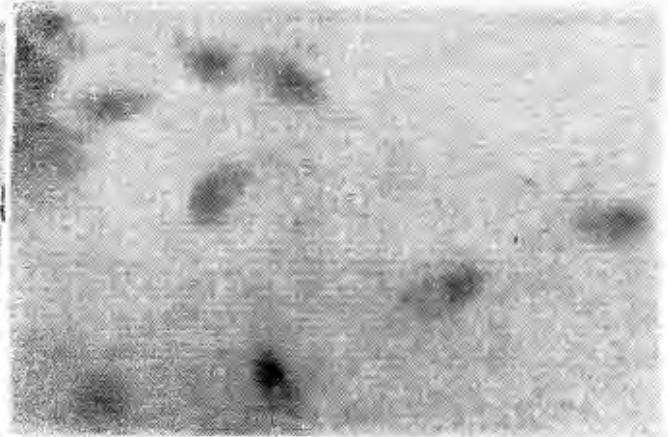
La coloración se debe efectuar con colorante preparado en el momento de usarse, el cual se agregará bien mezclado a la preparación que se colocará en posición invertida en la placa de plástico. Una vez terminado el tiempo de coloración de 10 — 12 minutos, se lava en solución buffer, se seca y se observa.

El *T. gondii* se observa con esta coloración perfectamente contrastado el núcleo y su citoplasma, así como bien definidas las diferentes formas del parásito.

R E S U L T A D O



Wright



Giemsa-Walker

Estas microfotografías de exudado peritoneal de ratón con toxoplasmosis, muestran comparativamente el resultado obtenido en las dos coloraciones.

Mientras en el Wright la morfología del parásito aparece contraída y deformada, en el Giemsa-Walker, los toxoplasmas se ven extendidos y de forma oval o redondeada, lo que permite observar mejor las características morfológicas tanto del núcleo como del citoplasma, que se ven contrastados y definidos, así como las diferentes formas del *T. gondii*.

COMENTARIO

Consideramos que la coloración de Giemsa-Walker, para la observación del *T. gondii* ofrece algunas ventajas sobre las coloraciones generalmente empleadas como son el Wright y Giemsa. Es importante hacer notar que mientras con estas coloraciones se ven los toxoplasmas contraídos, debido posiblemente al efecto de la fijación, en cambio con el Giemsa-Walker el parásito aparece extendido mostrando más claramente sus características morfológicas. Esto, tal vez se deba al efecto de la pre-coloración, que además de tener una acción deshemoglobinizante, parece que predispone al microorganismo para su tinción, haciendo que resalte más su citoplasma y núcleo.

Asimismo el hecho de utilizar un mecanismo de coloración diferente en cuanto a la acción del colorante, que actúa por adherencia y gravedad, permite obtener preparaciones limpias y mejor coloreadas.

Esta coloración fué empleada para la observación de *T. gondii* en frotis de exudado peritoneal e improntas de cerebro, bazo e hígado de ratones con toxoplasmosis aguda experimental, obteniéndose en todas estas preparaciones una identificación clara de las características morfológicas de este microorganismo.

RESUMEN

Se describe la técnica de Giemsa-Walker para la coloración del *T. gondii*, la cual permite obtener mejores preparaciones que las realizadas por Wright y Giemsa.

SUMMARY

The Giemsa-Walker stain technic it is described to dye *T. gondii*. This stain shows better results that Wright and Giemsa.

REFERENCIAS

1. Faust, E. C. y Russell, P. F.: *Craig and Faust's Clinical Parasitology*. Sixth Edition. 303-304, 1957.
2. Jacobs, L.: *Propagation, morphology and biology of Toxoplasma*. Ann. New York Acad. Sc. 64:154-179, 1956.
3. Palencia, L.: *Encuesta de malaria en Haití realizada en las experiencias rurales de un curso para microscopistas*. Rev. Fac. Méd. México. 2 (1): 57-62, 1960.
4. Walker, A. J.: *The diagnosis of malaria*. Department of Tropical Medicine and Public Health. Tulane University. School of Medicine. New Orleans 12, Louisiana. 2-27, 1955.