

126A
201



**DETECCION DE ANTICUERPOS SERICOS DE TOXOPLASMA GONDII
EN EQUINOS POR LA TECNICA DE
INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

por
AMALIA LUNA ARRIAGA

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

ASESORES:
ELENA AMETLLER RAVENTOS
CATALINA VALENCIA VELASCO

México, D. F. a 22 de Marzo de 1990



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 está 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.

C O N T E N I D O

	<u>PAGINA</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
HIPOTESIS Y OBJETIVO	12
MATERIAL Y METODO	13
RESULTADOS	23
DISCUSION	26
LITERATURA CITADA	28
GRAFICAS	36
CUADROS	38

R E S U M E N

Detección de anticuerpos séricos de Toxoplasma gondii en equinos por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta.

Para la detección de anticuerpos séricos de Toxoplasma gondii en equinos por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta, se elaboró un conjugado anti gamma - globulina de equinos.

Se procesaron 200 sueros de equinos procedentes del Estado de México y del Distrito Federal, que se colectaron en la Subdirección de Diagnóstico y Referencia en Sta. Ana Tecamac, Estado de México. S.A.R.H.

De los 200 sueros el 40% fueron negativos, el 18% fueron positivos con un título de 1 : 16, el 22.5 % con un título de 1 : 32, el 10 % con un título de 1 : 64 y el 9 % fueron positivos con un título de 1 : 128; por lo tanto, el total de positivos es de un 60 %. Nuestros resultados obtenidos nos permite hacer una comparación con otras informaciones que presentan un porcentaje de positividad entre un 20 y 38 % Roch (Estados Unidos) (36). Entre el 20 y 70 % Leite Brasil (29).

Por lo tanto, consideramos que se logró comprobar la hipótesis planteada, pues en algunos países hay menos incidencia de la enfermedad de Toxoplasmosis en equinos que en México; y la positividad que se presenta aquí es mayor de lo que hasta ahora se cree.

I N T R O D U C C I O N

La Toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica endémica mundial, no tiene distribución geográfica especial, ya que se observa tanto en climas fríos como tropicales y templados, sin llegar a registrar aumento de su incidencia en ninguna época del año (2,3,4,5,6,7,8,36).

El Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado, causante de Toxoplasmosis en la mayoría de las especies, incluyendo mamíferos, aves, algunos insectos y el hombre (2,3,7,36,40).

Es un protozooario que tiene poca especificidad de huésped y se ha encontrado en animales de sangre caliente o fría (5,27,28,36,40).

Fue observado por primera vez, el 26 de octubre de 1908 por Charles Nicolle y L. Manceaux en frotis de sangre de bazo e hígado de un pequeño roedor del Instituto Pasteur, llamado Ctenodactylus gondii, capturado en Matmata, en el sur de Túnez Africa (7,8,28,36).

Inicialmente fue considerado como un nuevo género que era también diferente a las Leishmanias y a los Piroplasmas (36).

Splendore 1908 (36) y Corini 1909 (36), lo encontraron en el conejo en Brasil; Corini y Maciel 1913 (36), fueron los primeros que la observaron en el humano, en cortes de retina de un recién nacido (36).

Se le designó con el nombre de Toxoplasma porque carecía de blefaroblasto típico del género Leishmania. Esta clasificado dentro del Subphylum Protozoa, Orden Coccidia, Suborden Eimeria, Clase Sporozoa, Familia Toxoplasmae, Género Toxoplasma (8,28,36,37).

La enfermedad de Toxoplasmosis adquiere especial importancia cuando afecta a los mamíferos domésticos y la infección puede ocurrir de animal a animal, de animal a hombre y de hombre a hombre. La forma congénita es frecuente y la forma adquirida, aunque es menos diagnosticada, es más frecuente y ella es la causante de la forma congénita (5,33,34,38).

La infección de animal a hombre puede ser por la ingestión de carne contaminada, leche contaminada, por reservorios potenciales como vectores o como transmisores mecánicos como moscas, mosquitos y garrapatas (1,3,5,7,8,13,33,34,36,43).

Los huéspedes definitivos de Toxoplasma gondii son el gato doméstico y varias especies de félidos silvestres. En el intestino del gato (Ciclo entero - epitelial), el parásito pasa por cinco diferentes formas, reproductivas asexuadas y una gametogonia que termina en la formación de ooquistes que es la forma infectante (1,7,17,28,36).

El gato elimina los ooquistes con las materias fecales por un periodo breve y al adquirir inmunidad, puede cesar por un tiempo la producción de ooquistes para reanudarla después de algunos meses con nuevas infestaciones de parásitos en las materias fecales. La esporulación se produce al cabo de uno o más días de acuerdo con la temperatura, humedad y aereación ambientales (1,7,17,18).

Es de mucho interes biológico el hecho de que los ooquistes esporulados son muy resistentes a los factores ambientales y pueden sobrevivir en el suelo húmedo y a la sombra hasta un año (1,7,17,28, 36).

Los félidos son por consiguiente, huéspedes completos, tanto definitivos como intermediarios. En cambio todos los animales, incluyendo al hombre, son huéspedes intermediarios, en los que el parásito tiene un ciclo exclusivamente extraintestinal (1,7,8,17,36).

La resistencia del Toxoplasma gondii a los diversos factores - ecológicos, físicos, químicos y biológicos es diferente, según revista la forma vegetativa o la quística. La primera es siempre más frágil que la segunda, por eso a ésta se le denomina forma de resistencia, que permite al parásito sobrevivir en el huésped por meses, años o toda una vida. De las dos variedades de forma quística, inmadura o madura, ésta última es más resistente, fenómeno biológico causante de la diversidad de resultados, algunos contradictorios en los estudios de experimentación. También tiene importancia conocer la naturaleza del huésped, su posición en la escala zoológica y la localización del Toxoplasma gondii en los diversos órganos y tejidos del mismo, pues estos son datos importantes en la epidemiología de la Toxoplasmosis (1,7,8,17,18,36,38,39).

La infección se ha comprobado en todas las áreas zoogeográficas en unas doscientas especies de mamíferos.

Entre los animales domésticos se han encontrado altas tasas de reactivos. En ciertas áreas, entre el 25 y el 45% de los gatos son seropositivos (1) (17).

En una encuesta serológica en caballos en los Estados Unidos - (Reimann 1975), se encontró una tasa del 2% en animales de un año, el 28% en los de dos años y del 38% en los de 12 años (1).

En una investigación realizada sobre sueros de equinos en Estados Unidos, se puso de manifiesto que el 20% de los animales eran serológicamente positivos a la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (8).

La morbilidad animal a la Toxoplasmosis ha sido investigada bajo dos aspectos: La forma espontánea o natural y la forma experimental (36).

Según los trabajos de Morgan 1942 (36), Kunert y Schmiedtke 1954 (36), el caballo se encuentra infectado espontáneamente, su incidencia es muy variable, del 7% según De Roover Boonet 1958 (36), un 40% según Roch y Varela 1971 (36).

En lo que se refiere a la información de estudios serológicos en sueros de equinos aparentemente normales, la literatura es escasa (29).

Una revisión bibliográfica realizada por Siim 1963 (29) es un período de 1956 a 1959, cita que los resultados encontrados por diferentes autores europeos y norteamericanos oscilan entre 2 y 24.6% de sueros positivos de equinos (29).

Estudios realizados en Sao Paulo Brasil, utilizando la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta, en equinos pura sangre se obtuvieron resultados seropositivos siendo 1:64 el título más frecuentemente encontrado (29).

En el Estado de Texas se hizo un análisis de los sueros de equinos por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta, y la tasa de seropositivos fué de 41.5% (29).

Según Acha 1977 (1) se dice que la enfermedad en equinos asintomáticos es común, pero la enfermedad ocurre sólo ocasionalmente. - Se han descrito varios casos de mielomalasia que se atribuyen a el Toxoplasma gondii sobre la base de los caracteres morfológicos del parásito pero no se han realizado exámenes serológicos (1).

La mayor importancia de la Toxoplasmosis radica en la pérdida de crías (abortos), baja de peso y su amenaza al hombre.

Hasta ahora se conoce como forma de transmisión mecánica, por insectos vectores siendo la vía más frecuente e importante de la infección la oral, también puede ocurrir invasión pulmonar después de la inhalación de partículas contaminantes y por pérdida de solución de continuidad cutánea (2,5,7,8,16,24,25,28,33,34,36).

La vía oral es la forma de transmisión más frecuente y puede su
ceder en cualquier momento a partir del nacimiento.

Todos los animales que padecen la infección son capaces de trans
mitirla al hombre, sobre todo los que están en contacto con él, tan-
to por su carácter doméstico, como los que utiliza en su alimenta-
ción y deporte (1,5,7,8,17,33,35,36).

El diagnóstico biológico de la Toxoplasmosis puede ser basado -
en el aislamiento del parásito a partir de muestras como: sangre, lá-
grimas, saliva, exudado bucofaringeo, esputo, tejido muscular, leche,
exudado vaginal y placenta del individuo afectado (1,7,8,12,19,21,-
36,37).

Este método es eficaz pero también tiene sus desventajas como -
el sacrificio de animales enfermos para obtener las muestras de órga-
nos; sería lo más adecuado para realizar como ya se dijo, el diagnós-
tico biológico, pero éste es muy costoso (para los ganaderos), y -
también es altamente riesgoso manejar al parásito vivo; por eso es -
importante la realización de las pruebas de diagnóstico serológico -
para la Toxoplasmosis (7,8,28,36).

El diagnóstico serológico se puede realizar por medio de métodos directos e indirectos:

El diagnóstico por el método directo consiste en estudios de im prontas, biopsias, cortes histológicos, aislamiento del parásito por inoculación a animales de laboratorio cobayo, conejos, ratones etc. (36).

La dificultad para hallar el Toxoplasma en sus diversas formas de evolución por este método (directo), hace que no se utilice en la práctica de rutina (36).

El método indirecto consiste en demostrar la existencia de anticuerpos específicos contenidos en el suero sanguíneo, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso y piel (36).

El diagnóstico serológico puede efectuarse por técnicas, como son las reacciones de Fijación de Complemento, Técnica de Aglutinación Directa, Prueba Biológica de sabin Feldman (Dye - Test), Prueba de ELISA (Enzime - Linked Immunoabsorbent Assay) e Inmunofluorescencia Indirecta (8,9,10,11,19,20,21,22,25,32,36).

El método indirecto siempre se ha mostrado muy superior a la reacción directa. Esto se explica por la sensibilidad del método in-

directo ya que pone en evidencia los anticuerpos utilizando el antígeno específico de especie, además que el parásito puede alojarse - en cualquier órgano o tejido del organismo y para su identificación es necesario realizar un muestreo general (12,19,23,25,26).

Para la determinación de anticuerpos contra la Toxoplasmosis, - en este trabajo se eligió la prueba serológica de Inmunofluorescencia Indirecta, por ser esta altamente sensible, específica, confiable y de alto valor diagnóstico (4,5,22,39,42).

La prueba de Inmunofluorescencia Indirecta da resultados comparables sin necesidad de utilizar parásitos vivos y la cantidad de suero que se utiliza es muy pequeña (4,5,22,39,42).

H I P O T E S I S

De acuerdo a los resultados obtenidos en estudios serológicos de la Toxoplasmosis, la prevalencia en otras especies de animales, como el ganado bovino y porcino es mayor que en el ganado equino, es debido a que se ha estudiado poco dicha especie animal; por lo tanto se cree que la seropositividad de la Toxoplasmosis en equinos es mayor a la que hasta ahora se ha detectado (16,24,25,30,36).

O B J E T I V O

Determinar la presencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en 200 sueros de equinos, procedentes del Estado de México y del Distrito Federal utilizando la Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta para comprobar mayor que la señalada en la literatura consultada.

M A T E R I A L Y M E T O D O

El trabajo de investigación se realizó en la Subdirección de -
Diagnóstico y Referencia de la Dirección General de Sanidad Animal -
S.A.R.H., tomando en consideración los siguientes puntos:

Se muestrearon 200 sueros de equinos procedentes del Estado de
México y del Distrito Federal. Estos sueros se obtuvieron de el De-
partamento de Diagnóstico de Virología de los casos que se solicita-
ban; por lo tanto no se tiene la identificación de dichos sueros.

Se utilizaron las siguientes técnicas para la obtención de nues-
tro conjugado.

PURIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS

A) PRECIPITACION.

50 ml de Suero de Equino

50 ml de Solución Fosfato Boffer pH 7.2 (Solución "A")

50 ml de Solución de Sulfato de Amonio Saturado

1. Mezclar 50 ml de Suero de Equino y 50 ml de Solución "A",
agregando al mismo tiempo 50 ml de Solución de Sulfato de

- Amonio saturado (gota a gota), en agitación lenta, dejar en baño de hielo durante 30 minutos.
2. Centrifugar a 4000 rpm durante 30 minutos.
 3. Descartar el sobrenadante, y el sedimento resuspenderlo en 50 ml de Solución "A", agregarle 50 ml de Solución de sulfato de amonio saturado gota a gota, y en agitación con baño de hielo durante 30 minutos.
 4. Centrifugar a 4000 rpm durante 30 minutos.
 5. Desechar el sobrenadante y el sedimento volverlo a resuspender en 50 ml de Solución "A" y 25 ml de Solución de sulfato de amonio saturado gota a gota, agitando por 30 minutos en hielo.
 6. Centrifugar a 4000 rpm durante 30 minutos.
 7. Descartar el sobrenadante y el sedimento resuspenderlo en 14 ml de Solución "A" que es lo que se va a proceder a dializar.

B) DIALISIS.

1. Después de haber resuspendido el sedimento en los 14 ml de Solución "A", se vacía en una membrana de celulosa de 1 a 5 micras el tamaño del poro.

2. La membrana de celulosa se selló para introducirlo a un matraz con Solución de Fosfato Boffer Solución "A" para un mejor intercambio de iones.
3. El matraz se sometió a refrigeración y agitación constante.
4. Se hizo cambio de la Solución "A" tres veces al día durante dos días.

C) CUANTIFICACION.

Ya después de haber realizado la diálisis a las gamma - globulinas se midió la densidad de proteínas.

La medición de la densidad de proteínas se realizó por medio del Refractómetro de Goldberg (medida de sólidos totales), - Proteína g/100 ml.

Este método consiste en poner una gota de Solución salina para ajustarla a cero, para proceder a medir las gamma - globulinas, se pone una o dos gotas de éste y nos dará la cantidad de proteínas totales; que en ésta caso fué de 5.6 mg.

D) INOCULACION.

Se obtuvieron las gamma - globulinas según las técnicas de los incisos A y B, y de éstas se realizó un antígeno que se utilizó para la inmunización de cuatro conejos de raza Nueva Zelanda, clínicamente sanos de 2500 g aproximadamente, se aplicaron cuatro inoculaciones, la primera consistió en la administración de la suspensión de las - gammas ya dializadas más adyuvante completo de Freund; - fué 1 ml por vía subcutánea y 1 ml por vía intramuscular. La segunda aplicación y dos más fueron hechas con las g ammas más aceite mineral, también administradas por vía - subcutánea y por vía intramuscular y la cantidad fué de un mililitro respectivamente.

Las primeras aplicaciones se llevaron a cabo cada 8 días y para la cuarta inoculación se esperó un mes para llevar la a cabo. De la fecha a la última inoculación se espera ron 7 días para "Sangrar en Blanco".

El suero obtenido de los conejos Nueva Zelanda se sometió a la obtención de la fracción gamma - globulina del suero, ya descrita (Inciso A y B).

E) CONJUGADO

A partir de las gamma - globulinas que se obtuvo de los conejos Nueva Zelanda, inoculados, se realizó el conjugado - considerando el cálculo de la proteína y de la cantidad de Isotiocianato de Fluoresceína:

3.2 mg de Isotiocianato de Fluoresceína

2.4 ml de Solución Amortiguadora de Bicarbonato pH 9.5

12.0 ml de Inmunoglobulinas

8.8 ml de Solución de Fosfato Boffer ph 7.2

Se mezcló y agitó lo antes mencionado menos las Inmunoglobulinas durante 5 minutos, después de este tiempo se adicionó los 12 ml de Inmunoglobulinas, se agitó durante dos horas, luego se pasó por la columna de Sephadex G50. Las gamma - globulinas que se obtuvieron se dializaron nuevamente durante 24 horas, después se pasó esta por columna de DEAE Celulosa.

Las gamma - globulinas que se obtuvieron directamente en - alicuotas se procedieron a leerlas en el potenciómetro con una longitud de onda de 280 nm para las proteínas y 495 nm para la fluorescencia, esto se gráfico según los cuadros 1 y 2.

F) TITULACION DEL CONJUGADO.

Después de haber obtenido el conjugado, como se explicó en el inciso (E), se va a proceder a titular el conjugado; primeramente, para hacer ésto, se realizaron diluciones dobles, tanto del conjugado como del suero problema. Las diluciones son desde:

1 : 2		1 : 16	
1 : 4	Diluciones del	1 : 32	Diluciones del
1 : 8	Conjugado	1 : 64	Suero Problema
1 : 16		1 : 128	

Ya después de las diluciones se hizo la titulación del Conjugado y el suero diluido.

La titulación se realizó en laminillas con antígeno de Toxoplasma gondii ya fijado.

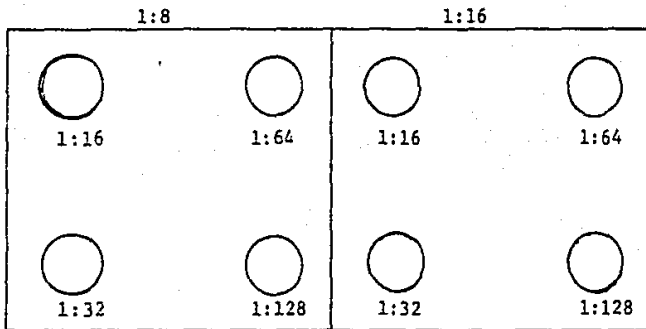
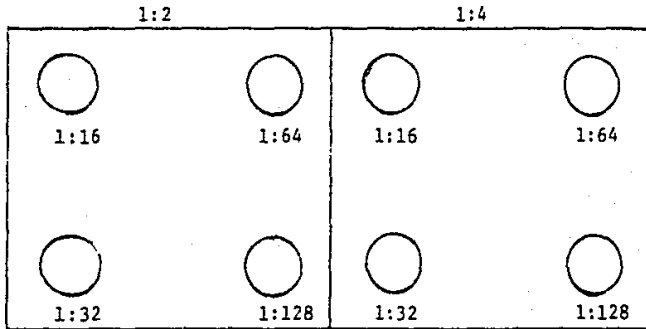
Titulación del conjugado de equino por la Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta para Toxoplasma gondii.

Dilución	1:2	1:4	1:8	1:16	
Agua Destilada	0.25 ml	0.25 ml	0.25 ml	0.25 ml	
Conjugado	0.25 ml				
Vol. de Transf.	0.25 ml	→ 0.25 ml	→ 0.25 ml	→ 0.25 ml	→ 0.25 ml

Diluciones dobles del suero problema que se requiere para la titulación del conjugado de equino.

Dilución	1:16	1:32	1:64	1:128	
Solución "A"	1.5 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	
Suero Probl.	0.1 ml				
Vol. de Transf.	0.2 ml	→ 0.2 ml	→ 0.2 ml	→ 0.2 ml	→ 0.2 ml

Forma esquemática de la titulación del conjugado de equino
para la detección del Toxoplasma gondii



G) INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.

De las alicuotas obtenidas, después de que las gamma - globulinas fueron pasadas por Columna se procedió a realizar una titulación para saber a que título se va a trabajar el conjugado en la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta. Se hicieron diluciones dobles, y se utilizaron sueros testigos positivos y negativos de referencia.

1. Se realizaron diluciones dobles del suero problema 1:16, - 1:32, 1:64, 1:128.
2. Añadir a la laminilla con el antígeno el suero problema.
3. Al mismo tiempo se preparan sueros testigos positivos y - negativos frente al Toxoplasma gondii (antígeno).
4. Colocar en cámara húmeda e incubar a 37°C durante 30 minutos.
5. Lavar con solución "A" durante 15 minutos por agitación.
6. Secar por medio de presión con papel filtro.
7. Colocar una gota de conjugado en cada dilución de suero.
8. Repetir los pasos 4, 5 y 6.
9. Colocar una gota de Azul de Evans 1/10000, en cada pozo - por minuto.
10. Lavar con solución en agitación por 10 minutos.

11. Secar por presión con papel filtro.
12. Cubrir el frotis con glicerina tamponada.
13. Leer en microscopio óptico de fluorescencia con lampara y filtro integrado, se leyo en 40X (11,24,32,36).

R E S U L T A D O S

Se probaron 200 muestras de suero de equino, de los cuales 132 sueros son provenientes del Distrito Federal; 77 sueros positivos y 55 sueros negativos, del Estado de México son 68 sueros en total; 43 sueros positivos y 25 sueros negativos (Cuadro - No. 1 y 2).

En las muestras analizadas de los sueros de equino provenientes de la Subdirección de Diagnóstico y Referencia en Sta. - Ana Tecamac Estado de México, se encontraron anticuerpos contra Toxoplasma gondii, en mayor porcentaje en los sueros de - equino del Distrito Federal.

1. De las 132 muestras de suero de equino analizadas del Distrito Federal; 77 sueros resultaron positivos ésto representa el (38.5%) y 55 sueros negativos con un (27.5%) (Cuadro No. 3). Esto se realizó mediante la Técnica de Inmunofluorescencia In directa.

De las 68 muestras de suero de equino analizadas del Estado - de México, 43 sueros resultaron positivos con un porcentaje - de (21.5%) y 25 sueros fueron negativos con un (12.5%) (cuadro No. 4); ésto también se realizó mediante la Técnica de -

Inmunofluorescencia Indirecta.

2. Se consideraron como positivos aquellos sueros que presentaban un título igual o mayor a 1:16 se tomaron estas diluciones como base por que una dilución menor puede afectarse por tinciones inespecíficas (36), falsos positivos y negativos y se considera como el título con que ya se aisló el parásito en el organismo o sea que son títulos por presencia del Toxoplasma gondii (5).

Se encontró que el título 1:32 fué el que se presentó con más frecuencia teniendo un porcentaje de 22.5% (Cuadro No. 5).

De los 120 sueros positivos se sacó a conclusión que representa el 60% y los 80 sueros negativos es el 40% tomando en cuenta que de los sueros del Distrito Federal, 77 fueron positivos y de los cuales se obtuvo que de la dilución 1:16 - dió 24 sueros con un porcentaje del 12%; los sueros con dilución de 1:32 siendo 27 sueros con 13.5% de porcentaje; los sueros con dilución de 1:64 fueron 13 sueros con un 6.5%; y por último la dilución de 1:128 que fueron 13 sueros con un porcentaje de 6.5% (Cuadro No. 6 y 8). Los sueros positivos del Estado de México fueron 43 de los cuales se obtuvieron 13 con un título 1:16 siendo un porcentaje de 6.5%;

18 sueros con título de 1:32 que dió un porcentaje de 9%; los sueros con título de 1:64 fueron 7 con un porcentaje de 3.5% y de la dilución final 1:128 se obtuvieron 5 sueros - con un porcentaje de 2.5% (Cuadro No. 7 y 8).

También se analizó el total de los sueros positivos y negativos; los sueros positivos fueron 120 siendo un 60% y el total de sueros negativos fueron 80 con un porcentaje de 40% (Cuadro No. 9).

D I S C U S I O N

Según los resultados obtenidos, se comprobó que el porcentaje de sueros positivos de Toxoplasmosis es mucho más alto de lo que hasta ahora se había creído, 40% Roch y Varela (36). - Además hay que tomar en cuenta que se debe dar la misma importancia a los equinos, que debido a que no se toman medidas de prevención ni se toma en cuenta el contacto con otros animales de otra especie, el porcentaje de seropositividad ha aumentado considerablemente sin que se haga nada por evitarlo.

La diferencia entre los resultados del Distrito Federal y los del Estado de México nos indica que el porcentaje de sueros en ambos es muy alto, el porcentaje de sueros en el Distrito Federal es mayor (Cuadro No. 4), debido probablemente a la falta de higiene y el contacto con otros animales como perros, gatos, ratas, etc. También se puede deber a que estos animales son atendidos por otros tipos de enfermedades que causan abortos o daños en el sistema nervioso, como: Leptospirosis, Babesiosis; por lo que el análisis del diagnóstico se enfoca en otros problemas que resulta negativo muchas veces, pero el animal presenta signos como en

cefalitis, mortalidad neonatal, abortos etc, no toman en cuenta a la Toxoplasmosis que es una enfermedad altamente infecciosa, contagiosa y muy peligrosa pues causa muchas pérdidas en el ganado, principalmente abortos y mortinatos. Aunque los animales en su mayoría presentan la enfermedad subclínica, por lo que muchas veces los dueños no se dan cuenta de la presencia de la enfermedad; sin embargo, ello no deja de ser un problema de salud animal y de riesgo para el hombre.

L I T E R A T U R A C I T A D A

1. Acha, N.P.; Zoonosis y enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales, Tomo II Editorial Organización Panamericana de la Salud 1977.
2. Adiel, M.A.A.; Aparent Isolation of Toxoplasma gondii from human faeces Trans. Royal Society of Tropical Med. and Hyg. 65: 334 - 338 (1971).
3. Aluja, A.S.; Toxoplasmosis Estudio Anatomopatológico de un caso en un perro. Vet.Mex 9: (1970).
4. Amaral, V. Do Reboucos, M.M.; Santos, S.M.; Anticuerpos to Toxoplasma detected by cats in Sao Paulo City, Brasil J. - Biológico. 49: (1983).
5. Ametlier, R.E.; Fuilang, G.S.; and Maraboto, J.A.; Toxoplasmosis, Prevalencia entre la Población en riesgo de la ciudad de Guadalajara Jal. Congreso de Toxoplasmosis en Guadalajara Jalisco: 10 (1983)

6. Atenesiu, P.; Inmunofluorescencia Memorias del curso Teórico - Práctico sobre laboratorios y epidemiología de la rabia Buenos Aires, Argentina., 1965. 45 - 59. Instituto Nacional de Microbiología Carlos G. Malbrán. Buenos Aires, Argentina., 1965.
7. Biagi,; Enfermedades Parasitarias Toxoplasmosis, La Prensa Médica Mexicana. 1983.
8. Blood, D.C.; Henderson, J.A.; Medicina Veterinaria 5a.- ed. Interamericana. 1983.
9. Calamel, M.; Serological Diagnosis of Veterinary Toxoplasmoses use of the ELISA test for titration in IV, Science - Vet. Med. Comp. 86: 181 - 188 (1984).
10. Calamel, M.; and Lambert, M.; ELISA Developmen of camp esterized matematical model to express the Serological Diagnosis in International Units., Revue of Med. Vet. 136: - 295 - 302 (1985).

11. Calamel, M.; and Lambert, M.; Etude Comparative des Techniques ELISA et IFI a Travers Les résultats D'un Controle de -
qualité sur la Serodiagnostic de la Toxoplasmose. Revue Med. Vet. 137: 287 - 292 (1986)
12. Camargo, M.E.; Improved Technique of indirect immunofluorescence for Serological diagnosis of Toxoplasmosis, Rev. Int. Med. Sao Paulo. 6: 117 - 118 (1977).
13. Chiari, C. de A.; Neva, D.P.; Human Toxoplasmosis, acquired through drinking goats milk., Memórias do Instituto - Oswaldo Cruz. 79: 227 - 340 (1984).
14. Correa. M.A.F.; Ednir, S.; Toxoplasma gondii Diagnostico pela imunofluorescência indirecta em suínos no Estado de -
Sao Paulo, Brasil; Arg. Inst. Sao Paulo. 15: 202 - 212 (1978).
15. Fayer, R.; Toxoplasmosis update and public health implications. Cant. Vet. J. 22: 344 - 352 (1981).

16. Eugster, A.K.; and Joice, J.R.; Prevalence and diagnostic significance of Toxoplasma gondii antibodies in horses. - Ver. Med. Small. Clin. 71: 1469 - 1473 (1976).

17. Foster, B.G.; and William, F.Mc C.; Studies of active - and passive immunity in animals inoculated with Toxoplasma gondii. College of Medicine. College of Medicine, University of Iowa. Can. J. of Microbiology 14: 103 - 110 - (1968).

18. Fulton, J.D.; and Fulton, F.; Complement - Fixation Test - in Toxoplasmosis with purified antigen, Natura Ing. 205: - 776 - 778 (1965).

19. Galvis, A.L.H.; De Mariño, J.O.C.; Perry, B.D.; Clavijo, E.R.De.; and Mogollon, J.D.; Comparison of indirect immuno fluorescence titres for IgG and IgM with indirect hemagglutination titres in an outbreak of Toxoplasmosis in sheep. Instituto Colombiano Agrop. 19: 67 - 76 (1984).

20. Garbey, J.; Cremer, N.; and Sussdorf, D.; Methods in - immunology 3rd W.A. Benjamin Inc. Massachussetts. (1977).

21. Gotti, A.; and Carsolini. T.; Preliminary studies on Toxoplasmosis in swine by indirect immunofluorescence test. - Atti della Societa Italiana della Science Vet. 37: 689 - - 691 (1983).
22. Harry, A.F.; Epidemiology of Toxoplasma infections. Epidemiologic Print. in U.S.A. 4: 204 - 213 (1982).
23. Hunter, D.; Chadeck, D.; Bolfour, A.H.; and Bridges, J.B.; Examination of ovine faetal fluid for antibodies Toxoplasma gondii by Dye - T4est and Indirect Immunofluorescence test - especific for IgM British Vet. J. 138: 29 -34 (1982).
24. Ishizuka, M.M.; Miguel, O.; Brogliato, D.F.; and Garrido, J.A.; Toxoplasma, Estudo comparativo entre os provas da Sabin - Feldman, e imunofluorescencia indirecta a avaliacao da anticorpos antitoxoplasma on soros de equino poro sangue. - Ingles. Rev. Fac. Med. Vet. Zoot. Univ. Sao Paulo. 12: 283 - 288 (1975).
25. Ishizuka, M.M.; Miguel, O.; and Brogliato, D.F.; Avalicao da Prevalence da anticorpos antitoxoplasma en equinos poro - sangue inles clinicamente normais. Rev. Fac. Med. Vet. Zoot. Sao Paulo. 12: 289 - 292 (1975 b).

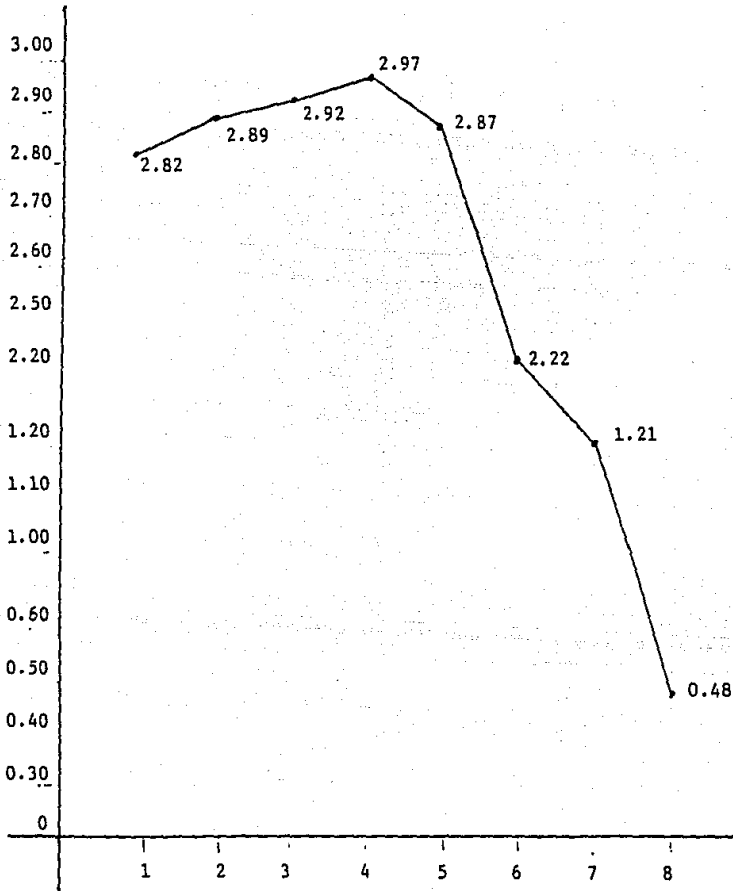
26. Ishizuka, M.M.; Comparison of Sabin - Feldman and indirect immunofluorescence test for antitoxoplasma antibodies in - swine serum. Rev. de Fac. Med. Vet. Zoot. da Univ. da Sao - Paulo. 15: 45 - 49 (1978).
27. Keiths, S.R.; Toxoplasmosis. J. of the American Vet. Med. Association. 180: 857 - 859 (1982).
28. Lapage, G.; Parasitología Veterinaria, Editorial Continental S.A. México. 1980.
29. Leite, L.N.; Ishizuka, M.M.: Prevalence de Toxoplasmosse - equina avaliada pela técnica de imunofluorescencia indirec- ta, Matto Grosso do Sul Brasil, Boletim de la Oficina Sani- taria Panamericana. 99: 158 - 162 (1985).
30. Mc Ilwain, P.K.; Prevalence of antibodies to North Dakota. Archs Envir. 19: 885 - 886 (1969).
31. Miller, T.L.; and Harry, A.F.; Indice for antibodies for Toxoplasmosis various animal species. The Journal of Infec- tion Dissease. 92: 118 - 120 (1953)

32. Morilla, G.A.; and Bautista, G.C.R.; Manual de Inmunología 1a. Ed. Editorial Diana México. 1986.
33. Nishikawa, H.; Armoni, J.V.; Rossier, D.S.S.; Pivato, I.; and Silva, S.S.; Prevalence of antibodies to Toxoplasma in domestic animals in Rio Grande do Sul State Brasil, Pesquisas Vet. Univ. Estadual de Landrina 87: 26 - 30 (Nov. - 1984).
34. Pettersen, E.K.; Transmission of Toxoplasmosis via milk from lactation mice. Acta Patológica Microbiológica et Immunológica Scandinavia. 92: 175 - 176 (1984).
35. Reiman, H.P.; Smith, A.T.; Stormont, C.; and Ruppner, R.; Equine Toxoplasmosis a survey for antibodies to Toxoplasma gondii in horses. An Journal Vet. Res. 36: 1797 - 1800 (1975).
36. Roch, U.E.; Compendio de Toxoplasmosis, 1a. Ed. Editorial Patria S. A. México. 1971.
37. Stovchanski, A.S.; Diagnostico Serológico de la Toxoplasmosis por Inmunofluorescencia. Tesis de Licenciatura Fac. de

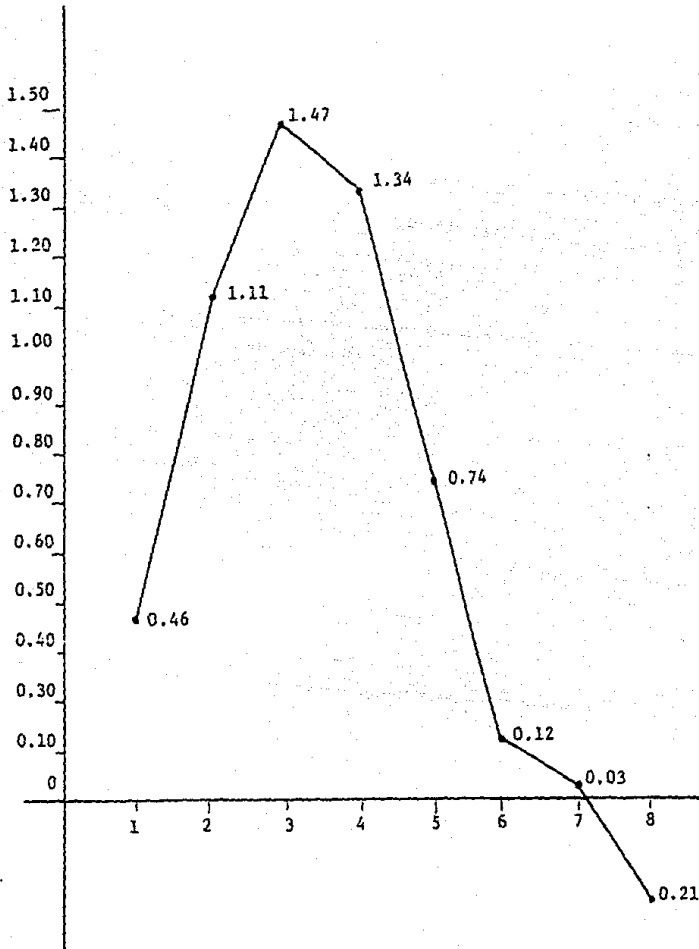
- Química, Universidad Nacional Autónoma de México. México - D.F. 1972.
38. Soulsby, E.J.L.; Immunity to animal parasites Academic Press New York and London. 1972.
39. Tello, P.; Sanhuesa, J.; Evaluación de un Test IFI en el diagnóstico serológico de la Toxoplasmosis. Boletín Chileno de Parasitología. 33: 1- 2 (1978).
40. Urcelay, S.; Maino, M.; Pinochet, E.; and Castro, Q.F.; Toxoplasmosis Equina, Chile 1980 Arch. Med. Vet. 14: 127 - 130 (1982).
41. Vigar, Z.; Toxoplasma gondii, Atlas of medical Parasitology, Adis. Press. Australasia Pty. LTD. 1a. Ed. 1979.
42. Walton, B.C.; and Arjona, I.: Utilization of Whole blood - especimens on filter paper for the indirect fluorescent antibody test for Toxoplasmosis. Parasit. 57: 678 - 680 - (1971).
43. William, F.Mc. C.; Serologic Survey of Toxoplasmosis in - Iowa domestic animals. Trop. Med. L.A.V.M.A. 104: 5 (1964)

GRAFICA No. 1

Indice de proteínas de cada alicuota que se obtuvo del conjugado de equino purificado para Toxoplasma gondii.



Indice de Fluorescencia que presenta cada alicuota obtenida del conjugado de equino para Toxoplasma gondii



C U A D R O 1

Sueros de equino procedentes del Distrito Federal y del Edo. de México positivos y negativos a la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta para la detección de Toxoplasma gondii

Procedencia.	No. de Sueros	Sueros Positivos	Sueros Negativos	T o t a l
Distrito Federal	132	77	55	132
Edo. de México.	68	43	25	68
T o t a l	200	120	80	200

C U A D R O 2

Número total de sueros de equino problema del Distrito Federal y del Estado de México que se sometieron a la prueba de IFI*

Procedencia	Número
Distrito Federal	132
Edo. de México.	68
Total de Sueros.	200

C U A D R O 3

Sueros del Distrito Federal positivos, negativos y su porcentaje para la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta y detección de Toxoplasma gondii en sueros de equino.

Distrito Federal	Posit.	%	Negat.	%	Total
132 sueros	77	38.5	55	27.5	132

C U A D R O 4

Sueros de equino del Estado de México positivos, negativos y su porcentaje para la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta y detección de Toxoplasma gondii.

Estado de México.	Posit.	%	Negat.	%	Total
68 Sueros	43	21.5	25	12.5	68

C U A D R O 5

Sueros de equino del Distrito Federal y del Edo. de México positivos a Toxoplasma gondii por dilución y porcentaje.

Título	No. de Sueros	%
1: 16	37	18.5
1: 32	45	22.5
1: 64	20	10.0
1:128	18	9.0
Negativos	80	40.0
T o t a l	200	100.0

C U A D R O 6

Sueros de equino positivos y negativos a la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta para la detección de Toxoplasma gondii del Distrito Federal; - por dilución y porcentaje

Dilución	1:16	1:32	1:64	1:128	Neg.	Total
No. de Sueros por Dilución	24	27	13	13	55	132
% de Sueros según Dilución	12	13.5	6.5	6.5	27.5	66

C U A D R O 7

Sueros de equino positivos y negativos de la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta para la detección de Toxoplasma gondii por dilución y porcentaje, del Estado de México.

Dilución	1:16	1:32	1:64	1:128	Negat.	Total
No. de Sueros por Dilución.	13	18	7	5	25	68
% de Sueros Según la Dilución.	6.5	9	3.5	2.5	12.5	34

C U A D R O 8

Distribución geográfica de los sueros de equino por dilución, según como se detectó la presencia de Toxoplasma gondii por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta.

Dilución	1:16	1:32	1:64	1:128	Negat.	Total
Distrito Federal	24	27	13	13	55	132
Edo. de México	13	18	7	5	25	68
T o t a l	37	45	20	18	80	200

C U A D R O 9

Porcentaje de los sueros de equino positivos y negativos a la presencia del parásito Toxoplasma gondii en la técnica de Inmunofluorescencia In directa.

Sueros	No. Total	Porcentaje
Sueros Posit.	120	60
Sueros Negat.	80	40
No. Total	200	100