



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES GUAUTITLAN

Resistencia del Toxoplasma gondii en leche para consumo humano procesada a diferentes temperaturas

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
QUE PRESENTA
GLORIA MARIA JIMENEZ FREGOSO

ASESORES:

M. V. Z. MIGUEL ANGEL PEREZ ORTEGA

M. V. Z. JUAN ALFONSO MONROY JUAREZ

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E.

	Pagina
PROLOGO	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	13
RESULTADOS	17
DISCUSION	20
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	23
BIBLIOGRAFIA	24

P R O L O G O .

El propósito del presente trabajo, es la identificación y cuantificación del Toxoplasma gondii en secreción láctea de bovinos sometida a diferentes procesos, localizados en la cuenta lechera de Cuautitlán Edo. de México.

Pretenderemos medir la resistencia de T. gondii y al mismo tiempo probar si la leche es un buen medio de cultivo para el parásito, ya que se considera la toxoplasmosis una zoonosis importante y a la leche como una de las fuentes de infección.

INTRODUCCION.

La toxoplasmosis es una enfermedad infecto contagiosa de tipo parasitaria producida por el protozoario Toxoplasma gondii, que afecta a todas las especies animales tanto de sangre fría como de sangre caliente, inclusive al hombre. Fue descubierto por Nicolle y Manceaux en 1909 en un roedor (Cytenodactylus gundii) en el Instituto Pasteur de Tunes (16, 21, 23).

Se clasifica en:

Subphilum	Protozoa
Clase	Esporozoa
Orden	Coccidiida
Suborden	Eimerina
Familia	Toxoplasmidae
Género	Toxoplasma
Especie	<u>Toxoplasma gondii</u>

La toxoplasmosis se considera una zoonosis universal y al parásito de tipo eurixeno, se ha observado tanto en climas fríos como templado y tropical, no mostrando mayor incidencia en ninguna época del año (12, 23). Teniendo una morbilidad que va del 5 al 95% (25).

Morfología.- La forma vegetativa o trofozoito de T. gondii es semilunar y mide de 3.5 a 7 micras de largo por 1.5 a 4 micras

de ancho. Presenta un polo superior fino que termina en forma de cono y uno inferior esférico dándole al parásito un aspecto de pera (figura 1).

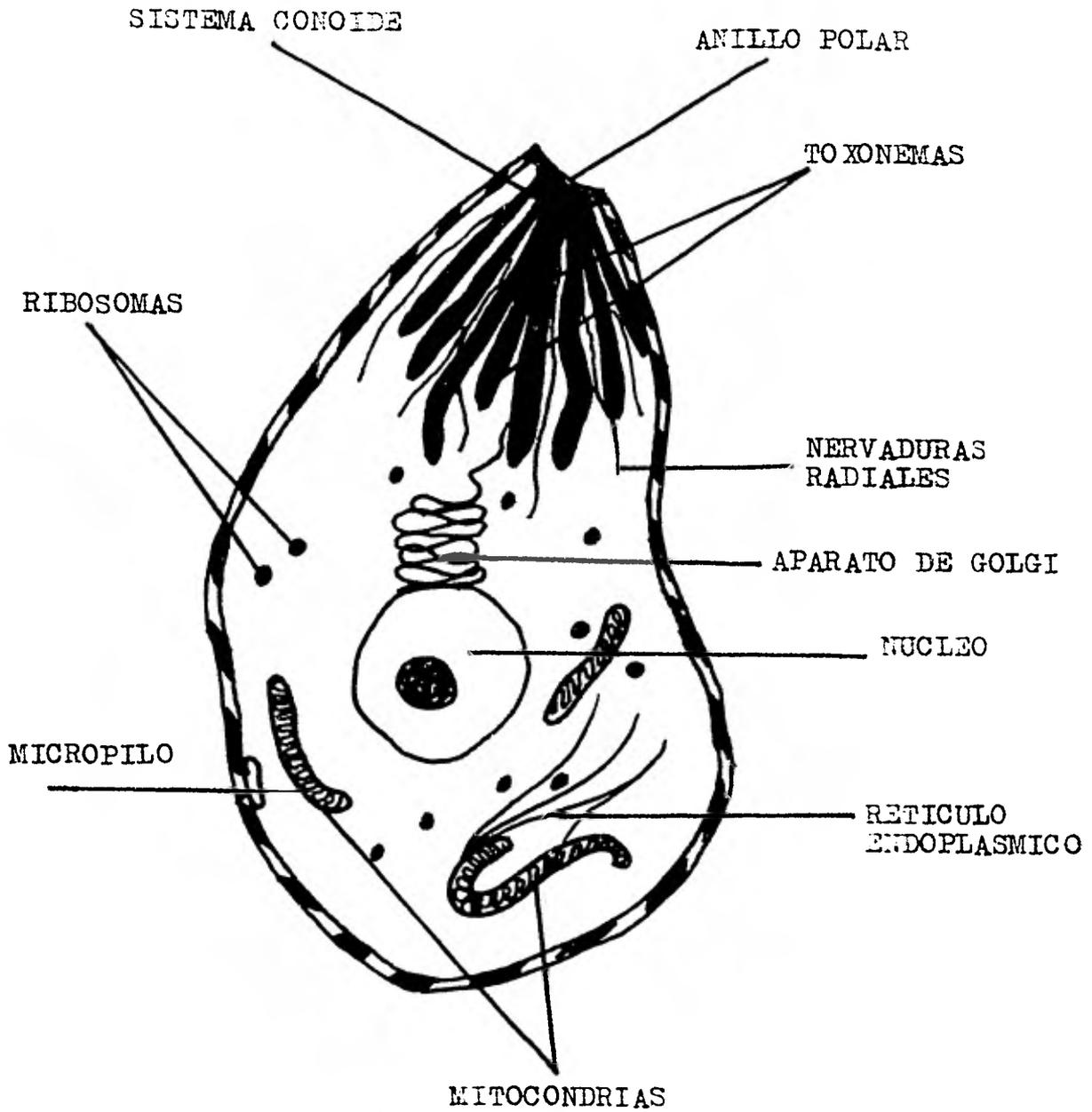
En preparaciones coloreadas con Giemsa o Wright a veces se distingue una membrana granulosa y un citoplasma teñido en azul por su reacción basófila intensa y un núcleo rojo en la parte central que no es uniforme, con pequeñas vacuolas en su interior.

En las formas intracelulares algunas modalidades del parásito son más pequeñas su forma es oval o redonda y se encuentran unidos, cuando están envueltos con una membrana sencilla se denomina quiste inmaduro prequiste o pseudoquiste. Cuando los parásitos se encuentran envueltos por una doble membrana se le denomina quiste maduro, pudiendo ser este de tres formas oval, esférica o alargada cuando se localiza en la fibra muscular (23).

El Toxoplasma gondii no posee órganos de locomoción sin embargo la movilidad se manifiesta bajo tres formas:

- a) Movimiento ondulatorio de la pared al sistema conoide.
- b) Movimiento circulatorio y de tirabuzón con el sistema conoide fijo.
- c) Movimiento de impulsión debido al citoplasma.

FIGURA 11



Reproducción.- Existen varias formas de reproducción, la más sencilla es la forma binaria longitudinal, los parásitos siguen dividiéndose dentro de la célula parasitada hasta que por presión interior estalla dejando salir las formas libres de Toxoplasma gondii, esto transcurre en 24 horas aproximadamente y es la forma infectante. T. gondii puede seguir dos caminos invadir células de tejidos o de órganos o células móviles como monocitos, linfocitos y neutrófilos, cuando se enquistan dentro de estas se da origen al pseudo quiste o quiste inmaduro por lo cual adquieren una membrana frágil o sencilla. (23).

Se ha observado que en las células epiteliales del intestino del gato se verifica un ciclo esporogónico del Toxoplasma gondii; se observan también microgametos y macrogametos, esquizontes y en las heces oocistos con dos esporoblastos, se expulsan los oocistos no esporulados que maduran después de los tres días a temperaturas que varían de 20 a 24°C, es infectante durante 17 meses (23).

Transmisión.- Hasta ahora no se conoce totalmente de transmisión y quizá la vía más importante es la ingestión de alimento contaminado, aunque puede ocurrir por transfusión sanguínea en la que existen Toxoplasmas viables y por invasión pulmonar después de la inhalación de partículas contaminadas (23), pudiendo ser por la ingestión de carne mal cocida (30), por leche (8), y por artropodos (17).

El Toxoplasma gondii es un parásito intracelular que ataca la mayor parte de los órganos internos, teniendo predilección por células del sistema retículo endotelial y sistema nervioso así como ganglios linfáticos, placenta, carúnculas y cotiledones en hembras; hígado, bazo pulmón y sistema nervioso central en fetos (10). Extracelularmente en forma libre se encuentra en líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, humor vítreo, leche, lágrimas, líquido ganglionar, orina, heces, exudado peritoneal, exudado conjuntival, exudado bronquial, exudado vaginal y exudado pleural (13, 20, 23).

El T gondii puede adquirir resistencia por dos factores

1. Provocada por drogas antiparasitarias.
2. Natural provocada por anticuerpos.

A esta forma de resistencia es lo que se conoce bajo la forma de quiste.

El quiste inmaduro representa la forma infectante y aguda de la Toxoplasmosis, el quiste maduro además de ser resistente al ácido clorhídrico y a la pepsina del jugo gástrico, resiste temperaturas de 100°C. en su forma vegetativa durante 5 minutos. Los quistes permanecen en el interior de células y tejidos sin presentar reacciones tisulares manifiestas. (23).

El T. gondii da origen a interferón parecidos al de los virus (23). La forma quística resiste mucho más que la vegetativa y dentro de la primera la forma madura es más resistente.

RESISTENCIA DEL Toxoplasma gondii.

Calor °C	Forma vegetativa	Forma quística
100	5 minutos	
80	10 minutos	
60	15 minutos	
50	30 minutos	
37	4 - 5 días	
10	30 días	
-4	20 días	
Desecación	nula	24 h variable
Sol. hipotónica	nula	variable (agua destilada 10-30')
Congelación	nula	nula

Eustaquio Rosh (1967).

En exudado peritoneal diluido en solución salina fisiológica sobreviven 66 días a 4°C , en una ampolleta cerrada a temperatura de laboratorio 12 días o más, en sangre oxalatada a -4°C un mes, carne con quistes a -4°C 4 meses (23).

En exudado peritoneal conteniendo las diversas formas de Toxoplasma expuestos a rayos solares sobrevivieron suspendidos en leche 5 horas (23).

Es sensible a la yodopolivinil pirrolidona al 1% en 5-10 minutos, al alcohol etílico al 70 y 96% en 30 segundos, a la sosa caustica y ácido clorhídrico en 30 segundos, al formol de 15 a 20 minutos, al fenol en 10 a 15 minutos. (23).

La enfermedad se puede presentar clínicamente. Se necesita que se active una reacción alérgica o hiperérgica, en el momento de una sensibilización local. Los Toxoplasmas liberados producen alérgias, los mecanismos inmunológicos parasitarios primarios explican la sintomatología explosiva. La lesión primaria constituye el punto de partida de una reacción endógena y las secuelas son debidas a la proliferación de microorganismos vivos. (10).

La Toxoplasmosis se ha visto desde la etapa fetal hasta los 90 años de vida, se encuentra en animales desde helmintos

hasta el nombre. Según Rosh uno de cada tres hombres se encuentra infectado. (23). Stagno (1980) indica que el rango de infección es de 1.1 a 1.3 de cada mil mujeres y nacen 3300 niños anualmente afectados por toxoplasmosis; el costo total de estos niños es de 291.9 millones de dólares al año en los Estados Unidos de Norteamérica. (31). Frenkel (1980) estudió la prevalencia de anticuerpos en 883 personas obteniendo el 61.4% positivos y el 66% de estos casos indicaron contacto con los gatos (11). El 75% de los niños nacidos con toxoplasmosis congénita clínicamente no presentan síntomas (31).

En el 96% de los casos de toxoplasmosis los signos clínicos aparecen en los primeros meses de vida (28), sin embargo Mondon (1980) reportó el caso de una muchacha de 18 años que sufrió de ceguera primero en el ojo izquierdo y posteriormente en el derecho sin presentar anteriormente alteración alguna(20).

Se ha aislado T. gondii en 50 de 500 caballos (10%) (1); de 50 becerros por Dye Test 4 positivos; de 90 lechones, 12 positivos; de 20 ovejas, 3 positivas; y de 20 cabras, una positiva.(5).

Se ha aislado de sangre de los 4 a 8 días postinoculación de leche de cabra por la cual la zoonosis puede ocurrir después de la ingestión de leche como lo comprueba el hecho reciente en

1980 de que un niño en California adquirió la enfermedad por ingerir leche de cabra (8).

Se colectaron muestras de suero de 206 bovinos, 250 ovinos, 170 cabras, 189 búfalos, 154 caballos, 154 burros, 34 perros en Anatolia, Turquía y se obtubieron resultados por la prueba teñida en el 40% de bovinos, 38% de ovinos, 51% de cabras, 86% de búfalos, 14% de caballos, 8% de burros y 85% de perros. (5).

Propagación.-

animal a animal	+ frecuente
animal a hombre	frecuente
hombre a hombre	congénita frecuente adquirida poco frecuente.
hombre a animal	rara.

Rosh (1975)

Todos los animales transmiten la enfermedad al hombre por medio de secreciones, principalmente por leche y por ingestión de carne cruda o mal cocida. (23). Entre los mamíferos carnívoros el perro suele ser el más infectado, el gato por ser el hospedador definitivo hasta ahora descrito, juega un papel importante en la transmisión de dicha enfermedad. La toxoplasmosis

en ovinos es importante sobre todo en hembras infectandose por perros y gatos y probablemente por comida contaminada y por medio de artrópodos, ocasionando aborto e infección congénita.

(15). Se ha aislado de leche de cabra ocasionando parasitemia de 7 a 10 días postinoculación (9).

La cepa GT1 fue patógena en ratones en el primer paso (6).

Monroy (1976) de 1237 bovinos muestreados obtuvo 224 animales positivos. Considerando la producción de leche de 45 000 bovinos se puede decir que aproximadamente hay un volumen de 80 000 litros de leche contaminados con T. gondii diarios y que son distribuidos en la ciudad de México y zonas aledañas. (21).

Sintomatología en humanos.- En niños se ha encontrado coreoretinitis, convulsiones, calcificaciones intracerebrales, retraso en el aparato psicomotor, retraso mental y ceguera que pueden aparecer o no al nacimiento. (22). Wilson dice que el 75% de los niños son asintomáticos y que posteriormente desarrollan las secuelas como coriorretinitis, deficiencias neurológicas, microcefalea e hidrocefalea. Rosh y Varela indican que el 70% de los casos de niños nacidos con microcefalia se deben a toxoplasmosis. (23, 31).

Las pérdidas auditivas ocurren en el 26% de los pacientes

infectados. (31).

Los niños asintomáticos pueden permanecer así durante años, pero subsecuentemente se manifiestan los signos. (22). La infección transplacentaria se presenta solamente cuando la madre padece la fase aguda de la enfermedad pero se han visto casos en que los niños toxoplasmicos fueron precedidos de abortos o con hermanos con alteraciones encefálicas, (28).

La infección fetal va del 17 al 65% cuando la toxoplasmosis se adquirió durante la gestación y el daño fetal es inversamente proporcional a la gestación. (25). Las secuelas aparecen en uno de cada tres casos y el 70% de los 10 a los 30 años (10).

Se ha reportado que Toxoplasma gondii es la causa más común de retino coroiditis primaria. En cuanto a la toxoplasmosis aparentemente adquirida, no es más que secuelas de la enfermedad congénita es excepcional encontrar madres con retino coroiditis de niños afectados. (10).

Sintomatología en animales.- Segun Rosh los principales transtornos son de tipo pulmonar disnea, fiebre, tos aunado con sintomas nerviosos semejantes a derriengue, parálisis muscular y convulsiones. (23). Stalheim efectuó experimentos con 10 terne

ros y de una forma u otra desarrollaron signos clínicos sin em
bargo concluyó que T. gondii en bovinos no tiene gran importanca
cia comparado con cerdos, perros y borregos y no tiene valides
en aborto de bovinos. (26). Aunque Cuevas (1981), encontro' que
de 4 vacas inoculadas, 2 por via endovenosa y 2 por via intra-
peritoneal abortaron aproximadamente a los 15 días postinoculaca
ción, eliminandose el agente por exudados vaginales en los 4 .
casos (5).

Se ha aislado el parásito de leche, carne, pulmón, hígado,
bazo y riñon. (23).y diafragma (22). Se encontró neumonía in -
tersticial con necrosis multifocal (9). En aves el Toxoplasma
gondii tiene tendencia a localizarse en ovario y pasar al hue-
vo infectando al hombre (23).

MATERIAL Y METODOS:

Material biológico: Seis muestras de leche de 100Cml de distintos establos de la zona de Cuautitlán Edo. de México en calidad de bronca adquiridas de 2 a 4 horas después de la ordeña.

Exudado peritoneal de ratones infectados con Toxoplasma gondii cepa proporcionada por el Instituto de Enfermedades Tropicales, Secretaria de Salubridad y Asistencia.

Material práctico: -Termómetros rápidos de alta precisión.
-Crioscopio electrónico.
-Acidimetro volumétrico.
-Frasco gotero.
-Pipetas de 2 y 10 ml.
-Pipetas Pasteur.
-Microscopio de luz indirecta.
-Portaobjetos y cubreobjetos.
-Mechero Bunsen.
-Refrigerador.
-Congelador.
-Tubos de ensaye.
-Vasos de precipitado.
-Matraz Erlen-meyer.
-Gradillas.

Reactivos: -Solución al 0.10N. de sosa caustica.
 -Fenolftaleina.
 -Colorante de Wright.
 -Alcohol etilico.
 -Agua corriente.
 -Solución salina fisiológica.
 -Papel tornasol para medir pH.

PROCEDIMIENTO:

Las muestras de leche se clasificaron en 6 grupos experimentales de 100ml de leche cada uno a los cuales fueron aplicadas pruebas fisicoquímicas para cuantificar la integridad de las muestras de acuerdo a los estandares normales; índice crioscópico 540 OH, Acidez 1.4 a 1.7, Grasa 28 a 32 g/l.

Para obtener la cepa de T. gondii se sacrifica el ratón previamente inoculado, se extrae el exudado con el cual se hace un frotis para observar cantidad y calidad del exudado, posteriormente se extrae el bazo y se macera con solución salina fisiológica esta suspensión es la que es inculada por vía peritoneal a 6 ratones.

Tres de las muestras fueron designadas para mantenerse a temperaturas de 6°C., 9°C. y 20°C. respectivamente, una vez sembrado Toxoplasma gondii para posteriormente hacer lecturas cada 24 horas.

Dos de las muestras se asignaron para ser pasteurizadas

según el artículo 52 facción I del Reglamento para el control sanitario de la leche, en el cual dice que la pasteurización lenta se realiza por un aumento de temperatura a 62.7°C . durante 30 minutos, y la facción II del mismo reglamento en la cual dice que la pasteurización rápida se realiza por un aumento de la temperatura a 72.7°C . durante 15 segundos. (24).

Los dos tipos de pasteurización se realizaron de la siguiente manera:

En un matraz Erlen-meyer previamente sembrado con T.gondii se procedió a calentar la muestra con un mechero de Bunsen hasta alcanzar la temperatura deseada de 62.7°C . en el primer caso y de 72.7°C . para el segundo manteniendo dichas temperaturas durante 30 minutos y 15 segundos respectivamente. Inmediatamente después se procedió a vertir la muestra a trabajar en un segundo matraz previamente colocado en congelación a -4°C . para provocar el cambio de temperatura deseado hasta que la leche alcanzó una temperatura de 4°C ., esto ocurrió en 5 minutos aproximadamente, esto se hizo con el fin de hacer parecer el experimento lo más semejante a lo efectuado en las plantas pasteurizadoras.

Se procedió a hacer los frotis tomando muestras del sedimento, del centro y del sobrenadante.

La última muestra (número 6) se procedió a calentarla con

un mechero de Bunsen hasta alcanzar su punto de ebullición (91°C.) y se procedió a hacer las lecturas tomando muestras del sedimento, del centro y del sobrenadante.

La tinción de los frotis se llevó a cabo de la siguiente manera:

- Fijación de la muestra al portaobjetos con alcohol etílico.
- 9 a 10 gotas de colorante Wright durante 4 minutos.
- Agua corriente para quitar el exceso de colorante.

RESULTADOS.

Los resultados obtenidos en este trabajo sobre resistencia de Toxoplasma gondii en leche para consumo humano procesada a diferentes temperaturas se expresan en los siguientes cuadros:

Cuadro I .- Muestra la presencia de Toxoplasma gondii en lecturas cada 24 horas de la leche en calidad de bronca.

Cuadro 2 .- Nos muestra los resultados obtenidos de las leches pasteurizadas como de la leche hervida.

Los resultados obtenidos del examen fisicoquímico de la leche a tratar fue el siguiente:

No. muestra	punto crioscópico	Acidez	Grasa g/l
1	0.540	1.4	42
2	0.539	1.3	40
3	0.540	1.5	38
4	0.538	1.4	39
5	0.539	1.6	35
6	0.540	1.5	37

CUADRO 1.

Resistencia de Toxoplasma gondii en leche en calidad de bronca a diferentes temperaturas.

No. muestra	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
1 (6°C) pH = 7	-	-	+ (1-3)'	-
2 (9°C) pH = 7	+ (0-2)'	+ (0-2)'	+ (1-3)'	-
3 (20°C) pH = 7	+ (1-4)'	+ (1-4)'	+ (20-25)'	+ (1-3)'

GMJF 1982

Notas:

'= Toxoplasmas por campo

Se considera cualquier muestra como positiva encontrándose un Toxoplasma gondii por campo.

Un Toxoplasma gondii por campo es igual a 50 000 partículas infectantes por mililitro. Dato proporcionado por el Instituto de Enfermedades Tropicales de la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

CUADRO 2.

Resultados de la pasteurización y hervido de la leche.

No. muestra	Pasteurización lenta	Pasteurización rápida	Hervido
4	(3-5)' +		
5		(0-2)' +	
6			(0-2)' +

GMJF 1982

'= Toxoplasmas por campo.

DISCUSION:

Todas las muestras examinadas se encontraron positivas a Toxoplasma gondii.

En las muestras 1, 2, y 3 en las cuales la leche se encontraba en calidad de bronca se trató de medir su presencia a distintas temperaturas, encontrándose que el número aumenta a una temperatura de 20°C, que es la óptima para la supervivencia del parásito (23) a pesar de los cambios de pH el cual bajo a 5. Abriéndose esto a investigaciones posteriores ya que el parásito podría resistir el procesamiento de la leche para elaborar subproductos como el queso.

Podemos afirmar que la leche de vaca es un buen medio de cultivo para Toxoplasma gondii pudiendo ser fuente de infección para el hombre así como para niños que es la población que consume más leche (9), ya que el parásito se elimina tanto por leche como por otros exudados. (21,23,31).

En el caso de la leche pasteurizada se encontró que Toxoplasma gondii resiste tanto la pasteurización lenta como la rápida así como el hervido de la leche afirmando con esto lo dicho por Rosh.(1967).

Monroy (1968) reporta un resultado de 18.1% de animales positivos a Toxoplasma gondii o que han tenido contacto con el mismo, lo que indica que la producción de estos animales se encuentra infectada o podría estarlo. Tomando en cuenta el último censo de 1982 en la zona de cuautitlán realizado por la Secretaría de Salubridad y Asistencia, existe un total de 44 800 vacas que tienen una producción de 215 000 litros diarios de leche. Basandonos en el 18.1% de vacas infectadas que reporta Monroy, vemos que existen 8 064 vacas positivas a T. gondii aproximadamente o que han tenido contacto con el agente, lo cual significa una producción de 38 700 litros diarios de leche aproximadamente, que pudieran considerarse como fuente de infección directa al hombre. (21).

Si consultamos el censo antes mencionado vemos que 30 000 litros son vendidos en calidad de bronca y 15 000 litros a la industria de subproductos, dandonos un total de 45 000 litros lo que equivale al 21% del total de leche producida diariamente que no es pasteurizada y esto equivale a un 3.78% de leche perteneciente a animales positivos o que han tenido contacto con el agente lo que aumenta aun más el riesgo de infección puesto que además de no recibir un proceso de pasteurización existe la posibilidad de la presencia del parásito que como se comprobó, resiste la ebullición y grados de acides elevados, hechos que apoya Eustaquio Rosh en sus estudios realizados sobre este parásito.

Ahora bien, tocando el punto de la pasteurización vemos en los resultados obtenidos durante el trabajo, que T. gondii la resiste a temperaturas y tiempos de 72.7°C durante 15 segundos y 62.7°C durante 30 minutos y por lo tanto es un factor importante en la infección al hombre. Si a esto agregamos las demás vías de infección como son exudados, secreciones, carne, etc. (21, 23, 30) entenderemos el porque lo reportado por Frenkel, Rosh y Stagno ya mencionado en la introducción.

CONCLUSIONES.

Toxoplasma gondii resiste en leche bronca a temperaturas de 6°C., 9°C. y 20°C. hasta 72 horas y 96 horas a 20°C. a pesar de los cambios de pH.

Toxoplasma gondii resiste bajo las condiciones experimentales pasteurización lenta como la rápida así como el hervido de la leche.

RECOMENDACIONES..

Despues de los resultados obtenidos se recomendaria efectuar trabajos posteriores inoculando bovinos con Toxoplasma gondii y medir la resistencia del mismo en la leche obtenida de la ordeña.

Pasteurizar a la leche a 115°C. durante 5 segundos o 140°C. durante 2 segundos.

Hervir la leche 3 veces.

Consientizar a la gente sobre todo a mujeres embarazadas de las medidas higienicas al manejar carne cruda, y del peligro al ingerir leche en calidad de bronca no solo por toxoplasmosis sino por todas las otras enfermedades de tipo zoonotico trasmisibles por leche y del cuidado que deben tener con sus animales domesticos.

BIBLIOGRAFIA.

1. AMERICAN SOCIETY OF PARASITOLOGIST. Prevalence of Toxoplasma gondii infection in horses, J. Parasitology. Vol 65 (2) 1979. p. 331-334.
2. ARAUJU, F.G.; Handman E., Remington J: Use of monoclonal antibodies to detect antigens of Toxoplasma gondii in semen and other body fluids. Infectio. and inmuniyt Vol 30 (1) 1980. p. 12-16.
3. AVILA Vasquez M. C.; Villegas Gonzalez J.; Portilla Aguilar J: Acute Toxoplasmic myelitis in the new borns. Bol Med. Hospital infantil Vol 36 (5) 1979. p. 885-892.
4. BALCARI. Molina V.; DAVIS M.; Petrozolli E.; Rolleri; Elisa for Toxoplasma antibody detection a comparison with other serodiagnostic test. J. Clinical Pathology. Vol 33 p. 633-640
5. CUEVAS Hernandez Oscar.: Recuperación de Toxoplasma gondii de abortos inducidos en bovinos en la cuenca lechera de Cuautitlán Estado de México. Tesis MVZ Fac. de Estudios Superiores Cuautitlán U.N.A.M. 1981.
6. DIBBY, J.F.: Mouse Pathogenicity of Toxoplasma gondii isolated from a goat. A. J. Res. Vol 41 (3) 1980 p. 427-428.

7. DUBEY, J.P.; Sharman A. P: Prolonged excretion of Toxoplasma gondii in semen of goats. Am. J. Vet. Res. Vol 41 (5) 1980 p. 794.
8. DUBEY, J.P.: Sharma A.P.; Lopez, C.; Williams, J.: Caprine Toxoplasmosis: Abortion , Clinical Signs, and distribution of Toxoplasma gondii oocysts. Am. J. Vet. Res. Vol 41 (7). 1980. p. 1072-1076.
9. FERGUSON, H.W.; Ellis, W.A.: Toxoplasmosis in a calf case report Veterinary Record. Vol 104. 1979. p. 392-393.
10. FRANCOIS J. La Toxoplasmose oculaire congenitale et ses recidives tardives. J. Franciais Ophtalmo. Vol 4 (2) 1981 p. 157-165.
11. FRENKEL J.K.; Ruiz A. : Human Toxoplasmosis and cat contact in Costa Rica.. A, J. Trop. Med. Hig. Vol 29 (6) 1980 p. 1167 - 1180.
12. GRANTN ETEMEMANN, M.D. et al: Criptosporidiosis report of a fatal case complicated by disseminated Toxoplasmosis Vol 69, 1980 p. 637-642. Am. J. of Med.

13. GOICHONNE, L.; Bloch Michel E: Interet de l'etude detalle de la serologie quantitative de l'humeur aqueuse par le diagnostic de la Toxoplasmose oculaire. a propos de 180 cas. J. Fr. Opthal. Vo. 3 (1) 1980 p. 21-26.
14. GROSSMAN, P.I.; Jack S. Remington: The effect of Trimetho - prim and Sulfamethoxacole on Toxoplasma gondii in vitro and in vivo A. J. Trop. Med. Hyg. Vol 28 (3) 1979. p. 445-455.
15. HUNTER, D.; Chadwick; S. Balfour, H.; Bridges B: An assesment of a comercially available hemagglutination test for detecting Toxoplansma antibodies in ovine sera. Br. Vet. J. Vol 136. 1980 p. 339-342.
16. LANDAVERDE Olvera I.: Exploración por métodos biológicos y serológicos de Toxoplasmosis. Pica Caudata. Méx. 1980.
17. LEGUIA G.; Herbert I.V.: The prevalence of sarcocystis spp. in dogs, foxes, sheep and Toxoplasma gondii in sheep and use of the indirect haemagglutination reaction in serodiagnosis Res. in Vet. Sc. Vol 27 1979 p. 390-391.
18. MARTIN W. G. BROWN G.C. Parrish R.K. Ocular toxoplasmosis and visual fields defevts. Am. J. of Ophthalmology. Vol 90, 1980 p 25-29.

19. MILATOVIC, D. Braveny I, Enzyme-Linked immunoabsorbent as say for the serodiagnosis of toxoplasmosis. J. Cli. Pathol. Vol. 33, 1980. p 841-844.
20. MONDON H. Burette, P., Guillerm, D. Neuropathis optique et toxoplasnose, Bull Soc. Opht, France. Vol 3, 1981 p 287-293.
21. MONROY Juárez Juan Alfonso. Identificación de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en suero sanguineo de bovino por prueba de inmunofluorescencia en la cuenca lechera de Cuautitlán Edo. de Méx. Tesis M.V.Z. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M. 1976.
22. MUNDAY, B. L. Bovine toxoplasmosis experimental infections Inter. J. for Parasitology. Vol 8, 1978. p 285.288.
23. ROSH Eustaquio. Compendio de toxoplasmosis. Editorial Patria. 1a. Edición. 1975.
24. SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA. Legislación vigente en materia de salubridad y disposiciones conexas. Reglamento para el control sanitario de la leche. 1975.
25. STAGNO, S. Congenital toxoplasmosis. Am. J. Dis. Child. Vol. 54, 1980. p 635.637.

26. STALHEIM, O.H., Hubbert. W. T. , Bothe, A. D., Limmerrmann W. J. Experimental toxoplasmosis in calves and pregnant cows. Am. J. Vet. Res. Vol 41 (1), 1980. p 10-13.
27. STRAY - PERDERSON. Infants potentially at risk for congenital toxoplasmosis. A. propective study. Am. J. Dis. Child. Vol. 134, 1980. p 638-641.
28. VILLEGAS GONZALEZ J., Portilla A. J. Aspectos anatomoclinicos de la toxoplasmosis a propósito de 50 casos. Gaseta Medica de México. Vol. 113 (10), 1977. p 461-466.
29. WILSON C.B., Desmonsts,C., Couvreur, J., Remington J., Lymphocyte trasformation in the diagnosis of congenital Toxoplasma infection. N. England J. Med. 1980. p 785-788.
30. WILSON C.B., Remington J. What can be done to prevent congenital toxoplasmosis ?. Am. J. of Obstetrics and Gynecology Vol 138, (4), 1980. p 357-363.
31. WILSON C.B., Remington J.A., Stagno S., Reynolds D.W. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital toxoplasmosis infection. Pediatrics. Vol 66, 1980. p 767-774.