

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**Facultad de Ciencias Químicas**

INVESTIGACION CORRELATIVA DE ANTICUERPOS CONTRA  
TOXOPLAMA POR INMUNOFLUORESCENCIA EN MADRES  
CON NIÑOS APARENTEMENTE SANOS Y MADRES CON  
NIÑOS PREMATUROS O MALES CONGENITOS.

**T E S I S**

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a

*Elsa Guadalupe Velasco Vera*



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

AS Texas  
DO 1974  
FECHA W.T. 332  
PREC \_\_\_\_\_  
\* \_\_\_\_\_

340



QUINDIO

D E D I C A T O R I A

Con gratitud y cariño  
a mis padres:  
Roberto Velasco Z.  
Cristina Vera O.

A mi esposo:  
Jorge Maya Galicia.  
Agradezco su afanoso empeño,  
logrando la culminación de mi  
carrera profesional.

A mis hijos:  
Jorge, Germán y Julian.



Deseo hacer patente mi agradecimiento a la Srita. O.F.B. Consuelo Ontiveros Rodríguez, por toda la ayuda que tan generosamente me ha brindado, desde el inicio del desarrollo de -- este trabajo hasta su terminación.

Al Dr. Claudio Molina Pasquel mi gratitud por su valiosa y acertada orientación en la -- realización de este trabajo.

A la Memoria de mi abuelita Ma. de la Luz Olvera venerando su recuerdo.

A la Sra. Consuelo Galicia Vda.  
de Maya.

A mis Maestros.

A la Facultad de Ciencias  
Químicas.

A quienes me brindan  
su amistad.

I N D I C E

- I INTRODUCCION
- II GENERALIDADES
- III MATERIAL Y METODO
- IV RESULTADOS
- V DISCUSION Y CONCLUSIONES
- VI BIBLIOGRAFIA.

PRESIDENTE Dionisio Peláez Fernández

VOCAL Paula Copola de Rivas

Jurado asignado originalmente:

SECRETARIO Yolanda Castells García

Según el tema 1er. SUPLENTE Carmen Reyna Bordes

2do. SUPLENTE Socorro Cao Romero

Sitio donde se desarrolló el tema: Hospital de la mu  
jer.

Nombre completo y firma del sustentante:

Elsa Guadalupe Velasco Vera

Nombre completo y firma del asesor del tema:

Yolanda Castells de García

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

En vista del interés mundial que ha causado la toxoplasmosis se decidió hacer un estudio correlativo de anticuerpos en madres con niños aparentemente sanos y madres con niños prematuros ó con males congénitos.

En la investigación sobre toxoplasmosis que realizamos encontramos la dificultad de tomar sangre a niños muy pequeños ó en malas condiciones, en los cuales la toma de sangre de una vena ya sea de la yugular o fontanela puede ser peligrosa y difícil de realizar aun en manos expertas.

En el congreso Latino Americano de Parasitología de 1970, el Dr. P. Ambroise Thomas, de la Facultad de Medicina de Grenoble, mostró una película sobre inmunofluorescencia en diversas parasitaciones. Entre otras describió una manera de tomar pequeñas cantidades de sangre con micropipeta, con las que impregna trozos de papel filtro. Una vez seca, esta sangre puede guardarse durante dos a tres meses, sin deteriorarse. Para hacer la inmunofluorescencia se remoja en una cantidad de solución amortiguadora y en este líquido hace la reacción como si fuera suero. El procedimiento fue ideado por Sadum y sus colaboradores (1960-61) para hacer inmunofluorescencia en esquistosomiasis en estudios epidemiológicos; se probó primero en animales inoculados experimentalmen

te y después en el hombre en estudios epidemiológicos en Egipto, Puerto Rico, India y Japón.

Ambroise Thomas modificó la técnica de Sa dum, con el fin de obtener una dilución conocida de la sangre y poder titular la cantidad de anticuerpos.

Hemos aplicado esta técnica a tomar sangre de niños normales, anormales, prematuros o con anomalías congénitas para investigar toxoplasmosis por inmunofluorescencia.

## GENERALIDADES

Se sabe por estudios epidemiológicos, que un porcentaje de la población en diferentes países - del mundo, tienen anticuerpos contra Toxoplasma gondii.

La vía de infección al hombre por mucho tiempo fue un misterio, creyéndose que la única manera era por ingerir carne cruda, pero se pensó el por qué los vegetarianos y los animales que no comían -- carne, presentaban la enfermedad. Hasta 1969 se demostró que el gato era el principal transmisor de la toxoplasmosis ya que éste es un parásito normal del gato. El gato se contamina al comer roedores infectados por Toxoplasma, o al ingerir la carne y las vísceras de los animales que tienen quistes de Toxoplasma.

Sólo en el gato se ha logrado la demostración de las fases evolutivas del parásito; es decir sólo en este huésped se logra la producción de ooquistes, capaces de infectar.

El ciclo completo del Toxoplasma ocurre cuando el gato es infectado por vía oral. La mayor parte del ciclo ocurre en el epitelio del intestino delgado. Si los quistes llegan al intestino se produce su ruptura por el efecto del jugo gástrico, liberándose los trofozoítos. Estos penetran en la mucosa y submucosa del intestino delgado, después de ha-

ber atravesado el mesénquima de las vellosidades y - otras capas de tejido llegan a los ganglios linfáticos del intestino delgado. En los tejidos mencionados, pueden transcurrir una o dos fases de multiplicación proliferativa. Enseguida, los parásitos llegan por vía sanguínea y linfática a la musculatura esquelética, músculo cardíaco, intestino, bazo, hígado, retina o al sistema nervioso central, ahí se implantan y pueden formar quistes, terminando así el ciclo.

Los quistes si son defecados por el gato en tierra húmeda pueden permanecer así durante mucho tiempo, pueden ser transportados a varios lugares, - pudiendo contaminar tanto los pastos como a verduras e introducirse por vía nasal, infectando de esta manera a animales herbívoros y al hombre; en este último se localiza el parásito primeramente en los ganglios linfáticos, pasando a los músculos estriados, miocardio, útero, en el sistema nervioso central, en la retina, en el hígado y el bazo.

Las localizaciones más estudiadas son ganglios linfáticos, retina y músculo uterino; puede -- ocasionar al pasar al feto: abortos, partos prematuro, anomalías congénitas y muerte fetal.

Cuando el producto se infecta al pasar -- los toxoplasmas del músculo uterino a la placenta, - puede tener anticuerpos en la sangre al nacer y en--



contrarse este parásito en los tejidos, por lo tanto es de interés comprobar la presencia de anticuerpos.

El fenómeno de la transmisión congénita - de Toxoplasma gondii, los factores que la determinan, la frecuencia con que ocurre y su importancia clínica, constituyen temas tenazmente debatidos, habiendo diferentes opiniones respecto a la importancia ginecoobstétrica de la toxoplasmosis.

Existen actualmente dos opiniones diferentes, bien definidas, pero aparentemente contradictorias; la de Sabin 1952 y la de Thalhamer (1966) que sostienen que la transmisión congénita de Toxoplasma gondii puede ocurrir solamente cuando la madre adquiere la infección durante el embarazo; según ellos, no habrá repetición de este fenómeno en embarazos sucesivos y el pasaje intrauterino del parásito se limitaría a la segunda mitad del embarazo.

La opinión contraria, basada fundamentalmente en los resultados obtenidos por Werner y Langer en 1963, sostiene que puede haber transmisión -- congénita durante la fase crónica de la toxoplasmosis materna, de acuerdo con esto, habría por consiguiente pasaje transplacentario en embarazos sucesivos, pudiendo este ocurrir en cualquier periodo del embarazo (a partir de la cuarta o quinta semana), -- con lo que otorga importancia a la toxoplasmosis como causa de embriopatía y abortos.

## TOXOPLASMOSIS AGUDA DE LA MADRE.

Como la mayoría de los casos congénitos - publicados corresponden a infecciones originadas en una toxoplasmosis aguda de la madre, se le atribuye a una infección reciente adquirida por ella durante el embarazo, siendo benigna y asintomática para la madre, pero pueden producirse trastornos graves en el producto; debiéndose esto a la presencia de Toxoplasma en la circulación materna. El pasaje ocurriría por vía sanguínea y estaría limitado, por las características de la placenta, a la segunda mitad del embarazo, es decir, a los cuatro y medio meses de gestación. Este tipo de toxoplasmosis congénita corresponde por lo tanto a una fetopatía. Según Thalhamer (1954) la forma congénita por consiguiente -- se presenta al comienzo como infección aguda generalizada, seguida de una etapa subaguda o "fase de encefalitis" y posteriormente por un periodo crónico o "fase de secuela". Si el feto se ha infectado al principio del periodo fetal, sufrirá las fases agudas y subagudas "inutero", pudiendo nacer aparentemente sano, pero con secuelas a nivel de cerebro y ojo.

Es importante considerar que aunque el pasaje connatal de Toxoplasma gondii es posible en las infecciones agudas de la madre; este fenómeno no ocurre siempre y no se ha llegado a confirmar.

Existen casos comprobados parasitológicamente de toxoplasmosis aguda durante el embarazo en que no se observó infección del feto. Pinkerton 1963 Desmonts 1965 indican que el pasaje transplacentario está sujeto a factores aún no conocidos; entre otras causas habría que pensar en lesiones tisulares, alteraciones de la permeabilidad de la placenta, trastornos hormonales, etc.

Esta hipótesis, válida sin lugar a duda - para muchos casos, es objetable como concepto generalizado, ya que las defensas inmunitarias del huésped, o de la madre en estos casos, no constituye un valor absoluto y constante.

En las infecciones con T. gondii no se desarrolla inmunidad absoluta, sino un estado de pre-munición, y la infección dependen en todas sus fases del equilibrio entre la capacidad agresiva del parásito y la capacidad defensiva del huésped. De parte del huésped lo importante es que su capacidad defensiva puede atenuar la infección, pero no suprimirla, permitiendo que el parásito persista en el organismo. De parte del parásito el factor que desempeña un papel de importancia es la virulencia de la cepa.

#### TOXOPLASMOSIS CRONICA DE LA MADRE.

La transmisión congénita de T. gondii durante la fase crónica de la infección materna se --

atribuye a procesos de reactivación. Se conoce como reactivación generalizada. Una situación similar a lo descrito en infección materna aguda.

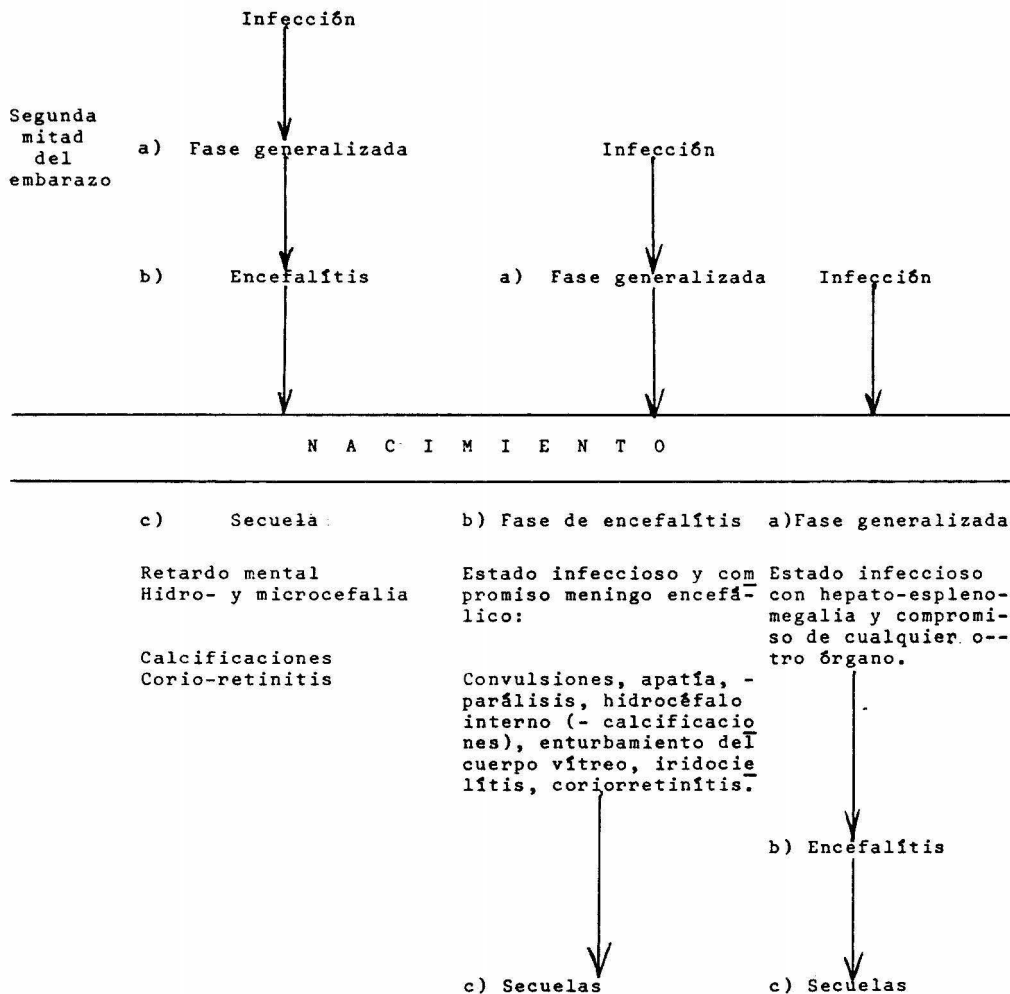
En estos casos la parasitemia aparece a consecuencia de la ruptura de las formas enquistadas; estos cuadros se explican por un descenso de los anticuerpos de la madre; no obstante, se desconoce la importancia real de los factores predisponentes o desencadenantes que actúan, así como la incidencia de este tipo de reactivación en la especie humana.

Como reactivación localizada se entiende la ruptura de formas enquistadas en que la diseminación de los parásitos se limita al tejido circundante.

La importancia de este fenómeno para la transmisión congénita depende de varios factores: a) Capacidad de T. gondii para infectar el tejido uterino, b) posibilidad de persistir ahí, bajo forma enquistada, c) factores capaces de provocar la ruptura de quistes y liberación de toxoplasmas. Estos factores fueron estudiados por Werner (1960-1962) y Seidlitz (1960), demostrando que prácticamente todos los tejidos del aparato genital femenino, excepto folículo y epitelio cilíndrico de la trompa, eran susceptibles a la infección con toxoplasmas y que éstos formaban "pseudoquistes" en el endometrio. En una segunda serie experimental se observó, además, -

ESQUEMA No. 1

ESQUEMA DE LA TOXOPLASMOSIS CONGENITA, A PARTIR DE UNA INFECCION ACTIVA DE LA MADRE



que en el momento de la implantación se producía ruptura de estos "pseudoquistes" por acción de enzimas citolíticas del epitelio trofoblástico y que los toxoplasmas así liberados podían causar tres fenómenos diferentes; infección del producto de la concepción por paso directo del T. gondii, aparición de endometritis focal e infección generalizada en el organismo de la madre por penetración de toxoplasmas a la circulación sanguínea (Esquema 1).

TRANSMISION CONGENITA DE TOXOPLASMOSIS  
EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

Existen evidencias experimentales y clínicas suficientes de que la toxoplasmosis puede transmitirse por vía placentaria. Algunas de las más importantes se resumen a continuación Wolf, Cowen y Paize, en 1939. Comprobaron el primer caso de toxoplasmosis congénita humana, al aislar T. gondii por inoculación experimental, en ratones y conejos de material de cerebro y médula espinal de un recién nacido que falleció por una encefalomiелitis Cowen y Paize (1950) fueron los primeros que observaron transmisión congénita experimental en ratones preñados, inoculados por vía vaginal; además observaron que los animales preñados eran más sensibles a la infección que los controles.

Christen y colaboradores (1951) y Negheme y colaboradores (1952) aislaron el parásito de pla--

centas humanas y por inoculación experimental en ratones; Hellbrugge (1953-1957) provocó infecciones -- experimentales agudas en ratas, en la segunda mitad de la preñez, inoculándolas por vía intraperitoneal y pudo aislar posteriormente el parásito de algunas crías.

En 1957 Thierman inoculó T. gondii por -- vía intra-peritoneal a ratas preñadas y obtuvo un 7% de transmisión congénita en aquellas con infección aguda y sólo un 0.4% en las ratas con infección crónica. Remington y colaboradores (1958) y Jacobs, Mil ton (1960) encontraron pseudoquistes de T. gondii en úteros obtenidos por autopsia o de histerectomía de mujeres con serología positiva para la toxoplasmosis. Werner (1960) y Werner y Seidlitz (1960) infectaron ratones y hamsters, machos y hembras, por vía intratesticular e intrauterina y observaron que en las -- hembras había gran cantidad de parásitos en aparatos genitales, estroma del ovario, trompas y mucosa uterina. Werner (1960) infectó ratones en el décimo día de preñez, por vía intrauterina, y observó que ya a las 72 horas existían "pseudoquistes" en la mucosa uterina y que en el momento de la implantación del -- huevo, algunos pseudoquistes perdían su envoltura y los toxoplasmas liberados pasaban a las vellosidades coriales.

En 1962, Werner inoculó por vía intraute-

rina a ratas en el décimo día de preñez y sacrificó los animales a diferentes intervalos, extrayendo en forma aséptica las crías; observó que sólo cuando se establece la circulación fetal pasan los toxoplasmas al producto de la concepción. Se debe aclarar que en el hombre, la circulación fetal se establece hacia la quinta semana de vida intrauterina.

Werner, Schimidlke y Tomashck (1963) demostraron pseudoquistes de T. gondii en el endometrio de mujeres con aborto habitual; además, aislaron toxoplasmas del epitelio trofoblástico y en algunos casos, de los embriones y fetos. Por otra parte lograron observar T. gondii en tres molas que presentó una misma mujer en el curso de tres años, la que sugería la transmisión del parásito en embarazos sucesivos.

Langer, en 1963, confirmó los resultados de Werner y colaboradores y demostró la transmisión congénita repetida de T. gondii, ya que pudo aislarle de restos de abortos en embarazos sucesivos.

Pese a que lo observado en animales de experimentación no asegura que suceda lo mismo en la especie humana, consideramos, sin embargo que esos resultados tienen mucha importancia para explicar la transmisión connatal en la toxoplasmosis crónica de la madre.



La capacidad de T. gondii de parasitar el tejido uterino, y de persistir ahí, bajo forma enquistada, en la especie humana se ha podido confirmar con la demostración del parásito en secreción vaginal.

Con lo expuesto consideramos que debe aceptarse que T. gondii puede causar trastornos graves en diferentes periodos del embarazo, que ellos pueden producirse durante la fase crónica de la toxoplasmosis materna y que el pasaje transplacentario puede ocurrir en embarazos sucesivos. Lo que queda por dilucidar es la frecuencia con que se presentan estos fenómenos en la especie humana, es decir, su importancia clínico-obstétrica. Falta una investigación integral que permita obtener resultados concluyentes que se pueden generalizar.

La mayor parte de los estudios realizados en la fecha tienen puntos objetables. Así, Bartorelli y Berengo (1964) refieren numerosas publicaciones que señalan la importancia de las infecciones con T. gondii, como causa de abortos. Considerando las causas del aborto habitual como numerosas y diversas (anatómicas, fisiológicas, infecciosas, psíquicas, etc.) es frecuente que no se pueda imputar el aborto a un solo factor; pero, considerando la alta incidencia de Toxoplasma gondii en poblaciones aparentemente sanas y los factores que pueden alte--

rar los resultados de este tipo de encuestas (edad, factores alimenticios, hábitos de trabajo y posiblemente factores geográficos) se impone una interpretación cautelosa con respecto a abortos, parto prematuro y mortinatalidad.

Las técnicas de diagnóstico, en el orden histórico, son las siguientes:

- 1.- Reacción de Sabin y Feldman
- 2.- Reacción de Fijación de Complemento
- 3.- Reacción de Hemaglutinación
- 4.- Reacción de Inmunofluorescencia indirecta.
- 5.- Intradermorreacción
- 6.- Reacción de Aglutinación látex

Los resultados de estas pruebas dependen de la calidad, pureza y concentración de los antígenos, habiendo el problema de no existir un antígeno estandarizado.

La reacción de Sabin y Feldman fue la primera en ser diseñada, siendo específica y sensible; se recomienda como prueba patrón con la que se comparan las demás.

Debemos hacer notar que al trabajar con -

material biológico vivo, desde la preparación y conservación de la cepa, hasta la determinación de la antigenicidad, se corre el riesgo de contaminación, por lo que al efectuar este método es requisito indispensable que el personal sea altamente especializado, y es muy importante, asimismo, desde el cuidado del bioterio hasta la esterilización del material usado.

Las reacciones de hemaglutinación y de fijación de complemento son sensibles y específicas; ambas requieren un antígeno preparado minuciosamente con suspensión de parásitos exentos de cualquier otro germen, que se conservan congelados y liofilizados. La prueba de fijación de complemento da reacción positiva en la fase aguda, tendiendo a bajar sus títulos rápidamente, al contrario de la hemoaglutinación que se hace positiva más tarde y aumenta más despacio; es ideal para el diagnóstico de ciertas infecciones crónicas. La reacción de inmunofluorescencia es comparable con la reacción de Sabin y Feldman y la hemaglutinación. Esta identidad de técnicas se refiere tanto a su precocidad como a su especificidad y sensibilidad. La inmunofluorescencia presenta ventajas técnicas muy importantes; no es necesario bioterio para la conservación de la cepa y el único paso de contaminación es la preparación de las laminillas con el antígeno, una vez preparadas pueden conservarse congeladas por tiempo indefinido.

La prueba cutanea, con toxoplasmina, es una reacción que se basa en un proceso de sensibilidad tardía semejante a la de intradermorreacción con tuberculina. La utilidad en el diagnóstico de la toxoplasmosis es limitada, ya que es una reacción cualitativa que sólo indica si existe o no infección -- por T. gondii; por otra parte, la intensidad de la reacción con toxoplasmina no guarda relación con la presencia o no de actividad toxoplasmósica, y tiene la desventaja de dar falsos negativos, ya que aparecen tardíamente su antigenicidad, principalmente en niños por su escasa o nula capacidad de producción de anticuerpos en infecciones toxoplasmósicas recientes, debido a la falta de sensibilidad del antígeno utilizado y por interpretación errónea de los resultados.

En la reacción de aglutinación con látex se utiliza la siguiente técnica:

Sobre un vidrio adecuadamente marcado, -- se coloca una gota de suero por investigar, una gota de suero control negativa y una gota de suero control positivo; a cada gota se le agrega una segunda gota del antígeno (que tiene adicionadas partículas de -- bentonita), se mezcla con una varilla de vidrio o madera y al cabo de cinco minutos se procede a la lectura macroscópica, con luz artificial y fondo oscuro. Los sueros negativos presentan aspecto lechoso --

parejo y los sueros positivos presentan grumos carac  
terísticos.

Esta prueba tiene la ventaja de ser suma-  
mente rápida, pero con el inconveniente de que da --  
reacciones falsas, tanto positivas como negativas,--  
por lo cual ha caído en desuso.

## CONSIDERACIONES BASICAS DE LA TECNICA DE LOS ANTICUERPOS FLUORESCENTES.

El interés creciente que han despertado - las nuevas técnicas de anticuerpos fluorescentes -- (AF) en el diagnóstico de las enfermedades transmi-- sibles ha hecho que paulatinamente se vayan incorpo-- rando como procedimiento de rutina en el laborato-- rio.

Una substancia se considera fluorescente cuando absorbe energía luminosa de una longitud de - onda (luz, excitadora o activadora) y emite luz de o- tra longitud de onda dentro de un tiempo máximo de - un diezmillonésimo de segundo.

La emisión fluorescente es muy sensible - al medio físico-químico de la molécula fluorescente. La fluoresceína es más fluorescente en agua que en - acetona, en soluciones alcalinas que en soluciones - ácidas, en ausencia de yoduro de potasio que en su - presencia y en la forma de fluoresceína mejor que en la de aminofluoresceína. La fluorescencia de una so- lución crece en proporción directa a la intensidad - de la luz excitadora.

En solución, la eficiencia fluorescente - disminuye cuando la concentración del fluorocromo -- aumenta más allá de un nivel crítico.

PREPARACION DE GLOBULINAS CONJUGADAS  
FRACCIONAMIENTO DE GLOBULINAS SERICAS

Aunque se ha marcado y usado con éxito -- suero total, hay dos razones por lo que no es deseable: es un desperdicio del agente marcador que se une tanto al anticuerpo proteico como a la proteína no anticuerpo; puede aumentar la fluorescencia no específica.

Pueden usarse los procedimientos normales para separar globulinas de otras proteínas séricas - para uso rutinario en el diagnóstico de laboratorio no es necesario emplear técnicas refinadas para aislar pequeñas fracciones de globulinas. La precipitación con sulfato de amonio es un método simple y satisfactorio que puede efectuarse en cualquier laboratorio sin necesidad de equipo especial.

MERCADO DE GLOBULINAS SERICAS.

El isotiocianato de fluoresceína substituye al isocianato de fluoresceína usado al principio, especialmente el isómero I cromatográficamente homogéneo, que es un compuesto estable en seco y de fácil empleo. Las globulinas pueden marcarse ahora en cualquier laboratorio, en contraste con hace algunos años en que sólo laboratorios muy bien equipados y manos expertas podían realizar el proceso. Actualmen

te, se encuentra a la venta. Lab. B.B.L.

### CONSERVACION Y ALMACENAMIENTO DE LAS GLOBULINAS.

El efecto de fraccionar y marcar las globulinas sobre el título de anticuerpos del suero empleado en trabajo de microscopía fluorescente no se ha estudiado exhaustivamente, pero en la experiencia de diferentes autores, rara vez la disminución del título alcanza el 50%, y las globulinas marcadas parecen tener las mismas características de estabilidad al envejecimiento de las no marcadas. De todas formas es aconsejable el almacenamiento en frío, en refrigeración a 5° a -20° y sin diluir, ya que la dilución acelera la desnaturalización de las proteínas.

Los sueros conjugados congelados a -20° se mantienen durante años conservando sus buenas cualidades de teñido; pero si las preparaciones van a conservarse por largo tiempo, se aconseja liofilizarlas y añadir merthiolate hasta una concentración final de 1: 10 000 si es que van a conservarse a 5° al estado líquido, lo que inhibe el desarrollo bacteriano.

La contaminación, principalmente por bactérias sicrofílicas puede, en unos cuantos días, re-



ducir el título de tinción de un conjugado.

#### ABSORCION DE GLOBULINAS SERICAS.

a) Con polvo de tejidos:

En la mayoría de los casos en que se van a teñir antígenos en secciones de tejidos, se ha encontrado ventajoso y aún necesario absorber las proteínas conjugadas con polvo de tejidos para reducir la tinción no específica.

b) Con resinas de intercambio aniónico:

Esto es particularmente útil para eliminar el material responsable de la tinción no específica de los leucocitos, que ha sido una dificultad encontrada. Con frecuencia se usa Dowex 2-X4 (cloruro) 20-50 mesh.

c) Con antígenos heterólogos afines:

El problema se encuentra en otros aspectos de la serología; pero es mucho más importante en AF, porque se trata de una técnica muy sensible. -- Reacciones cruzadas de tinción pueden aparecer a veces; por ejemplo, cuando no se manifiesten reacciones cruzadas de aglutinación. Por medio de técnicas rutinarias, las globulinas marcadas o sin marcar pueden absorberse con células o bacterias que reaccio--

nan en forma cruzada con el anticuerpo que se investiga.

Las soluciones de anticuerpos preparadas contra virus, protozoarios u hongos, pueden hacerse más específicas por absorción con los antígenos apropiados.

#### PROBLEMAS PRACTICOS QUE SE PRESENTAN EN LOS ESTUDIOS DE INMUNOFLUORESCENCIA.

Los investigadores en este campo de la inmunología deben conocer los problemas específicos -- que pueden presentarse en su trabajo y estar preparados para manejarlos. Los más frecuentes son:

1.- Pérdida del antígeno de los frotis durante la manipulación que precede al examen, ya sea por dilución excesiva del antígeno o por fracaso al concentrar por centrifugación.

2.- La naturaleza de la muestra clínica y el efecto de otros componentes biológicos sobre la tinción del antígeno: por ejemplo; el efecto del moco y posiblemente de "anticuerpos locales" sobre la tinción de las bacterias en los frotis de nasofaringe, o el efecto de medicación de las bacterias en -- los frotis de nasofaringe, o el efecto de medicamentos en la autofluorescencia de los tejidos.

3.- Estado del antígeno celular, Generalmente, las células microbianas no viables tienen las mismas características de tinción que las viables, - sin embargo, diferentes métodos de fijación o de conservación pueden alterar sus cualidades de tinción.

4.- Destrucción de los antígenos celula--res por autólisis, acción de fagos, acción enzimática exógena u oxidación.

5.- Confusión e imprecisión que resulta - de la existencia de artefactos que muestran fluorescencia natural y que poseen la forma del antígeno -- que se investiga.

6.- Revesibilidad de la reacción entre -- antígeno y anticuerpo y el efecto de varios factores ambientales en el equilibrio de esta combinación.

7.- Tinción falsa positiva, debida a la - probabilidad de ocurrencia de anticuerpos para los - organismos, diferentes de los que se ensayan en una mezcla.

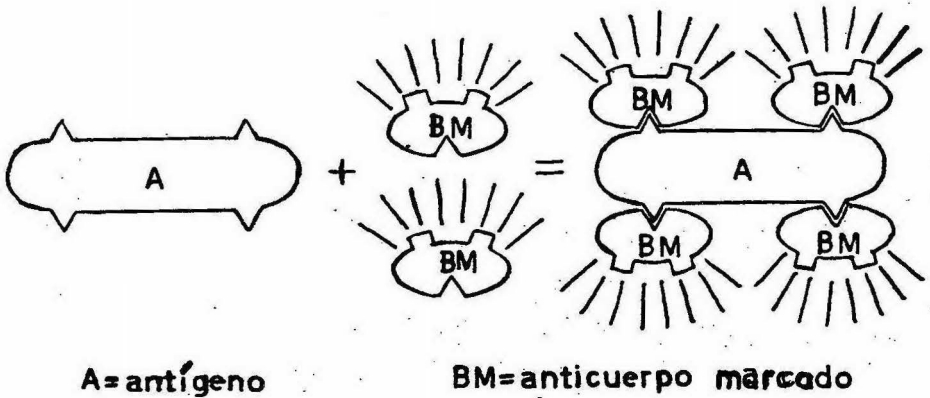
El método de tinción con anticuerpos fluorescentes (AF) depende de los reactivos disponibles y la preferencia del investigador. A continuación -- se discuten cuatro variantes del método:

## METODO DIRECTO.

La tinción directa de antígeno con soluciones de AF es la forma más simple de estas reacciones. El anticuerpo marcado se aplica a frortis del antígeno fijado en portaobjetos. Después de un tiempo determinado para cada sistema bajo estudio, el exceso de anticuerpos se lava y la preparación se remonta y se examina con un microscopio de fluorescencia.

La presentación esquemática de la tinción directa con anticuerpos fluorescentes se presenta en el siguiente esquema:

## Método Directo



Para el diagnóstico, esta reacción se emplea en la identificación de antígenos desconocidos usando anticuerpos marcados como agente de tinción.

La tinción directa de partículas por AF no presenta dificultades serias, con tal que la globulina marcada tenga un buen título de tinción, sin tinción inespecífica y muestre un mínimo de reacciones cruzadas con antígenos heterólogos.

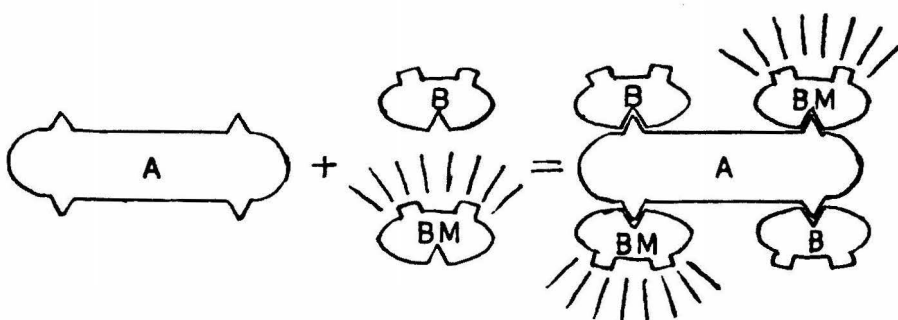
Para cada sistema de AF debe obtenerse esta información antes de usar la solución de AF con antígenos desconocidos, ya que es necesario establecer el grado de seguridad de una técnica.

#### METODO DE INHIBICION

El método está basado en el fenómeno inmunológico que consiste en el bloqueo de reacciones específicas entre antígeno y anticuerpo, exponiendo previamente el antígeno a una alícuota diferente de solución de anticuerpo homólogo; por ejemplo, si un frotis de estreptococo se expone a anticuerpos específicos no marcados, la bacteria se satura con los anticuerpos y si, después, el mismo frotis se trata con anticuerpos específicos marcados, no ocurrirá la reacción y los organismos no fluorescen.

En la práctica generalmente se encuentra una tinción brillante si no hay bloqueo y menos brillante si ha ocurrido, mejor que en efecto de todo o nada. El principio del método se ilustra en el siguiente esquema:

## Método de Inhibición



A=antígeno; B=anticuerpo; BM=anticuerpo marcado

La prueba de inhibición es importante en dos aspectos. Como prueba de la especificidad de la reacción de tinción y para demostrar anticuerpos en sueros desconocidos.

Son de rigor en este experimento los controles positivos y negativos para establecer las líneas básicas de fluorescencia inhibida y no inhibida, con las cuales los resultados obtenidos en los sueros problema pueden compararse.

## METODO INDIRECTO.

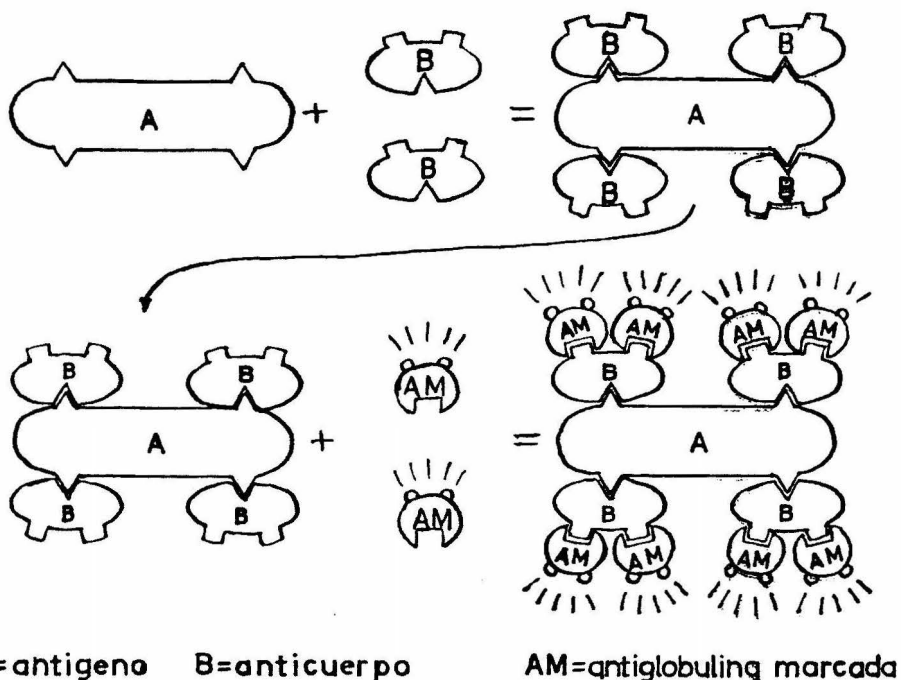
La substancia que se hace fluorescente no es el antígeno en consideración, sino un material intermediario cuya distribución corresponde precisamente al antígeno en estudio. Esta técnica tiene la ventaja de que las moléculas del anticuerpo, además de reaccionar con antígenos, son también capaces de servir como antígenos y pueden demostrarse por anticuerpos fluorescentes.

La tinción de anticuerpos fluorescentes - indirecta es una reacción de tipo Coombs modificada, en la cual la unión de anticuerpo no marcado con el antígeno se revela por medio de una "segunda etapa - con un indicador de anticuerpos fluorescentes. Es -- conveniente recordar que el anticuerpo no marcado -- juega un papel doble, actuando como anticuerpo en la reacción primaria y como antígeno en la reacción secundaria. La reacción indirecta de AF permite determinar la identidad de un antígeno desconocido o el - contenido de anticuerpos de un suero desconocido. En el primer caso, un antígeno desconocido se hace reaccionar con un anticuerpo no marcado procedente de -- una especie animal determinada. El exceso de anti-- cuerpo se elimina por lavado y preparación; se trata con antiglobulina marcada contra la globulina de la especie usada en la exposición inicial. La fluores-- cencia indica una reacción entre el antígeno desconoco



cido y la globulina anticuerpo del reactivo. La --  
 reacción se ilustra en el siguiente esquema:

## Método Indirecto



La reacción indirecta se puede usar para simplificar la identificación de los antígenos, ya que sólo es necesario marcar la antiglobulina que se usa como indicador de la combinación específica del antígeno con el anticuerpo no marcado. En otras pala

bras, la globulina anticonejo marcada, preparada en el carnero puede usarse para revelar la fijación de cualquier globulina de conejo a cualquier antígeno.

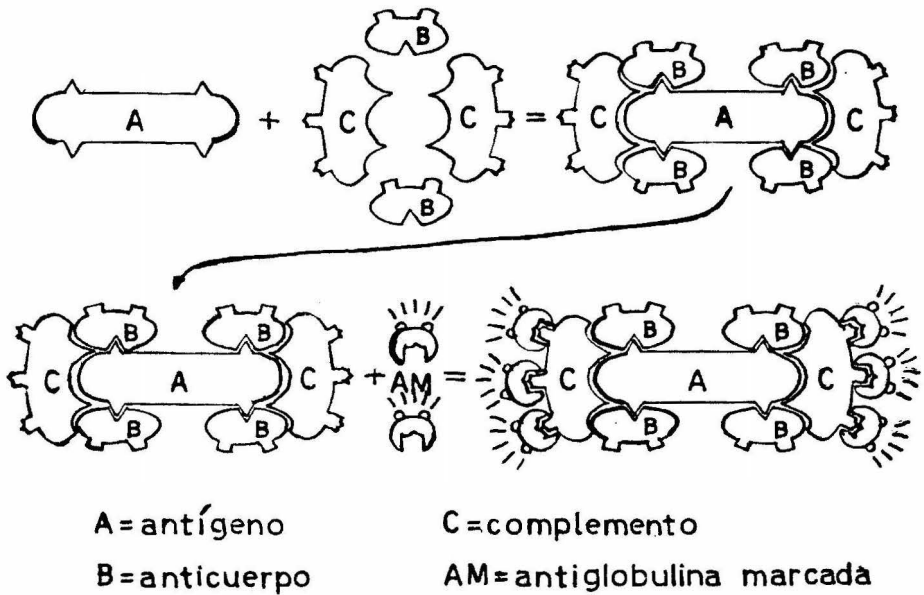
Ya que las pruebas AF indirectas comprenden dos reacciones separadas antígeno-anticuerpo, es obligatorio para el investigador emplear controles adicionales. La tinción fluorescente no debe ocurrir bajo las siguientes condiciones:

- 1.- Si el antígeno no es homólogo al reactivo primario.
- 2.- Si el reactivo primario no es homólogo al reactivo secundario.
- 3.- Si se omite el reactivo primario.

#### TINCION DEL COMPLEMENTO.

La tinción del complemento es semejante - al método indirecto, excepto que, el conjugado anti-globulina (reactivo secundario) no está dirigido contra la especie de la cual se obtiene el antisuero -- (reactivo primario), sino contra la especie de la -- cual se obtiene el complemento. Este último se añade al antisuero durante la primera etapa de la reac----ción.

## Método del complemento



Como el método indirecto, la tinción del complemento permite la identificación ya sea de un antígeno desconocido ó de un suero desconocido; su ventaja principal sobre el método indirecto se hace manifiesta en la reacción de sueros desconocidos, -- donde con un conjugado único (anticomplemento de co-bayo) puede usarse para probar los sueros de cual--- quier especie. Al efectuar esta prueba, un suero --

inactivado que actúa como reactivo primario y una -- cantidad fija de complemento de cobayo se aplican si multáneamente al antígeno. Después de la incubación de costumbre y lavado, el reactivo secundario marcado (anticomplemento de cobayo) se aplica a la preparación y se incuba de nuevo. Después de un lavado fi nal, el examen se hace como en los otros métodos.

## MATERIAL Y METODO

Microscopio Zeiss Junior equipado con lámpara de mercurio de alta presión H.B.O. 200 y fil---tros 47 y II.

Estufa a 37°.

Centrífuga.

Agitador magnético.

Cámara húmeda.

Matraz volumétrico 1000 ml.

Gradilla.

Pipetas serológicas de 10 ml.

Pipetas serológicas de 5 ml.

Pipetas serológicas de 1 ml.

Pipetas serológicas de 0.2 ml.

Tubos de 12 x 75 mm.

Tubos de 5 x 27 mm.

Tubos capilares heparinizados.

Cajas de Koplín.

Porta-objetos 26 x 75 mm.

Cubreobjetos 18 x 18 mm.

Baño maría a 56°.

Papel filtro.

Lápiz de diamante.

Alambre de acero de 10 cm. de largo.

## REACTIVOS:

$\text{Na}_2 \text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$\text{KH}_2\text{PO}_4$

$\text{Na Cl}$ .

Tween 80.

Glicerina.

Alcohol etílico de 96°.

Acido acético glacial.

Globulina antihumana conjugada (laboratorio B. B. L.).

Polvo de hígado de ratón (laboratorio B. B. L.).

## PREPARACION DE SOLUCIONES:

Solución amortiguadora fosfatada de  $\text{pH}$  --  
7.6 .

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  11.876 g/1

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  9.98 g/1

$\text{Na Cl}$  8.5 g/1

a 90 ml. de la solución de  $\text{Na}_2\text{HOP}_4$  añadir 10 ml. de la solución de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 0.85 g. de  $\text{NaCl}$ .

DILUYENTE DEL CONJUGADO:

A 19 ml. de solución amortiguadora de fosfatos de pH de 7.6, agregar 1 ml. de "Tween 80".

GLICERINA TAMPONADA.

a) Preparar una solución de cloruro de sodio al 85%.

b) Preparar por separado soluciones molares de fosfatos mono-potásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) y dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ).

La solución salina reguladora de pH 8.5 se prepara mezclando las soluciones anteriores en la siguiente proporción:

11.68 g/1  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  M/15 en  $\text{NaCl}$  al 0.85%  
100 partes.

9.08 g/1  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  M/15 en  $\text{NaCl}$  al 0.85%  
1 parte.

La glicerina tamponada se prepara de la siguiente manera:

Solución salina tamponada pH 8.5 - - - -  
1 pte.

Glicerina neutra - - - - -  
9 pts

a) Mezclar sin sacudir y dejar reposar va  
rios días para que se separen las burbujas.

b) La solución para preparar las lamini--  
llas debe ser alcalina para obtener la máxima fluo--  
rescencia.

c) La solución debe tener suficiente vis-  
cosidad para evitar que el cubreobjetos se desplace  
cuando las muestras son examinadas con objetivo de -  
inmersión.

#### M E T O D O :

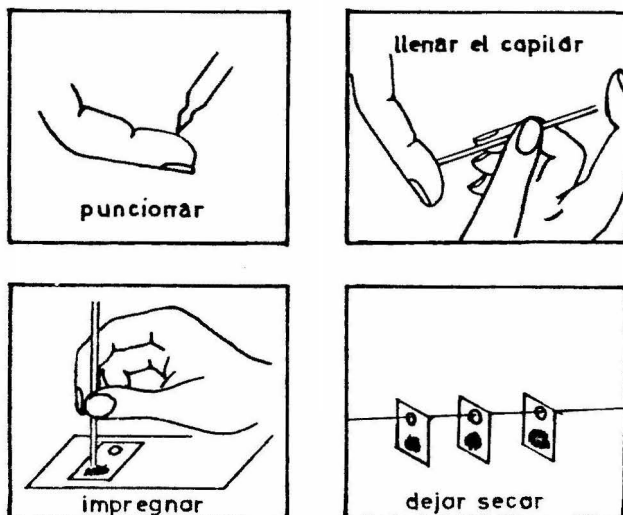
En relación con el diagnóstico de la toxoplasmo-  
sis se cuenta con técnicas inmunológicas específicas  
y sensibles, lo que ha permitido contribuir el diag-  
nóstico de numerosos casos clínicos y realizar traba-  
jos epidemiológicos bastante útiles; sin embargo, --  
estos métodos utilizan 5 ml. de sangre, por lo me---  
nos, para obtener una cantidad necesaria de suero; -  
representa este volumen de sangre una muestra muy --  
grande para ser tomada en niños recién nacidos y pre-  
maturos. Por ello, Ambroise y Kien idearon una micro-  
técnica para la toma de muestra, utilizable tanto en  
niños como para el muestreo de animales pequeños de



laboratorio.

Esta técnica consiste en tomar sangre total por punción capilar, llevando unos tubos capilares heparinizados de 75 mm. de longitud y depositando ésta en un papel filtro de 2 x 2 cm; después, se dejan secar a la temperatura ambiente, pudiendo los papeles conservarse sin alteración de sus anticuerpos a la temperatura del medio o en refrigeración, dentro de un tubo cerrado para evitar la humedad hasta el momento de su recuperación.

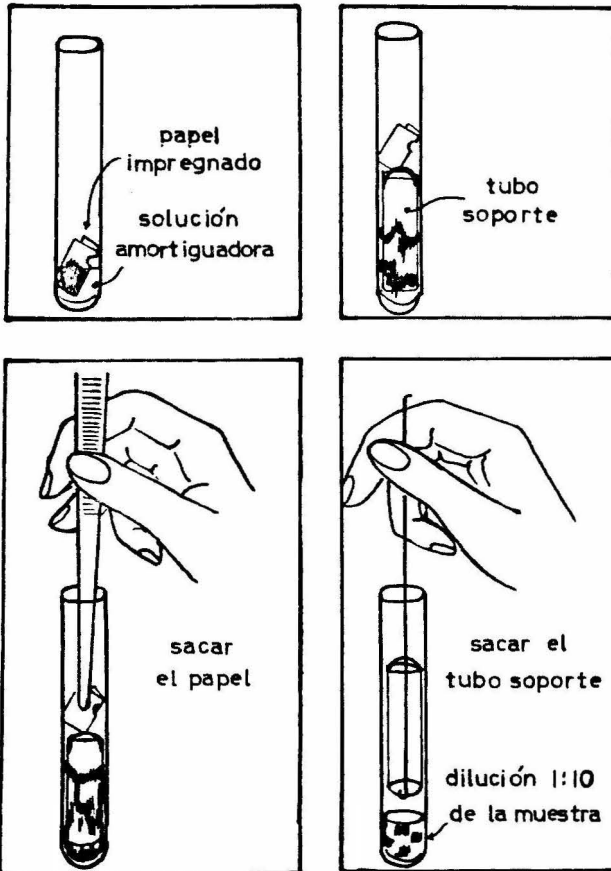
## Obtención de la muestra



### RECUPERACION DE LA MUESTRA:

Una vez que se va a trabajar se procede a dejar el papel en tubo de 12 x 75, agregando 0.280 ml. de una solución amortiguadora de fosfatos de pH 7.2, durante no menos de 3 hrs. en refrigerador. Colocando después un pequeño tubo invertido sobre éste se coloca el papel filtro llevándole a centrifugar durante 5 min. a 3000 r.p.m.; quitar el papel y tubo que sirvió de soporte, quedando una dilución 1:10 pudiendo seguir la técnica de Flecher.

## Recuperacion de la muestra



TECNICA INDIRECTA DE AF PARA TOXOPLASMOSIS ( FLECHER 1965 ).

### Preparación del antígeno:

Cepa proporcionada por el Instituto de Enfermedades Tropicales, de la Secretaría de Salubridad y Asistencia de México.

Se obtiene el exudado peritoneal de ratones infectados con Toxoplasma gondii.

1.- A 1 ml. de exudado (previamente pasado una vez por aguja hipodérmica del No. 27, con el objeto de liberar los toxoplasmas de leucocitos), se le agregan 10 ml. de solución salina al 0.85%. Agitar varias veces el exudado. Centrifugar a 200 r.p.m., 5 minutos, para quitar partículas gruesas.

2 - Separar el sobrenadante y desechar el sedimento. El sobrenadante se vuelve a centrifugar a 2500 r.p.m., 5 minutos, con objeto de separar los toxoplasmas liberándolos del antígeno soluble, el cual queda en el sobrenadante; este último se tira.

3.- Resuspender el sedimento en 3 ml. de solución salina al 0.85% y hacer un frotis con el mismo y teñirle con Giemsa (deben quedar por campo - 43X alrededor de 10 toxoplasmas).

4.- Preparar los frotis. En una laminilla porta-objetos, se hace un anillo con un lápiz de diamante, con objeto de retener las sustancias que se van a incubar, se coloca una gotita del antígeno con una jeringa hipodérmica a la que se le adapta una -- aguja del No. 21. Dejar secar al aire y fijar con -- alcohol etílico de 96°, adicionando ácido acético -- glacial en una proporción del 5%. La fijación se lleva a cabo durante 5 minutos. Dejar secar los frotis y guardarlos en el congelador a 20°. protegidos de la humedad.

## TINCIÓN DE AF INDIRECTA PARA TOXOPLASMOSIS.

1.- Los frotis mantenidos en congelación se sacan y dejan tomar la temperatura ambiente.

2.- Añadir al portaobjetos el suero previamente diluido 1:16, 1:64 con solución amortiguadora de fosfatos de pH 7.6 Al mismo tiempo, se preparan frotis controles usando sueros positivos y negativos frente a la toxoplasmosis. Los sueros son previamente inactivados a 56° en B.M. durante 30 minutos.

3.- Incubar a 37° en cámara húmeda, 30 minutos.

4.- Enjuagar con solución amortiguadora de fosfatos de pH de 7.6 y luego sumergirlos en un recipiente que contenga esta misma solución durante 15 minutos con agitación (alrededor de 200 r.p.m.).

5.- Secar por medio de presión con papel filtro.

6.- Colocar encima una gotita de conjugado antihumano diluido conforme a su título con solución amortiguadora.

7.- Repetir los pasos 3, 4, 5.

8.- Cubrir los frotis con una gota de glicerina tamponada y colocar encima una porta-objetos.

9.- Leer por medio del microscopio de --- fluorescencia.

## Estudio comparativo en madres con niños aparentemente sanos

	NOMBRE	HIJO	MADRE		NOMBRE	HIJO	MADRE
1	H.F.M.	neg.	neg.	26	E.C.S.	neg.	1:16
2	M.H.C.	neg.	neg.	27	R.M.M.L.	neg.	neg.
3	C.V.M.	neg.	neg.	28	A.T.G.	neg.	neg.
4	R.G.C.	neg.	neg.	29	Ch.D.A.	neg.	neg.
5	C.O.M.	neg.	neg.	30	R.H.D.	1:256	1:256
6	H.O.C.L.	neg.	neg.	31	H.S.E.	neg.	neg.
7	B.S.E.	neg.	neg.	32	R.H.M.E.	neg.	neg.
8	F.L.M.	neg.	neg.	33	A.L.R.	neg.	neg.
9	E.V.M.	1:16	1:16	34	O.S.T.	neg.	neg.
10	P.L.P.	neg.	neg.	35	R.B.L.	neg.	neg.
11	C.V.S.	neg.	neg.	36	L.O.M.	neg.	neg.
12	C.M.J.	1:1024	1:1024	37	R.L.L.	neg.	neg.
13	R.G.R.	neg.	neg.	38	M.P.A.	neg.	neg.
14	S.H.D.	1:256	1:256	39	A.M.L.	neg.	neg.
15	S.C.F.	neg.	neg.	40	B.C.M.J.	neg.	neg.
16	B.P.M.	neg.	neg.	41	F.G.J.	neg.	—
17	G.R.S.	neg.	neg.	42	L.G.M.	neg.	—
18	H.G.E.	neg.	neg.	43	M.S.M.deA	neg.	—
19	E.B.S.	neg.	neg.	44	R.P.E.	neg.	—
20	L.O.M.	neg.	neg.	45	R.C.M.L.	neg.	—
21	B.P.M.	neg.	neg.	46	S.R.A.	neg.	—
22	M.D.G.	neg.	neg.	47	S.H.I.	neg.	—
23	L.M.C.L.	neg.	neg.	48	A.B.R.	neg.	—
24	J.R.S.	neg.	neg.	49	H.S.M.T.	neg.	—
25	M.M.A.	neg.	neg.	50	I.C.V.	neg.	—

## Estudio comparativo en madres con niños prematuros o con males congenitos

	NOMBRE	HIJO	MADRE		NOMBRE	HIJO	MADRE
1	V.O.M.	neg.	neg.	26	T.P.E.	neg.	neg.
2	C.G.Y.	neg.	neg.	27	Ch.G.S.	1:64	1:64
3	J.V.R.M.	neg.	neg.	28	H.L.M.	neg.	—
4	M.C.N.J.	1:16	1:16	29	L.S.M.	neg.	—
5	T.L.L.	neg.	neg.	30	L.M.T.	neg.	—
6	H.M.M.C.	1:16	1:16	31	P.V.G.	neg.	—
7	V.M.F.	neg.	neg.	32	R.B.L.M.	neg.	—
8	N.R.	1:256	1:256	33	R.M.T.	1:64	—
9	I.C.E.	neg.	neg.	34	R.R.H.	neg.	—
10	C.S.G.	neg.	neg.	35	S.H.R.	neg.	—
11	G.R.B.	1:256	1:256	36	T.R.M.E.	neg.	—
12	R.V.R.	neg.	neg.	37	M.L.L.	neg.	neg.
13	A.P.N.	1:16	1:16	38	G.G.E.	neg.	neg.
14	S.R.E.	1:16	1:16	39	S.F.G.	1:256	1:256
15	S.A.D.	neg.	neg.	40	M.B.G.	1:16	1:16
16	P.T.Q.	1:16	1:16	41	C.S.A.	neg.	neg.
17	G.R.J.	1:64	1:64	42	A.S.A.	neg.	—
18	G.J.M.	neg.	neg.	43	C.F.J.	neg.	—
19	R.P.E.	neg.	neg.	44	M.L.F.	neg.	—
20	R.C.C.	neg.	neg.	45	R.G.M.F.	neg.	—
21	G.V.A.	neg.	neg.	46	R.B.A.	neg.	—
22	N.G.M.	1:256	1:256	47	H.S.M.E.	neg.	—
23	T.B.A.	neg.	1:16	48	L.M.G.	neg.	—
24	C.G.E.	neg.	neg.	49	R.R.A.	neg.	—
25	S.H.A.	neg.	neg.	50	V.E.B.	neg.	—

Cuadro No.1

CASOS		NORMALES			ANORMALES		
		Num.	% parcial	% total	Num.	% parcial	% total
CONGRUENTES	negativos	35	87.5	97.5	19	61.0	93.0
	positivos	4	100		10	32.0	
INCONGRUENTES	mayor positividad en la madre	0	0	0	1	3.5	3.5
	mayor positividad en el hijo	0	0		0	0	
	madre positiva-hijo negativo.	1	2.5		2.5	1	3.5
TOTAL		40	100	100	31	100	100

Cuadro No.2

CASOS	número	porcentaje de positividad
NORMALES	40	12.5
ANORMALES	31	35



DISCUSION Y  
C O N C L U S I O N E S

En cuanto a la presencia de anticuerpos - contra Toxoplasma gondii, es de esperarse que el recién nacido tenga el mismo título de anticuerpos que la madre. Se trató de establecer esta relación practicando en ambos el estudio, variando únicamente la toma de la muestra. En la madre se toma sangre venosa y en el niño sangre capilar, siguiendo en ambas - la técnica de inmunofluorescencia.

En los trabajos descritos anteriormente, vemos que los diferentes autores han encontrado incidencia de reacciones de toxoplasmosis, tanto en la madre aisladamente, como en la madre y el niño en ca sos de parto normal.

Couyreur y Ben Rashid(1965) estudiaron 47 niños nacidos de mujeres que tenían reacción positiva a la toxoplasmosis durante el embarazo, de los -- cuales 20 tenían manifestaciones clínicas de diver-- so grado y algunos murieron; en los 27 restantes no se encontraron signos o síntomas de enfermedad.

Glasser y Delta (1965) publicaron la ob-- servación de unos gemelos prematuros y aparentemente sanos. Estos autores hicieron estudios histológicos de la placenta, sin interés en la toxoplasmosis, y -

encontraron inesperadamente quistes en el corion, en el amnios y en cordón umbilical de ambos niños, sin reacción inflamatoria en los tejidos y con las vellosidades normales. La reacción de fijación del complemento en la madre fue positiva al 1/32.

Los niños estuvieron normales hasta la -- edad de siete meses y medio, cuando presentaron --- estrabismo; tres meses más tarde, en el examen de - los ojos se encontró ectropia, sinequias y coriorretinitis activa y en la radiografía de craneo había - calcificaciones múltiples.

La reacción de fijación del complemento - fue positiva al 1/64 en ambos. Curaron con tratamiento específico.

Espinoza de los Reyes y sus colaboradores, en 1964 practicaron la reacción de Sabin y Feldman a 329 mujeres y sus hijos. Solamente encontraron 3 niños con lesiones sugestivas de toxoplasmosis. En el grupo de mujeres estudiadas, sólo 112 tenían reac--- ción de Sabin y Feldman positiva (32%).

Los mismos autores mencionan haber podido seguir la evolución de niños nacidos y madres con -- reacción positiva y que estaban aparentemente sanos; estos niños desarrollaron síntomas y signos entre 3 y 9 meses.

Roch y Varela (1966) hicieron un estudio

serológico con 29883 reacciones de Sabin y Feldman - efectuadas de 1953 a 1965 y encontraron los siguientes resultados, tomando muestras de sangre de población humana de diferentes sexos y edades. Separaron el trabajo en varios incisos, a saber:

1) De 14869 muestras, 4411 resultaron positivas a la toxoplasmosis. Realizaron el estudio en todos los estados de la República y demostraron que casi una tercera parte de la población ha sido infectada por Toxoplasma gondii, o sea en un 30%.

2) Al practicar la prueba de Sabin y Feldman, según la edad del grupo de población anterior, separaron 9000 casos con edad conocida; los resultados fueron:

Niños menores de tres meses de vida, positivos en un 38.4%. Este porcentaje disminuye a 25.5% en el segundo trimestre (3 a 5 meses de edad) y, a partir de este momento, se registra un ascenso de positividad a medida que aumentan los años: 27.8% en niños de 1 a 4 años; 35.7% en niños de 5 a 14 años.

En los adultos, los casos positivos siguen aumentando, hasta llegar en los ancianos de 65 años y más a 58.0%.

3) Investigación de toxoplasmosis congénito.

Se realizó la investigación con 2185 binos

mios; a ambos se les hizo historia clínica y reacción de Sabin y Feldman, obteniendo los siguientes resultados:

De los 2186 niños que nacieron vivos, 42 niños presentaron manifestaciones clínicas de toxoplasmosis, correspondiendo 40 a los binomios positivos (19.2%).

4) La reacción de Sabin y Feldman en el diagnóstico en enfermos sospechosos de toxoplasmosis.

En este estudio se practicó la prueba de Sabin y Feldman en 6577 enfermos con diagnóstico de presunción de toxoplasmosis, resultaron positivos 3997, o sea el 60.8%.

Todas estas publicaciones ponen de manifiesto la transmisión de anticuerpos de la madre al hijo.

En los estudios de Roch y Varela y E, de los Reyes se encontraron porcentajes más bajos, debido tal vez a que ellos utilizan "población abierta", es decir, que estudiaron a todas aquellas madres que solicitaron atención ginecoobstétrica, y en cambio este trabajo se llevó a cabo con "población cerrada" o sea que se seleccionaron los casos con los que se formaron 2 grupos, a saber: madres con hijos aparen-

temente sanos y madres con hijos prematuros o con -- malformaciones congénitas, estableciendo al mismo -- tiempo un estudio comparativo, en el cual se puede -- observar un porcentaje más alto de positividad, como se puede ver en el cuadro # 1. También vemos que en el cuadro # 2 se aprecia comparativamente que el por-- centaje de positividad es mayor en los casos anorma-- les que en los normales.

Aunque este trabajo se realizó inicialmente con 50 casos de cada grupo, por presentarse pro-- blemas técnicos no se pudieron llegar a consumir los estudios mas que en 40 y en 31 madres de los 2 gru-- pos, respectivamente. Estando así de acuerdo con -- las publicaciones anteriormente citadas en las que -- se demuestra la trasmisión de anticuerpos de madre a hijo.

---

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Ambroise T. P. y T. Kien Trung, 1966.  
L'immunofluorescence, son principe et ses applications a la seroinmunologie parasitaire.  
La Pharmacien Biologiste, taire.  
6 (59) 19-25.
- 2.- Ambroise, Thomas P., 1969  
Estude seroinmunologique de dix parasitoses par les technogues d'immunofluorescence.  
Institut de Medicine et d' Higiene tropicales  
Faculté dex Medicine de Lyon.
- 3.- Ambroise, T. P., 1970  
Iñmunofluorescence  
Congreso Latino Americano de Parasitología  
1970, 1-20.
- 4.- Antonio Arias y Raúl Saavedra 1966  
Estudio serológico de la toxoplasmosis en el aborto habitual  
Rev. Chile de Paras, 21 (2) 30-33
- 5.- Convreur, J. y N.S. Ben Ragchid, 1965.  
Le toxoplasme. La mere et C'infant  
Arch. Francais de Pediatrie, 22 (10) 1183-1200.
- 6.- Espinoza de los Reyes, y col, 1964.  
Toxoplasmosis humana. Estudio de 329 binomios ma terno fetales,  
Academia Nacional de Medicina, Primer centenario, México. 1, 322-327.
- 7.- Thiermann E, W. Verner Apt 1971  
Ensayo de un nuevo antígeno para la reacción de aglutinación con latex en toxoplasmosis. Revista chilena de Parasitología, 26 (1 y 2) 53-55.

- 8.- Thiermann E., W. Apt y G. Niedmann, 1964.  
Conceptos actuales sobre infecciones intrauterinas por *Toxoplasma gondii* y su importancia en --  
obstetricia. 19, (4) Revista chilena de parasitología 51-57.
- 9.- Fletcher, S, 1965  
Indirect Fluorescent Antibody Technique in the -  
serology of *Toxoplasma gondii*.  
J. Clin. Path 18-193-199.
- 10.- Glasser L. y Delti, B.G. 1965  
Congenital toxoplasmosis with placental  
infection in Monozygotic twins  
Pediatrics Springfield 7 (1) 276-283  
Resumen del Tropical Dis, Bull.
- 11.- Kramar J. y Z. Cerna., 1964  
Immunoflorescenz reactionen in der serologische --  
diagnostik der toxoplasmose Zent F. Bakt I. Abat  
Orig 193, (4) 523-534.
- 12.- Katsube, Y Haguevara, t Mikaya, H. Y.  
Nobuto, K. 1967  
Studies in toxoplasmosis, Isolation of toxo---  
plasma from muscles of humans dogs and cats Jap.  
J. Med. Sci. Biol 20- (5) 413, 419.
- 13.- Langer, H. 1963 Repeated congenital Infection -  
with *Toxoplasma gondii* Obstetreces and Gynecology. 21- (3) 318-329.
- 14.- Molina Pasquel, C. Ontiveros Rodríguez y R. H.  
Uribe, 1971 Rev. Inv. Salud pub. Mexico 3 1 ----  
27-39.  
Investigación de Anticuerpos contra el *Toxoplasma*  
*gondii* por medio de la inmunofluorescencia en mu-  
jeres con embarazos anormales.
- 15.- Molina Pasquel, C. Ontiveros Rodríguez y P. Nava  
Gómez, 1972.  
Investigación de toxoplasmosis en un grupo de mu-  
jeres con hijos normales.

Rev. Invest. Salud Pub. Mexico.  
32.- (1) 63-67.

- 16.- Morris Goldman, 1968  
 Fluorescent Antibody Methods  
 153-181  
 Academic Press, New York and London.
- 17.- Pasmanik, S. y A. Atias, 1964 Uveitis toxoplasmica recidivante. Bol. chileno de Parasitología, 19 (4) 123-125.
- 18.- Restrepo, I. M., Jaramillo, M. V. y Kurtzer A  
 1970 Toxoplasmosis congénita. Presentación de un caso diagnosticado en vida con aislamiento del parásito. Antioquía Médica.- 20 (6) 309-14.
- 19.- Roch, E. y G. Varela, 1966.  
 Diversos aspectos de la Investigación sobre toxoplasmosis en México.  
Rev. Invest. Salud Pub., México, 26 (1) 34-49.
- 20.- Secretaría de Salubridad y Asistencia, 1964  
 Técnicas de Anticuerpos fluorescentes en el diagnóstico de las enfermedades transmisibles, México, 1-12.
- 21.- Sergio Stagno y E. Thiermam 1970  
 Frecuencia de la infección por toxoplasma gondii en niños, Area de Salud Norte, Santiago.  
Revista Chilena de Parasitología 25 (1-2) --  
 16-20.
- 22.- Warren J. y A. Sabin, 1942. The complement fixation Reaction in Toxoplasmosis Infection ---  
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 15 (2) 31-50.
- 23.- Warner, H. y I. Egger, 1968.  
 Die latente toxoplasma infektion des Uterus in ihre Bedeutung fur die Schaggershaft  
 I. Zentl Bakt, 208 (1,2) 122-135  
 Tomado del top. Dis Bull.
- 24.- Werner Apt. A. Arribada, M. Cerpa, L. Corradi, P. Lobos y J. Roesler, 1970



Especificidad y sensibilidad de la intradermo-  
rreacción con toxoplasma Rev. Chilena de Parasito-  
tología 21 (2) 37-41.

25.- Werner Apt 1967

Transmisión congénita Estado actual de problema  
toxoplasma gondii Revista Chilena de Parasito-  
logía 22 (4) 127-131.