

11261
5
20



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA

TOXOPLASMOSIS EN PARALISIS CEREBRAL INFANTIL (P. C. I.)

TESIS CON
VALIA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOMEDICAS
(P A R A S I T O L O G I A)
P R E S E N T A
ANA MARIA FERNANDEZ PRESAS

MEXICO, D. F.

1992



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 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.

INDICE

	PAG.
RESUMEN.	1
HISTORIA.	2
EPIDEMIOLOGIA.	5
AGENTE ETIOLOGICO.	10
CICLO BIOLOGICO.	12
PATOGENIA.	16
FISIOPATOLOGIA.	17
CUADROS CLINICOS.	21
DIAGNOSTICO.	26

TRATAMIENTO.	33
TRATAMIENTO A LA MUJER EMBARAZADA.	36
PREVENCION.	36
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	39
HIPOTESIS.	40
1.1 Objetivo General.	41
1.2 Objetivos especificos (de carácter científico).	42
1.3 Objetivos especificos (de carácter técnico).	42
MATERIAL Y METODOS.	43
PRECIPITACION Y PURIFICACION DE GAMMAGLOBULINAS.	48
FRACCIONAMIENTO DE GAMMAGLOBULINAS.	52

CONJUGACION DE ANTIGAMA-GLOBULINAS HUMANAS CON ISOTIOCIANATO DE FLUORESCINA .	54
INTERPRETACION DE RESULTADOS DE LA INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA .	59
RESULTADOS .	63
ANALISIS DE LOS RESULTADOS .	77
CONCLUSIONES .	82
BIBLIOGRAFIA .	93

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar la existencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. en 328 niños de la Asociación pro personas con parálisis cerebral (APAC) con síndrome de parálisis cerebral infantil (PCI).

La determinación de anticuerpos se realizó por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detección de anticuerpos tipo IgG, la prueba de IFI, se estandarizó con controles positivos y negativos. Se consideró como título de dilución positivo el de 1:64 o mayor.

El antígeno se obtuvo de exudado peritoneal de ratones infectados experimentalmente con *T. gondii*, se fijó con formol al 4% en PBS pH 7.2, y se colocaron en laminillas especiales 10 microlitros de antígeno por pozo, dejándose secar a temperatura ambiente; las gammaglobulinas humanas se obtuvieron por precipitación con sales de amonio con las cuales se inmunizaron conejos para obtener los antisueros correspondientes que se conjugaron con isotiocianato de fluoresceína.

Los resultados obtenidos del presente estudio se presentan en los cuadros del I al IX, en cada uno de los cuales se hacen observaciones y comentarios.

Se hacen conclusiones de los resultados obtenidos y la relación con niños que presentan PCI en la ciudad de México.

HISTORIA.

La toxoplasmosis es una parasitosis cuyo estudio es relativamente reciente, ya que el agente etiológico *Toxoplasma gondii* fue descubierto en 1908 por Nicolle y Manceux, que lo encontraron por primera vez en un pequeño roedor del norte de Africa, *Ctenodactylus gundii*.⁽¹⁾ Estos autores lo denominaron *Toxoplasma gondii*, palabra derivada del griego "toxon" que significa "arco para flecha", en alusión a la forma que asume el parásito.

Posteriormente se le encontró en diversas especies animales recibiendo diferentes nombres. Splendore, en Brasil, también en el mismo año 1908, lo aisló de un conejo ⁽²⁾.

Janku de Checoslovaquia, en 1923 describió este parásito observado en el corte histológico de la retina de un lactante, que aparentemente murió de toxoplasmosis.⁽⁵⁵⁾

Sabin en 1941, reportó toxoplasmosis adquirida en un infante.⁽⁷⁾ Magnusson y Wahlgren (1948), describieron por primera vez toxoplasmosis adquirida en forma ganglionar.⁽⁵⁶⁾

Werner y col. (1963), en un estudio de 47 mujeres con antecedentes obstétricos, consideró que el 30% de las mujeres con antecedentes de aborto habitual, pudiera atribuirse a *T. gondii*.⁽¹⁰⁾ De 1960 a 1970, las investigaciones de Frenkel y col., dieron a conocer el ciclo biológico completo de *T. gondii* y se determinó que sólo el gato y otros félidos ocupan el papel de huéspedes definitivos, ya que en ellos se desarrolla el ciclo sexual del parásito, siendo el hombre uno de tantos huéspedes intermediarios donde se efectúa la reproducción asexual. El gato juega un papel importante dentro de la cadena epidemiológica de la toxoplasmosis en el hombre, asociado a factores socioeconómicos y ecológicos: clima cálido y húmedo.^(4,13)

Mellgren (1952). Remington y col. (1958), Langer y Geissler (1960)

aislaron a *T. gondii*, en endométrio humano.

En 1939, Sabin y Feldman desarrollaron la prueba de tinción con azul de metileno para el diagnóstico.⁽¹¹⁾ Ese mismo año, Warren y Russ obtuvieron antígeno de *Toxoplasma gondii* en embriones de pollo y los utilizaron en la Reacción de Fijación del Complemento.⁽¹²⁾

Frenkel, en (1948) realizó una prueba cutánea usando como antígenos, lisados de *Toxoplasma* obtenidos del exudado peritoneal de ratón,⁽¹⁴⁾ y Garin (1960), introdujeron una prueba de aglutinación, usando una mezcla de partes iguales de antígeno (exudado peritoneal rico en toxoplasmas) y una suspensión de colodión.⁽¹⁵⁾

Remington y cols. (1968) describieron la prueba de inmunofluorescencia indirecta que se convirtió en la más importante para el diagnóstico de la infección así como en la detección de anticuerpos contra *T. gondii*.⁽¹⁰⁾

EPIDEMIOLOGIA.

La toxoplasmosis es una protozoosis zoonótica ubicua, de distribución cosmopolita. La infección humana es muy común, pero la enfermedad clínica es poco frecuente, estimándose que alrededor de un tercio de la población mundial tiene anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*; sin embargo, la tasa de prevalencia en sujetos seropositivos es más alta en regiones tropicales o en algunos países como Francia, en donde por razones culturales, se consume carne cruda. Con algunas excepciones, la seropositividad humana en niños menores de 5 años es baja, luego tiende a elevarse, alcanzando su máximo entre los 20 y 50 años, según la región geográfica.⁽⁴⁴⁾

Se acepta que la frecuencia de la infección es mayor en las regiones más cercanas al Ecuador, y sobre todo, entre las clases sociales menos favorecidas económicamente.⁽⁴⁴⁾

Aparentemente no hay preferencia por razas, sexo o edad, pero en cambio, son factores determinantes los hábitos alimentarios y la susceptibilidad a la infección.

La toxoplasmosis enfermedad, se presenta de manera esporádica con incidencia baja, aunque se han descrito brotes epidémicos con una fuente común de infección. Su importancia en salud pública reside principalmente en la gravedad de la infección congénita, así como con las secuelas que origina.⁽³⁶⁾

Los gatos se infectan ingiriendo carne cruda de pájaros o ratones con quistes tisulares. Las heces de los felinos a su vez son fuente de infección para los herbívoros, hombres y aves. La ingestión de pastos, forrajes o alimentos contaminados con oquistes, es entre otros, uno de los mecanismos de infección más importantes.

El hombre se puede infectar por consumo de carne cruda sobre todo de borregos, cerdos, bovinos y en algunas comarcas, también de cabra. Las tasas de seropositividad elevadas, y de quistes tisulares, están dados frecuentemente por el consumo de ovinos y cerdos e indica que tales animales son fuente importante de infección. El consumo de carne de aves y los huevos tienen importancia epidemiológica secundaria.

Otra fuente de infección para el hombre, son los alimentos

contaminados por ooquistes eliminados con las heces de gatos, cuando las condiciones higiénicas son deficientes.

Trabajos recientes han señalado la posibilidad de que moscas coprófilas y cucarachas podrían actuar como huéspedes de transporte de ooquistes en la contaminación de alimentos.⁽⁴⁵⁾

La prevalencia de toxoplasmosis investigada por medio de pruebas inmunológicas, es muy variable, aún dentro del mismo país; así, se le ha encontrado desde el 100% en la Isla de Pascua, 94% en Guatemala, 84% en París, 65% en Tahití y 30% en Nueva Orleans, en los indios navajos de E.U.A. y en Inglaterra se ha observado cifras bajas.

Biagi y Alemañi (1957), realizando la prueba de intradermoreacción con toxoplasmina encontraron el 13.6% en la población general, siendo más alta la frecuencia 17.7% en edades comprendidas entre los 40 a 49 años, de 30 a 39 años con 16.7%, de 5 a 9 años 16.2%, de 10 a 19 años 12%; y la frecuencia más baja se encontró en edades comprendidas de los 20 a los 29 años, con el 8.1%.⁽¹⁰⁾

En México Roch y Varela (1962), han encontrado la prevalencia media del 20% y hacen notar que la positividad aumenta con la edad, superando el 70% después de los 50 años. ⁽⁶¹⁾

Recientemente Velasco-Castrejón y cols. (1992), encontraron una seroprevalencia del 32% a dilución 1:16; y del 19% a la dilución 1:128, a IFI, en la población general de México al realizar una encuesta serológica nacional para esta parasitosis. ⁽⁶⁰⁾

En Francia el 80% de sujetos están infectados a los 20 años y 90% a los 35, describiendo un riesgo de infección de la población fértil de 7.5%.

El riesgo de infección con *T. gondii* por vía transplacentaria de acuerdo a reportes en Francia señalan un 8% en niños vivos.

En la Ciudad de México, sólo el 1.9% de los recién nacidos han sufrido la infección, pero en realidad existen muy pocos trabajos de investigación en relación a la frecuencia de morbilidad y mortalidad por *Toxoplasma gondii* en nuestro país. ⁽⁴⁴⁾

El método de transmisión del parásito es muy variado, debiendo

considerar en primer término, la transmisión mediante heces de gato. Casi todos los mamíferos (cerdos, perros, ratas, conejos) y algunas aves, son huéspedes intermediarios, el hombre se infecta además, por manipulación o ingestión de carne o vísceras crudas.

Entre los mamíferos hay transmisión por canibalismo o por sus hábitos carnívoros de alimentación. Otros mamíferos herbívoros, también se pueden infectar con heces de gato.⁽⁶²⁾

La transmisión transplacentaria es la más importante, ya que el parásito se disemina por vía sanguínea y se puede alojar en los diferentes tejidos; así en la mujer embarazada, se desarrollan acúmulos de parásitos en la placenta.⁽³⁶⁾ Otra forma de transmisión es durante la lactancia cuando son invadidas las glándulas mamarias, mecanismo válido entre humanos, así como también de mamíferos al hombre. Las gotas de secreción bucofaringea que se liberan al toser pueden tener formas de *T. gondii*.⁽⁴⁴⁾

Hay varios casos de transmisión por transfusión sanguínea y no se descarta el contacto sexual a partir de una endometritis originada por *T. gondii*.

A pesar de su gran difusión y diferentes mecanismos de transmisión, se detectan pocos casos clínicos en la población. En relación a la morbilidad, los datos disponibles hasta la fecha no se prestan a un análisis estadístico certero.

Son ya varios millares los casos que han sido comprobados por aislamiento y observación del parásito, mediante inoculación al ratón, o por su hallazgo en los tejidos, únicos métodos que deben ser considerados de toxoplasmosis, real por detectar al agente etiológico de manera incontrovertible.⁽⁶⁾

AGENTE ETIOLOGICO.

El agente etiológico de la toxoplasmosis es *T. gondii*, parásito de distribución cosmopolita, pertenece al *Phylum: Apicomplexa*, clase: sporozoea, subclase: coccidia, orden: eucoccidia, suborden: eimerina, subfamilia: toxoplasmatinae, género: *Toxoplasma*.⁽³⁹⁾

T. gondii tiene forma curva o de luna creciente, se presenta aislado o en pares en el exudado peritoneal de animales infectados experimentalmente, es algo parecido en su morfología general a las

Leishmanias pero nunca se han visto formas flageladas. Se pueden observar grupos de estos parásitos en los leucocitos mononucleares y en células endoteliales confundiendo con *Leishmanias* cuando se tiñen con colorantes derivados del Romanowski. En las infecciones humanas, los parásitos se demuestran en frote de exudados y en biopsias de tejidos, encontrándose libres, intracelulares o formando quistes.

T. gondii mide de 4 a 6 micras de largo por 3 a 6 micras de ancho, uno de sus extremos es aguzado y el otro ligeramente redondeado (Fig. 1).

En las preparaciones teñidas con colorantes de Wright o Giemsa, el citoplasma se observa de color azul con una masa redondeada teñida de rojo que es el núcleo, éste, se encuentra cerca de uno de los extremos, y en el extremo opuesto se ve una pequeña masa teñida de rojo que ha sido identificado como el cuerpo paranuclear. En preparaciones fijas húmedas teñidas con hematoxilina, el núcleo presenta membrana y endosoma central. Este esporozoo parasita células endoteliales y leucocitos mononucleares del huésped, se le encuentra en líquidos orgánicos (24, 25 y 26)

El trofozoito es ovalado, ligeramente arqueado, mide de 4 a 8 micras de longitud por 2 a 4 micras de ancho. Los quistes varían de tamaño de 50 a 200 micras, son esféricos, se localizan en cerebro u otros órganos. El ooquiste mide en promedio 12 micras, se encuentran en las heces del gato en donde son muy abundantes ya que se eliminan hasta 10 millones diariamente.

Toxoplasma gondii puede parasitar muchos tejidos, principalmente pulmón, corazón, órganos linfoides y células del sistema nervioso central. (36, 40 y 42)

CICLO BIOLOGICO.

Dentro del ciclo biológico de *T. gondii* se encuentran cinco fases fundamentales, por lo que es importante definir algunos términos utilizados⁽⁴⁰⁾ (Fig. 2).

BRADIZOITO.- Trofozoito de *T. gondii*, resultado de una endodiogenia lenta, característica de la fase crónica de la enfermedad, formando quistes verdaderos.

TAQUIZOITO.- Trofozoito de *T. gondii*, resultado de una endopoligenia rápida, característica de la fase aguda de la enfermedad, formando pseudoquistes en conjunto, también denominados colonias terminales.

ENDODIOGENIA.- Proceso de división que consiste en la formación de dos trofozoitos hijos dentro de la célula progenitora, que se desintegra cuando los trofozoitos jóvenes son liberados.

ENDOPOLIGENIA.- Endodiodenias rápidas y en serie, características en la formación de pseudoquistes y esquizontes de las fases enteroepiteliales.

La infección ocurre como consecuencia de la ingestión de ooquistes procedentes de gatos o por el consumo de carne mal cocida que contiene quistes. En el hombre sólo se produce por el desarrollo asexual de *T. gondii* y los ooquistes no se forman en el intestino. Los merozoitos que resultan del ciclo asexual penetran en los linfáticos y sangre dando origen a la formación de quistes en los diferentes órganos y tejidos.

T. gondii presenta un proceso de gametogonia principalmente en el

intestino de félidos domésticos semejante al modelo básico de otros coccidios. El gato se infecta en la naturaleza a través de la ingestión de quistes que contiene la carne infectada de otros animales o por la ingestión de ooquistes presentes en las heces de otros gatos.

En la célula epitelial del tubo digestivo del huésped definitivo se desarrollan primero la fase de reproducción asexual esquizogónica que lleva a la formación de merozoitos. Los merozoitos penetran nuevas células e inician cinco ciclos diferentes (Frenkel 1973). Algunos de los merozoitos se diferencian sexualmente en microgametocitos y macrogametocitos que maduran a microgameto y macrogameto, iniciándose la gametogonia, al ser fecundado un macrogameto por un microgameto móvil dando lugar a la formación de un cigoto o huevo, éste secreta una capa protectora y se transforma en ooquiste, el que después de desintegrarse la célula huésped es expulsado con materias fecales.

La esporogonia se lleva a cabo en los ooquistes formándose primero dos esporoblastos a partir de una célula única, los esporoblastos se transforman en esporoquistes desarrollando una pared quística. Cada esporoquiste dará origen a cuatro esporozoitos (Fig. 3).

Los ooquistes depositados en la tierra por el gato pueden permanecer viables por uno o más años en presencia de humedad.

En el huésped intermediario, ya sea carnívoro o herbívoro, aves o el hombre, la infección se produce por la ingestión de quistes presentes en la carne de animales parasitados o por ooquistes que contaminan los alimentos, así como por vía respiratoria debido a la contaminación ambiental. Esto explica la existencia de toxoplasmosis en los herbívoros (Fig. 4).

El paso de taquizoitos a bradizoitos consiste en una transformación gradual no cíclica que es favorecida por la aparición de la respuesta inmune específica, pero se desarrollan lentamente con número de parásitos pequeños aún en cultivo de células y en ausencia de factores inmunes conocidos. Algunas veces las células infectadas mueren y varios autores creen que los quistes pueden persistir aún en ausencia de células del huésped.

La patogenicidad de cepas de *Toxoplasma* juega un papel muy importante en la destrucción celular. En general los organismos que han sido pasados sucesivamente a animales de laboratorio, especialmente como infecciones agudas, parecen ser más virulento

que los aislados de huéspedes infectados naturalmente. (41)

PATOGENIA

Al penetrar *T. gondii* al huésped no produce lesiones, por lo que no es posible determinar el momento de la infección. El parásito invade cualquier célula de los tejidos del hombre y es a través del torrente sanguíneo que se disemina dando lugar a una parasitemia. La fase de reproducción intensa del parásito o ciclo proliferativo rápido ocurre sólomente en la primo infección, antes del desarrollo de la respuesta inmune. En los periodos de latencia los toxoplasmas están en fase de inactividad dentro de los quistes intracelulares. Posteriormente, la infección puede reactivarse produciéndose otra multiplicación rápida de los parásitos.

En todos los animales es posible que el parásito atraviese la barrera placentaria, originando infecciones al producto "in útero". La infección es originada por las mismas formas parasitarias que se mencionan para los félidos (huésped definitivo), sólo que en los intermediarios, al llegar el parásito

a la pared del intestino es transportado por vía sanguínea a diferentes órganos y tejidos donde se reproduce por bipartición dentro de las células, hasta la formación de quistes.

FISIOPATOLOGIA.

Se ha considerado que la toxoplasmosis en animales y humanos es asintomática debido a una respuesta inmune protectora. La principal forma patógena de *Toxoplasma gondii*, son los taquizoitos, los cuales invaden activamente las células del huésped por su organelo anterior (conoide de penetración), que al liberar enzimas proteolíticas provocan trastornos en la célula huésped (Fig. 5). Este organismo invasor es rodeado por una vacuola parasitófora, entonces los taquizoitos se dividen por bipartición y endodiogenia, (Fig. 6) formándose de 8 a 32 taquizoitos intracelulares, la célula se desintegra probablemente como resultado de competencia del parásito con procesos esenciales del huésped. Los bradizoitos son las formas de multiplicación lenta en infecciones crónicas permaneciendo en la célula huésped por periodos prolongados, acumulando decenas a centenas de organismos. Están protegidos por una pared quística, que se desarrolla de la vacuola parasitófora.

Los anticuerpos circulantes y los mecanismos de inmunidad celular protegen al huésped de la diseminación, es por ello que al presentarse inmunodeficiencias, como consecuencia de otra enfermedad concomitante o por administración de quimioterapia inmunosupresora o por cualquier mecanismo que deprima las defensas generales del paciente, es que se desencadena la reinfección o diseminación. La gran afinidad de *T. gondii* por el sistema reticuloendotelial y por el endotelio de los vasos, permite que se multiplique en las células de estos tejidos, produciendo exudado seroso en las cavidades orgánicas, necrosis de las zonas invadidas y granulomatosis con calcificaciones en el caso de lesiones cerebrales.

Las lesiones son originadas por la proliferación del parásito dentro de las células susceptibles que son destruidas, y por la ruptura de quistes, que al liberar antígenos en un medio inmune, da lugar a una reacción inflamatoria acentuada por hipersensibilidad, llegando a afectar zonas tisulares de 100 a 400 micras de diámetro. En torno a las células parasitadas se presenta una reacción inflamatoria de tipo granulomatosa a base de mononucleares.

Las células parasitadas son destruidas y cuando esto ocurre en ce-

lulas neuronales, se produce daño irreversible.

En pacientes embarazadas y en el transcurso de una parasitemia, llegan los toxoplasmas a través del cordón umbilical hasta el producto, siendo posible que estos atraviesen la placenta sin que existan alteraciones tisulares perceptibles. Se han encontrado quistes del parásito en el cordón umbilical, membranas ovulares y vellosidades terminales.

La demostración de quistes del parásito en el epitelio del amnios, plantea la interrogante de, si además de la vía hematógica a través del cordón umbilical, puede resultar también infectado el feto por la llamada "endometritis toxoplásmica", con penetración del agente patógeno en el líquido amniótico. Como condición previa para esta vía de infección debe considerarse la presencia de quistes de parásitos en el endometrio, cuya demostración se ha logrado en frotis vaginales y en sangre menstrual, así como inoculando tejido uterino a ratones blancos.⁽¹⁰⁾

Frenkel clasifica las lesiones tisulares de la toxoplasmosis en las siguientes modalidades:

1. Reacción inflamatoria por destrucción de células parasitadas, en especial durante la fase proliferativa del parásito y en tejidos donde no hay regeneración celular como son ojo y cerebro.

2. Necrosis tisular por ruptura de los quistes durante la fase crónica. Los parásitos al ser liberados son destruidos al pasar al torrente circulatorio presentándose necrosis de células adyacentes como resultado del fenómeno de hipersensibilidad. Estas lesiones y su sintomatología será mayor mientras más numerosos y grandes sean los quistes rotos. Este tipo de lesiones se presentan con mayor frecuencia en retina.

3.- Infarto y necrosis. Ocurre cuando los vasos sanguíneos son afectados por estar junto a una lesión parenquimatosa. En cerebro ocurre más frecuentemente que en otros órganos donde se calcifican siendo visibles a los rayos X.

4.- Necrosis periacueductual y periventricular. El parásito penetra a ventrículos a partir de lesiones parenquimatosas, afecta las células endimarias y subependimarias. Se observa reacción inflamatoria con formación de pequeñas úlceras que pueden obstruir

el acueducto de Silvio, si esto ocurre, los ventrículos laterales y el tercer ventrículo se transforman en una cavidad que contiene al parásito, material antigénico y células inflamatorias, esto sólo se presenta en toxoplasmosis transmitida por vía transplacentaria.

CUADROS CLINICOS.

En la toxoplasmosis, la sintomatología varía mucho dependiendo de diversos factores, entre ellos la localización de los parásitos en el organismo y la edad en la cual se adquiere la parasitosis, ya sea "in útero" o después del nacimiento, en adultos o niños. En la mayor parte de los casos es asintomática o inespecífica, por lo que puede ser confundida con otras infecciones. Los cuadros que se presentan se clasifican en:

Ganglionar: Es la más frecuente en adultos y escolares, se presenta adenopatía que involucra ganglios superficiales, principalmente cervicales, suboccipitales, axilares o inguinales. En algunos casos afecta ganglios mediastinales y retroperitoneales. Los síntomas principales son: malestar general, fiebre, dolor de cabe-

za y mialgias que ceden cuando mucho en un mes.

En la tercera parte de los casos se presenta hepato y esplenomegalia; en la biometría hemática se reportan linfocitos atípicos como los observados en la mononucleosis infecciosa.

Generalizada: A la forma ganglionar se agrega hepatomegalia, esplenomegalia, miocarditis, neumonitis y miositis. Esta forma de toxoplasmosis es rara en adulto, pero frecuente si éste se encuentra inmunodeprimido, en estos pacientes se presentan alteraciones encefálicas como son confusión, hipertensión intracraneana, alteración de los reflejos osteotendinosos y manifestaciones de localización tales como convulsiones parciales o parálisis y coma.

Ocular: En el adulto esta forma de toxoplasmosis se debe casi siempre a secuelas de una infección adquirida in útero, aunque hay algunos casos de infección adquirida posteriormente. El parásito genera hipersensibilidad y reacción inflamatoria, uveítis y retinocoroiditis.

La toxoplasmosis intrauterina o congénita, es adquirida por el

producto durante el embarazo. Esta infección se realiza por vía transplacentaria, ya que los parásitos proliferan en la placenta e infectan al producto. La gravedad del proceso patológico está en proporción inversa a la edad gestacional en la que ocurre la invasión del producto.

La frecuencia de la invasión al feto es constante y varía en función a la fecha que la madre adquirió la enfermedad. En Francia reportan ; 20% en el primer trimestre del embarazo, 25% en el segundo y 65% en el tercer trimestre, con un riesgo total estimado en 39%.

La toxoplasmosis congénita y de acuerdo al daño con que se presenta en el feto se clasifica en forma grave, forma latente, y forma intermedia.

Forma Grave: En esta forma se presentan alteraciones neurológicas de tipo encefalomiелitis clásica, con cambios en el volumen craneano como hidrocefalia y/o microcefalia, microftalmía, signos de daño cerebral manifestados por transtornos del tono o convulsiones.

A la observación del fondo de ojo se detectan lesiones características de retinocoroiditis. El laboratorio reporta considerable aumento de albúmina en LCR. En las radiografías de cráneo se observan calcificaciones curvilíneas periventriculares que se corroboran en la tomografía y que permiten precisar el grado de daño cerebral y de dilatación ventricular.

La encefaliomielitis como consecuencia de una infección fetal da origen a secuelas que agravan el pronóstico (signos de alteración multivisceral), se presenta septicemia, con ictericia, hepatoesplenomegalia y púrpura trombocitopénica. Un tratamiento adecuado permite evitar el daño al Sistema Nervioso Central.

En algunos casos las lesiones multiviscerales van asociadas a lesiones neurológicas de encefaliomielitis.

Forma Latente: Esta es la más frecuente, ya que cuando se presenta en mujeres embarazadas, los exámenes serológicos reportarán la probable invasión al feto.

Los riesgos potenciales, como las alteraciones neurológicas u oculares secundarias, deben ser del conocimiento de los padres,

por lo que el tratamiento será indispensable para el neonato aparentemente sano.

Forma Intermedia: En esta forma clínica de la toxoplasmosis, el diagnóstico es fortuito, se presenta como consecuencia de una toxoplasmosis materna, se observan lesiones oculares o calcificaciones intracraneanas en un niño aparentemente sano.

Las complicaciones que pueden ocurrir, cuando la infección se adquiere en el período prenatal y de acuerdo a la edad gestacional son las siguientes:

- a) Muerte intrauterina del feto y aborto.
- b) Parto prematuro de un feto dañado y óbito.
- c) Desarrollo de toxoplasmosis neonatal en un niño aparentemente sano pero que ya presentaba la infección.

En pacientes, particularmente recién nacidos en los que pudiera pasar inadvertida la presencia de los parásitos, se pueden presentar secuelas que aparecen en algunos meses, o hasta más de

dos años después del nacimiento, como son retraso mental, cuadros convulsivos, calcificaciones intracraneales, sordera, pérdida parcial de la visión, estrabismo, parálisis y otras más clasificadas como síndrome de parálisis cerebral infantil (PCI) (Fig. 7).⁽⁵⁹⁾

DIAGNOSTICO.

Debido a que el cuadro clínico es variado, el diagnóstico definitivo se hace por la demostración de *T. gondii* en líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, sangre, esputo, biopsias de ganglios, de médula ósea, de placenta o *post mortem*, que son métodos parasitológicos.⁽⁶⁵⁾

Una vez aislado el parásito, se logra identificar mediante el uso de colorantes como Giemsa o Wright y así observar su morfología característica. También se le puede encontrar en cortes histológicos de tejidos. Sin embargo, este método con muy poca frecuencia da resultados positivos, pero aún así siempre que se pueda se deberá practicar.

Otra manera de lograr el aislamiento del parásito es por medio de inoculación al ratón blanco, recurso de utilidad en base a que este animal no sufre la infección en forma espontánea. Las muestras a inocular pueden ser las mismas ya mencionadas para el examen directo, este método muestra una gran sensibilidad ya que se obtiene el 89% de resultados positivos cuando se trata de toxoplasmosis congénita probada.

En el caso del recién nacido con toxoplasmosis, la inoculación al ratón con sangre del niño en la primera semana del nacimiento, da un 75% de resultados positivos; sin embargo, se negativiza totalmente después de un mes y sólo alcanza un 52% de casos positivos en las infecciones latentes. Una desventaja de estos métodos que, aunque son los más efectivos, es que necesariamente requieren de personal especializado en el manejo del parásito por los riesgos de contaminación, y por otro lado en ocasiones es necesario esperar hasta seis semanas para obtener resultados adecuados. Las pruebas inmunológicas ocupan un lugar preponderante en el diagnóstico de la toxoplasmosis, particularmente en infecciones congénitas.

De estas pruebas, se considera como fundamental o clásica, la

reacción de Sabin y Feldman, llamada también prueba del colorante o Dye test que se basa en la capacidad que normalmente tiene *T. gondii* de captar un colorante (azul de metileno), por lo que se tiñe de azul, afinidad que se pierde cuando se ponen en contacto con antisuero específico, mientras que los parásitos no tratados con sueros inmunes se colorean intensamente de azul. ⁽³²⁾

Para que esta reacción se lleve a cabo, se requiere de una cantidad determinada de una sustancia presente en el suero humano normal o de cobayo, conocido como "factor accesorio" que tiene la propiedad de ser termolábil. Para la realización de esta prueba se utilizan parásitos vivos, lo que es un inconveniente el mantener la cepa en el laboratorio por el riesgo de infección en las personas que manipulan a los animales, debido a esto, la prueba ha sido reemplazada en la mayoría de los laboratorios por otras técnicas menos complicadas como la prueba de hemaglutinación indirecta (IHA) y ELISA. ^(29y30)

En la intradermoreacción de Frenkel que utiliza antígeno de *T. gondii* (toxoplasmina), los resultados tienen un significado semejante a la prueba de la tuberculina, puesto que ambas se hacen positivas de las 20 a las 24 horas. El resultado se lee a las 24,

48 y 72 horas, Cuando es positiva, en el lugar de la infección aparece un eritema con un nódulo en la parte central. El resultado se da midiendo el diámetro del eritema, como en pruebas semejantes. (27 y 28)

En los últimos años se han incluido en el arsenal de recursos de diagnósticos inmunológicos a la reacción de inmunofluorescencia indirecta (IFI), en la cual se utilizan antigamaglobulinas humanas conjugadas con isotiocianato de fluoresceína y es posible identificar la presencia de anticuerpos específicos contra *T. gondii*, también con la prueba de ELISA, se puede detectar la existencia de IgG e IgM específicas. Ambas pruebas son de gran valor diagnóstico en una infección de reciente adquisición.⁽⁶⁵⁾

La infección por *T. gondii* induce la producción de inmunoglobulinas de tipo IgG, IgA e IgM, en algunos casos los títulos permanecen por largos períodos sobre todo la IgG, esto dificulta la interpretación de pruebas serológicas. Las características antigénicas del parásito unido a técnicas como ELISA, aglutinación o inmunoabsorbente (ISAGA), Inmunoblot, ELIFA (Enzyme linked immune filtration), inmunocaptura y el uso de anticuerpos monoclonales ha permitido establecer el tipo de

inmunoglobulina predominante en las diversas etapas de la enfermedad, permitiendo hacer un diagnóstico más certero de la misma. (47, 48, 50, 51, 52 y 53)

Dependiendo del método utilizado serán los tipos de inmunoglobulinas específicas contra *T. gondii* que se identifiquen, coincidiendo en la mayoría que la IgM e IgG se detectan en la fase aguda de la enfermedad. Los métodos de ELIFA y ELISA en la fase temprana de la toxoplasmosis congénita detectan IgM, IgG e IgA. ELISA también las detecta en la fase crónica, el inmunoblot detecta mayor título de IgA en la etapa temprana y posteriormente IgM e IgG. (4, 47, 48, 49, 50, 51 y 52)

Los métodos antes mencionados son alternativos para usarlos en lugar de métodos clásicos del diagnóstico en esta enfermedad.

Según la experiencia de varios autores, la reacción de inmunofluorescencia indirecta para la demostración de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, es equiparable en cuanto a su valor diagnóstico, a la prueba de Sabin y Feldman y no representa riesgo alguno.

Las reacciones positivas a la prueba de inmunofluorescencia indirecta a partir de una dilución del suero de 1:64, poseen valor diagnóstico y permiten diferenciar toxoplasmosis antigua en su estado inicial.

El diagnóstico serológico definitivo en un recién nacido se efectúa en caso de sospecha de infección reciente, mediante la demostración de anticuerpos específicos de tipo IgM con dilución positiva 1:12, después del tratamiento del suero con absorbente de factor reumatoide o en general cuando la prueba se realiza en repetidas ocasiones (mínima dos), con diferencia de 21 días y se encuentran títulos crecientes, de tal manera que si el incremento es de dos diluciones, es indicio de toxoplasmosis en fase aguda.

Cuando se realiza la determinación de IgM, debe evitarse o tomarse en cuenta una probable interferencia del factor reumatoide presente en el suero a estudiar, así como la competencia que pudiera ocurrir con la IgG específica contra *Toxoplasma*, lo cual se logra, tratando la muestra a examinar, con anticuerpos anti-IgG humana obtenida en oveja.

El interpretar los resultados de las pruebas inmunológicas en las

infecciones, no es fácil, especialmente cuando las manifestaciones clínicas son variadas, como sucede en la toxoplasmosis. La infección asintomática representa un problema de tipo médico y social importante, pues existen personas con infecciones crónicas cuyas pruebas serológicas pueden ser positivas o aún negativas y que desde el punto de vista clínico, se les puede calificar como normales.

Si se considera que en algunos lugares el 50% de los adultos entre los 15 y 40 años de edad están infectados con *T. gondii*, que es la etapa de la vida cuando habitualmente ocurre la reproducción humana, de ahí se ve la importancia de la búsqueda de infecciones en la mujer embarazada, aún asintomática, por el riesgo de que el producto llegue a infectarse. La IgM no atraviesa la barrera placentaria, así que cuando se demuestra este tipo de anticuerpos en el recién nacido, indican evidentemente una infección durante la vida intrauterina.

De manera inversa, la IgG es capaz de atravesar la barrera placentaria de tal manera que la IgG específica encontrada en el niño puede ser de origen materno, requiriendo pruebas de control a intervalos regulares para realizar un estudio comparativo de los

resultados, con objeto de determinar el origen materno o fetal, de las IgG encontradas.

La detección de IgM específica contra *T. gondii* puede obtenerse con la técnica de inmunofluorescencia indirecta o por el método de ELISA, con la característica de que esta última, da de 75% a 88% de positividad. Cuando el paciente recibe tratamiento, la evaluación serológica es variable.

TRATAMIENTO.

Los medicamentos que se disponen en la actualidad, son ineficaces contra la forma quística del parásito, lo que explica la reinfección posterior, a pesar del tratamiento adecuado.

QUIMIOTERAPICOS.

Antibióticos

Espiramicina: Se administra a dosis de 30-50 mg/Kg de peso por día

durante 4 a 6 semanas. No es teratogénica por lo que puede usarse durante los dos primeros trimestres del embarazo.

Se sabe que la parasitemia toxoplásmica, dura aproximadamente 48 horas, invadiendo inmediatamente las células, período en que la espiramicina, tiene una acción efectiva sobre el parásito.

La espiramicina constituye un tratamiento alterno en todos los tipos de toxoplasmosis, con excepción de la retinocoroiditis.

Clindamicina: Se utiliza habitualmente a dosis de 300 mg. 4 veces al día para adultos, durante un mes y debe asociarse a sulfas. Este medicamento es incapaz de atravesar la barrera hematoencefálica, y por lo tanto no funciona en el tratamiento de la toxoplasmosis congénita o en pacientes con encefalitis toxoplásmica.

La inyección retrobulbar de clindamicina es eficaz, ya que elimina *T. gondii* de los ojos de conejos con retinocoroiditis toxoplásmica experimental.

Sulfadiazina, sulfatiazol: 50 a 100 mg/kg/día en dos tomas orales durante varias semanas. Está contraindicado durante el embarazo,

prematurez y en las dos primeras semanas de vida. Estos medicamentos ya no existen en el mercado en México.

Sulfametoxipiridazina: En adultos, 1/g/día durante un mes. En niños 500/mg/kg/30 días. En México ya no existe este medicamento.

Piremetamina: Se emplea a dosis de 0.5 a 1 mg/kg/día en dos tomas. Su toxicidad para médula ósea es considerable (riesgo de trombocitopenia, anemia y granulopenia); por lo que se ha retirado de la práctica médica en otros países, en México aún existe. Su actividad sobre el parásito, así como su toxicidad medular (reversible a la suspensión del tratamiento), son debidas a su acción antifólica. Estos efectos hematológicos pueden ser prevenidos en gran medida, mediante la administración de 5 mg, por vía IM de ácido fólico durante una semana, sin que por esto disminuya su actividad terapéutica, ya que el parásito no utiliza el ácido fólico, hay que vigilar al paciente mediante biometrías hemáticas semanales.

La combinación de sulfadiazina y espiramicina es el tratamiento más eficaz por lo que se ha generalizado este esquema terapéutico.

TRATAMIENTO A LA MUJER EMBARAZADA.

Entre los medicamentos activos contra la *T. gondii*, sólo los anti-bióticos no son peligrosos para el feto. Entonces deberá utilizarse la espiamicina según el esquema siguiente (del cual hay variantes de acuerdo a diferentes criterios).

El tratamiento se inicia con dosis de 3 a 4 g/día durante seis semanas. Posteriormente, la misma dosis durante diez días cada mes, hasta el fin del embarazo.

Este tratamiento precoz de la toxoplasmosis en la mujer embarazada se ha puesto en práctica ya que es posible seguir sistemáticamente la pista en las reinfecciones, lo que ha permitido disminuir de modo considerable los problemas de la toxoplasmosis congénita. ⁽⁶⁵⁾

PREVENCION.

La infección por *Toxoplasma gondii*, aparentemente se adquiere con gran facilidad, debido a que existen múltiples mecanismos de

transmisión, lo que hace difícil establecer medidas preventivas eficaces.

Son depósitos importantes de ooquistes, las cajas de arena, macetas, jardines, y sitios donde el gato y otros félidos, depositan sus heces pudiendo así adquirirlos el hombre y los animales. Los transmisores como moscas, cucarachas y otros insectos, pueden favorecer la diseminación de los ooquistes hacia varios ambientes.

Se ha probado experimentalmente que *Musca domestica* es capaz de transmitir ooquistes de *T. gondii* desde las materias fecales contaminadas del gato hasta depósitos de leche durante un período de 24 horas.

En la literatura se citan dos brotes epidémicos famosos: uno en Atlanta Georgia, donde los encargados de las instalaciones de un establo de caballos contrajeron la enfermedad; esto, se relacionó con los gatos que vivían en el lugar y que se alimentaban de ratones infectados. Otro es el caso de 110 estudiantes de medicina de Sau Paulo, Brasil, que se infectaron por comer hamburguesas mal cocidas durante un receso de sus actividades académicas.

Tomando en cuenta las dificultades existentes para la prevención de la toxoplasmosis, estas, se pueden llevar a cabo observando los siguientes aspectos:

- Evitar el consumo de carne mal cocida. El mejor método para la destrucción de los quistes es cocer bien los alimentos, pues el parásito no resiste temperaturas superiores a 66°C. La congelación de la carne infectada a -2°C durante unas cuantas horas también los destruye.
- Evitar el consumo de leche o de agua sin hervir.
- Lavar en forma adecuada las frutas y vegetales antes de su consumo, sobre todo, si estos últimos, se ingieren sin cocer.
- El aseo de las manos, sobre todo, antes y después de manipular alimentos, es primordial.
- Eliminar las deyecciones de los gatos, tan pronto estas sean depositadas en el suelo, es recomendado realizar esta práctica con guantes desechables, trasladándolas a depósitos especiales.

Para la mujer embarazada, además de las medidas de prevención anteriores, evitar el contacto con gatos o sus crías.

En la actualidad, la realización de pruebas inmunológicas para el diagnóstico de toxoplasmosis es obligatoria por ley en Francia (decreto 17, III, 78), ya que se realiza el estudio como rutina de los exámenes prenupciales, y además, se practica en el primer examen del embarazo, lo que permite aplicar medidas preventivas adecuadas y oportunas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria de distribución cosmopolita que puede desarrollarse en gran número de huéspedes vertebrados, siendo el huésped definitivo el gato doméstico y animales de la familia *Felidae*. La infección por *Toxoplasma gondii* habitualmente ocurre a través de vía digestiva, los parásitos pueden penetrar y proliferar en todas las células del cuerpo formando quistes que permanecen viables por largos períodos. El problema importante que se presenta, es cuando la infección toxoplásmica que se encontraba latente se activa en mujeres embara

zadas, en donde puede presentarse transmisión transplacentaria al feto, la cual se traduce en lesiones de diversos tejidos, principalmente Sistema Nervioso Central y ojo. Los niños que logran sobrevivir presentan trastornos irreversibles en el Sistema Nervioso. En la Ciudad de México se estima que hay aproximadamente 2000 deficientes mentales por año a causa de la toxoplasmosis y en estudios realizados por Fernández Torrano, et al, en el oriente del Estado de Tabasco, revelan que la toxoplasmosis es una de las causas principales de aborto en esta región de la República Mexicana. (57)

Siendo esta enfermedad asintomática en el adulto, es necesario establecer un diagnóstico temprano e implementar técnicas serológicas rutinarias en mujeres embarazadas, realizando pruebas en diferentes etapas de la gestación, de esta manera, se podrían prevenir posibles trastornos en el producto como es el síndrome de parálisis cerebral infantil.

HIPOTESIS.

Por algunos estudios realizados en nuestro país, se ha observado

que la toxoplasmosis es frecuente en el hombre y especialmente en los niños. Como este parásito atraviesa la barrera placentaria y ataca las células en neoformación del producto, produciéndole lesiones en el Sistema Nervioso Central, entre otros, es de esperarse que algunos niños con parálisis cerebral infantil, tengan como origen de su problema, una infección previa con *Toxoplasma gondii*.

OBJETIVOS.

1.1 Objetivo General.

- Detectar niños con Síndrome de Parálisis Cerebral Infantil (PCI).
- Determinar, mediante pruebas serológicas la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, en niños con parálisis cerebral infantil (PCI).
- Determinar en base a hallazgos clínicos y de laboratorio la posible relación entre (PCI) y toxoplasmosis.

1.2 Objetivos específicos (De carácter científico).

- a) Mediante estudios clínicos se escogerán casos de niños con PCI.
- b) Se correlacionarán los casos de PCI con positividad o negatividad a la reacción de inmunofluorescencia indirecta (IFI).
- c) En casos de PCI positivos a la reacción de inmunofluorescencia indirecta, se procurará localizar a la madre para obtener suero de ésta y efectuar la prueba correspondiente.
- d) Correlacionar los binomios madre e hijo positivos a altos títulos en la reacción de inmunofluorescencia indirecta, para toxoplasmosis y determinar la implicación de los hallazgos clínicos del producto con otros embarazos.

1.3 Objetivos específicos (de carácter técnico).

Al determinar si los hallazgos obtenidos pueden funcionar como indicadores de la presencia y transmisión de *Toxoplasma gondii* en niños que se encuentran en la Asociación pro personas con Parálisis Cerebral Infantil.

MATERIAL Y METODOS.

Obtención de sueros.

Material:

Ligadura

Torundas de algodón

Jeringas de 10 ml.

Tubos de ensayo de 13 mm x 10 cm.

Aplicadores de madera

Pipetas Pasteur

Bulbo

Gradilla

Centrífuga clínica.

PROCEDIMIENTO.

Se estudiaron 328 sueros colectados en la Asociación pro personas con parálisis cerebral (A.P.A.C.). Las muestras se colectaron en forma estéril por punción de las venas superficiales del antebrazo. La sangre se dejó coagular a temperatura ambiente y el

suero se separó por centrifugación y se almacenó en alícuotas de 2 ml. a -20°C hasta su estudio.

De los 328 sueros, 97 fueron positivos a la Inmunofluorescencia indirecta, sólomente se pudo realizar el estudio clínico completo en 59 niños que fueron positivos a (IFI) y presentaron Síndrome de Parálisis Cerebral Infantil.

Se estudiaron 64 sueros de personas sin parálisis cerebral infantil colectados en el Instituto Nacional de Pediatría (INP) y donados por el Q.F.B. Jaime García Rosales, los cuales se tomaron como control negativo.

MATERIAL Y METODOS.

Obtención de antígeno de *Toxoplasma gondii*.

Material:

Matraces de Erlenmeyer

Cajas de Petri

Pipetas Pasteur

Centrifuga clínica

Microscopio con contraste de fases.

Ratones blancos cepa CD-1

Cepa de *T. gondii*

Formol al 4%

Amortiguador salino de fosfatos

Solución salina isotónica estéril.

PROCEDIMIENTO:

Para mantener la cepa de *Toxoplasma gondii*, se inocularon cinco ratones por vía intraperitoneal con 0.2 ml. de solución salina isotónica conteniendo toxoplasmas. El inóculo se preparó mezclando 0.1 ml de exudado peritoneal de ratón parasitado con 0.9 ml de solución salina.

La cepa de *Toxoplasma gondii* fue proporcionada por el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica de la Secretaría de Salud.

COSECHA.

1. Dejar transcurrir tres días después de la inoculación.
2. Sacrificar ratones.
3. Fijarlos a una tabla de disección.
4. Previa asepsia y antisepsia abrir cavidad peritoneal.
5. Extraer el exudado peritoneal con jeringa y aguja.
6. Checar abundancia y limpieza de parásitos.
7. Colocar el exudado en tubos de centrifuga.
8. Centrifugar a 200 rpm durante 10 minutos.
9. Colectar el sobrenadante.
10. Resuspender el sedimento en PBS pH 7.2 y volver a centrifugar a la misma velocidad.

11. Repetir el paso anterior tres veces.
12. Juntar todo el sobrenadante y centrifugar a 3000 rpm durante 15 minutos.
13. Repetir el paso 12 y lavar por centrifugación tres veces.
14. Resuspender en formol al 4% en PBS pH 7.2.
15. Diluir la suspensión hasta tener aproximadamente de 20 a 30 parásitos por campo microscópico con objetivo 20 X.
16. Colocar el antígeno en laminillas especiales, 10 microlitros por círculo.
17. Dejar secar a temperatura ambiente.
18. Guardar las laminillas en congelación hasta el momento de su uso.

PRECIPITACION Y PURIFICACION DE GAMMAGLOBULINAS.

Según técnica descrita por Ann Hebert, modificada por Ruiz González y Fernández Presas A.M. ⁽⁶⁴⁾

Las sales neutras producen efectos notorios en las proteínas globulares.

A bajas concentraciones, las sales incrementan la solubilidad de muchas proteínas, fenómeno al cual se le denomina "solubilidad en salado".

La capacidad de las sales neutras para influir en la solubilidad de las proteínas depende de su fuerza iónica, de la concentración y del número de cargas positivas y negativas.

Los efectos de este fenómeno son causados por los cambios en la tendencia a ionizarse de los grupos -R dissociables. Cuando la fuerza iónica de la solución aumenta, la solubilidad de las proteínas disminuye; a este fenómeno se le conoce como "precipitación en salado".

PROCEDIMIENTO.

1. Añadir 2 volúmenes de suero y un volumen de solución saturada de amonio en PBS ph 7.2, el sulfato se añade gota a gota.
2. Agitar en frío a 4^oC durante 30 minutos.
3. Centrifugar a 4000 r.p.m. durante 15 minutos.
4. Desechar el sobrenadante y resuspender el pellet en solución de PBS 7.2 (2 vol.), más 1 vol. de solución de sulfato de amonio.
5. Agitar a 15 minutos.
6. Centrifugar 15 minutos a 4000 r.p.m.
7. Desechar el sobrenadante y repetir 2 veces desde el paso 4 al 6.

8. Después del tercer lavado, desechar el sobrenadante y resuspender en solución salina 8.3% a la mitad del volumen del suero utilizado.

9. Dializar con solución salina hasta eliminar el sulfato de amonio.

PRUEBA DE SULFATOS.

A una gota del dializado agregar una gota de solución de cloruro de bario al 10%, si no se forma precipitado blanco de sulfato de bario, indica ausencia de sulfatos en solución.

INMUNIZACION DE CONEJOS CON GAMMAGLOBULINAS

ESQUEMA DE INMUNIZACION

SEMANA ADYUVANTE	GAMMA GLOBULINAS	VIAS DE INOCULACION	INOCULO
1 COMPLETO .05 ml	0.5 ml	Intramuscular y cojinete plantar derecho.	1.0 ml
2 INCOMPLETO .05 ml	0.5 ml	Intraperitoneal y coji- nete plantar izquierdo.	1.0 ml
3 INCOMPLETO .05 ml	0.5 ml	Intraperitoneal y subcutánea.	1.0 ml
4 INCOMPLETO .05 ml	0.5 ml	Intraperitoneal y subcutánea.	1.0 ml
5 INCOMPLETO .05 ml	0.5 ml	Intraperitoneal y subcutánea.	1.0 ml

Antes de cada inoculación se efectuó sangrado de prueba (0.5 ml.) para checar aparición y evolución de anticuerpos.

A partir de la segunda semana de inoculación, se realizó inmunodifusión para determinar la presencia de anticuerpos con cada uno de los sueros obtenidos. A la quinta semana de inoculación se obtuvieron títulos importantes, y se procedió a sangrar en blanco a los conejos. Se obtuvo el antisuero y se separaron las gammaglobulinas, mediante precipitación con sulfato de amonio usando la técnica descrita anteriormente.

Las antigammaglobulinas obtenidas por este método son adecuadas para ser usadas en inmunofluorescencia. La contaminación de la fracción gammaglobulina con albúmina se disminuye bajando la concentración del sulfato de amonio usado en la precipitación.

La determinación de proteínas se realizó por el método de Lowry. Para purificar la proteínas se utilizó cromatografía en columna con gel de Deae-Sephadex A 50.

FRACCIONAMIENTO DE GAMMAGLOBULINAS

1.- La fracción cruda de gammaglobulinas obtenida por el método de

precipitación con sulfato de amonio, se dializó contra Buffer de fosfatos (PB) 0.017 M pH 6.3 (2 cambios durante 24 hrs.).

2.- La concentración de proteínas se determinó por el método de Lowry.⁽⁵⁸⁾

3.- Se preparó una columna (30 cm de longitud por 1.0 cm de diámetro) con DEAE-Sephadex A 50, y se equilibró con PB 0.017 M pH 6.3.

4.- Se incorporó en la porción superior de la columna 2 ml. de la muestra de gammaglobulinas concentradas de 15 mg/ml y se diluyó con PB 0.017 M pH 6.3.

5.- Por cada tubo de la gradilla se colectaron 2 ml. de la muestra fraccionada (en los cinco primeros tubos se obtuvieron las gammaglobulinas). Se hizo pool de estas fracciones y se dializó contra B.B.S (solución buffer de boratos salino pH 9.6) hasta comprobar la eliminación completa del sulfato de amonio.

6.- Para checar la pureza de la muestra obtenida se realizó inmunolectroforesis, utilizando antigamma-globulinas, obtenidas en conejo contra suero humano total.

7.- Se separó en alicuotas y se congeló a -20°C hasta su uso.

CONJUGACION DE ANTIGAMMAGLOBULINAS HUMANAS CON ISOTIOCIANATO DE FLUORESCEINA.

Según técnica descrita por Ann Hebert, modificada por Ruíz González I. y Fernández Presas.⁽⁶⁴⁾

1.- Calcular la concentración total de proteínas del volumen de gammaglobulinas a conjugar (previamente dializadas contra B.B.S pH 9.6). Agregar por cada mg. de proteína, 25 microgramos de isotiocianato de fluoresceína (FITC).

2.- Disolver la cantidad necesaria de FITC en 100 microlitros de B.B.S. pH 9.6.

3.- Añadir a las gammaglobulinas la solución de FITC y ajustar el pH de la solución a 9.6, agregando hidróxido de sodio al 0.1N.

4.- Agitar la solución con barra magnética durante 90 minutos a temperatura ambiente, protegiendo la solución de la luz.

5.- Pasar un volumen (2ml.) de la solución por una columna G-25 previamente equilibrada con P.B.S. pH 7.2 (30 cm. long/1.0 cm. de diámetro), de esta manera se elimina el exceso de FITC no conjugado.

6.- Colectar fracciones de 3 ml. por tubo, y separar la fracción del primer pico amarillo.

7.- Añadir azida de sodio al 10% (10 microlitros/ml.). Separar en alícuotas y almacenar a -20°C hasta su uso.

TECNICA DE INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA (IFI)

MATERIAL

Laminillas de 12 campos

Cámara húmeda

Microscopio con sistema de fluorescencia

PROCEDIMIENTO

Reconstituir el conjugado fluorescente antigamma-globulina humana a una dilución de 1:4 (1%) de azul de Evans en PBS pH 7.2.

Tomar 0.1 ml. del conjugado reconstituido y agregar 0.9 ml. de PBS pH 7.2, obteniendo la dilución que se utilizará en todas las pruebas.

DESARROLLO DE LA PRUEBA

- 1.- Descongelar laminillas que contienen antígeno.
- 2.- Dejar secar a temperatura ambiente.
- 3.- Colocar en tubos de ensaye 0.7 ml. de PBS pH 7.2 y 0.1 ml. de suero problema, para lograr una primera dilución de 1:8.
- 4.- Tomar 0.2 ml. de ésta dilución y agregarla al tubo siguiente que contiene 0.2 ml. de PBS 7.2 y se continúa el procedimiento hasta obtener una dilución de 1:64.
- 5.- Con una micropipeta colocar una gota de la solución de PBS y suero problema, (10 microlitros), en cada círculo de la laminilla, previamente marcada.
- 6.- Realizar la misma operación con los controles positivo y negativo en cada laminilla.
- 7.- Colocar las laminillas en cámara húmeda a 37°C durante 30

minutos.

8.- Pasar las laminillas en cubetas con PBS pH 7.2 y lavar durante 10 minutos (dos veces).

9.- Lavar con agua destilada durante 5 minutos, para eliminar el exceso de amortiguador.

10.- Secar a temperatura ambiente, apoyando el lado inferior de la laminilla.

11.- Cubrir los círculos con 0.05 ml. de solución óptima del conjugado antihumano diluido con azul de Evans.

12.- Colocar las laminillas en cámara húmeda a 37°C durante 30 minutos.

13.- Repetir los lavados descritos anteriormente.

14.- Secar a temperatura ambiente.

15.- Agregar una gota de glicerina amortiguada y colocar un cubre-objetos.

16.- Observar al microscopio de fluoresceína y evaluar los resultados obtenidos.

INTERPRETACION DE RESULTADOS DE LA INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA

La reacción se considera negativa cuando los organismos fluorescen rojo púrpura; también se considera negativa cuando el polo anterior de *Toxoplasma gondii* fluoresce de color verde manzana, sin extenderse la fluorescencia a la periferia y sin llegar al polo posterior (fluorescencia polar). Se presenta en las primeras diluciones y usualmente desaparece en las diluciones mayores de 1:64.

La reacción es positiva cuando la fluorescencia verde se extiende por toda la periferia del organismo. Esta reacción puede ser muy intensa aún en las diluciones más bajas, en los sueros fuertemente positivos. Cuando se hace la determinación del título se debe

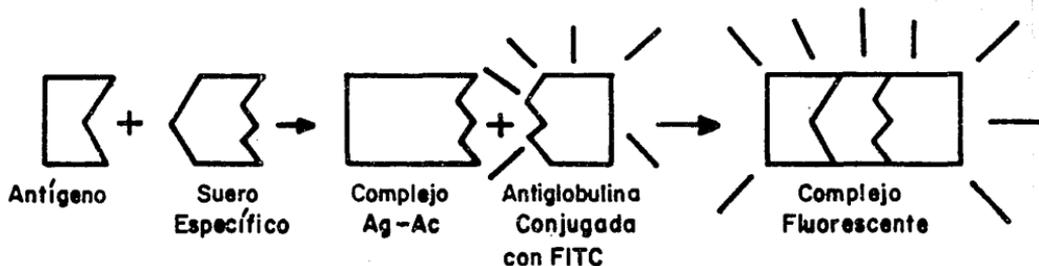
encontrar la máxima dilución del suero que muestra aún fluorescencia definida, la intensidad de la fluorescencia está en relación directa con la concentración de anticuerpos.

Si el suero es positivo a la dilución de 1:64 y 1:128 se deberá retitular con mayores diluciones.

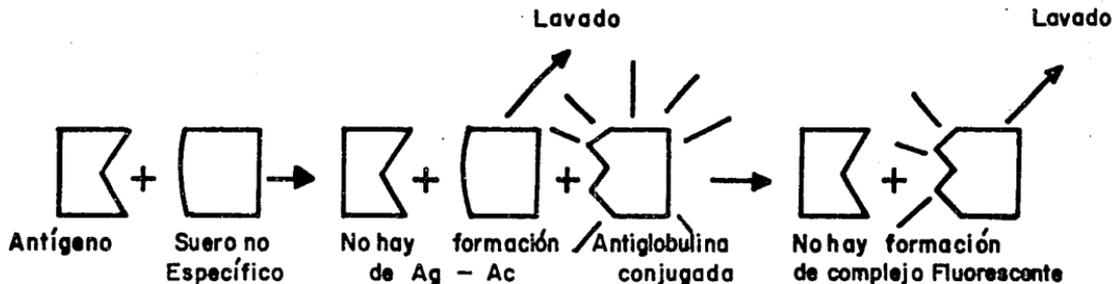
Las reacciones positivas a partir de una dilución sérica de 1:64 poseen valor diagnóstico y evidencian una toxoplasmosis pasada o en su estado inicial.

REACCION DE INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA

Reacción
Positiva



Reacción
Negativa



INTERPRETACION DE LA OBSERVACION AL
MICROSCOPIO DE Toxoplasma gondii EN
LA REACCION DE INMUNOFLORESCENCIA
INDIRECTA.



Verde Amarillento
en la periferia.

POSITIVO



Organismo Verde
Amarillento.



Tinción Polar
Verde Amarillento.

NEGATIVO



Organismos
Rojos.

RESULTADOS.

En el cuadro I, se anotan los resultados obtenidos con la reacción de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) para toxoplasmosis en 328 sueros de pacientes con parálisis cerebral infantil; divididos por grupos etarios, haciéndose notar que se tomó como título de dilución positiva 1:64 o mayor para esta técnica.

El grupo con mayor número de pacientes (163) con una positividad del 28.8% fue el de 6 a 11 años 11/12 meses. El menor número de casos se encontró en las edades de 0 a 1 11/12 meses con un 40% de positividad.

Entre los dos grupos restantes se aprecia un porcentaje de positividad proporcional.

El número total de casos positivos fue de 97, que correspondió al 29.6% del total estudiado, de estos 56 correspondieron al sexo masculino 57.7% y 41 al sexo femenino 42.3%.

De los 97 sueros de niños estudiados que resultaron (+), sólo se

pudo localizar a 36 madres, a las cuales se les estudió, se les tomó muestra sanguínea y se les realizó la prueba de inmunofluorescencia indirecta para toxoplasmosis, con objeto de relacionar el binomio madre e hijo.

En el cuadro II, se anotan los resultados de 36 madres cuyos hijos resultaron positivos a toxoplasmosis con la reacción de IFI.

De los 36 sueros de las madres estudiadas 26 fueron positivos a la reacción de IFI, lo cual representa un 72.2% del binomio madre e hijo.

En el Cuadro III, se muestra la correlación de títulos de dilución en IFI de los 26 sueros positivos a Toxoplasmosis, en el binomio madre e hijo. En este cuadro, podemos notar que los títulos de dilución tanto de la madre como el hijo son proporcionalmente similares.

Sin embargo, en los grupos de edad comprendidos de 2 a 5 11/12 y 6 a 11 11/12, las diluciones más elevadas correspondieron a las de la madre.

En el Cuadro IV, se presentan la distribución de los títulos de dilución obtenidos en 97 sueros de niños con parálisis cerebral infantil positivos a la reacción de inmunofluorescencia indirecta para toxoplasmosis. De los cuales, 97 sueros fueron positivos a títulos de dilución de 1:64 o sea el 100%. 22 sueros fueron positivos a títulos de dilución de 1:128 o sea el 22.6%. 20 sueros fueron positivos a títulos de dilución de 1:256 (20.6%).

En el Cuadro V, se muestran los resultados obtenidos con la reacción de inmunofluorescencia indirecta para toxoplasmosis en 64 pacientes sin parálisis cerebral infantil.

Se corrieron los sueros de 64 personas cuyas historias clínicas no revelaron datos clínicos compatibles con toxoplasmosis y fueron negativos a la reacción de IFI, los cuales se utilizaron como control negativo.

De los 64 sueros estudiados divididos en grupos etarios; 35 pacientes correspondieron al sexo masculino y de estos, 3 fueron positivos a la reacción de IFI, o sea el 8.5%; y 32 fueron negativos 91.4%.

De los 29 pacientes de sexo femenino estudiados; 2 fueron positivos a la reacción de IFI, (6.9%) 27 fueron negativos, (93.1%).

En el cuadro VI, se describen los datos clínicos que presentaron 59 niños positivos a toxoplasmosis con la reacción de IFI. Ya que de los 97 niños que resultaron positivos sólo fue posible realizar historia clínica a 59 de ellos.

De las alteraciones más frecuentemente observadas fue el retardo retardo psicomotor el que lo presentaron los 59 niños estudiados, (100%); 40 niños presentaron cuadriparesia, (68%); crisis convulsivas, 26 niños, (44%) y 11 niños presentaron estrabismo (19%).

En el Cuadro VII se muestra la distribución de los 59 pacientes positivos a IFI, de acuerdo al tipo de parto que presentaron las madres cuyos hijos tuvieron el síndrome de PCI. 24 partos fueron eutócicos, (40.68%); 33 fueron distócicos (55.93%).Y en dos de ellos se ignoró este dato, ya que estos niños fueron abandonados en la casa cuna.

En el Cuadro VIII se presenta la distribución de los 33 partos distócicos, de los cuales 18 de ellos fueron por cesarea, (54.5%). En un parto se presentó preeclamsia el (3.0%); por sufrimiento fetal agudo se presentaron 10 casos, (30.3%); por ruptura prematura de membranas 2 casos, (6.1%); y dos por problema pélvico, (6.1%).

En el Cuadro IX, se anota el tratamiento farmacológico que se le administró a los niños con PCI.

CUADRO I

RESULTADOS OBTENIDOS CON LA REACCION DE INMUNOFLUORESCENCIA
INDIRECTA (IFI) PARA TOXOPLASMOSIS EN 328 SUEROS DE PACIENTES CON
P.C.I.

GRUPOS DE EDAD	NO. DE SUEROS	POSITIVOS	MASCULINOS	FEMENINOS	% POSITIVIDAD POR GRUPOS DE EDAD
0 a 1 11/12	10	4	3	1	40.0
2 a 5 11/12	72	24	12	12	33.3
6 a 11 11/12	163	47	31	16	28.8
12 a 17 11/12	83	22	10	12	26.5
TOTAL	328	97	56	41	29.6

P.C.I. = PARALISIS CEREBRAL INFANTIL.

CUADRO II

RESULTADOS DE LA REACCION DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA EN SUEROS
DE 36 MADRES CUYOS HIJOS RESULTARON POSITIVOS A TOXOPLASMOSIS.

GRUPOS DE EDAD	NO. NIÑOS		SUEROS DE MADRES	
	ESTUDIADOS	ESTUDIADAS	POSITIVOS	%
0 a 1 11/12	4	4	2	50.0
2 a 5 11/12	14	14	11	78.6
6 a 11 11/12	12	12	8	66.6
11 a 17 11/12	6	6	5	83.3
TOTAL	36	36	26	72.2

% Por grupos de edad.

CUADRO III

CORRELACION DE TITULOS DE DILUCION EN INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA DE
LOS 26 SUEROS POSITIVOS DEL BINOMIO MADRE E HIJO.

GRUPOS DE EDAD	DILUCION				
	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024
0 a 1 11/12	2/2	1/1	0/1	(---)	(---)
2 a 5 11/12	11/11	3/3	3/3	0/2	0/2
6 a 11 11/12	8/8	3/4	3/4	0/4	(---)
12 a 17 11/12	5/5	3/0	3/0	(---)	(---)
TOTAL	26/26				

HIJO/MADRE.

CUADRO IV

TITULOS DE DILUCION OBTENIDOS EN LOS 97 SUEROS DE LOS NIÑOS CON PCI POSITIVOS A LA REACCION DE INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA PARA TOXOPLASMOSIS.

GRUPOS DE EDAD	NO. SUEROS	DILUCION		
		1:64	1:128	1:256
0 a 1 11/12	4	4	1	(---)
2 a 5 11/12	24	24	3	3
6 a 11 11/12	47	47	10	9
12 a 17 11/12	22	22	8	8
TOTAL	97	97	22	20

P.C.I. = PARALISIS CEREBRAL INFANTIL.

CUADRO V

RESULTADOS OBTENIDOS CON LA REACCION DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI PARA TOXOPLASMOSIS EN 64 SUEROS DE PERSONAS SIN PARALISIS CEREBRAL INFANTIL.

GRUPOS DE EDAD	TOTAL	MASCULINO				FEMENINOS					
		(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)		
0 a 1	11/12	16	2	14	12.5	87.5	12	2	10	16.7	83.3
2 a 5	11/12	9	0	9	-	100	2	0	2	-	100
6 a 11	11/12	3	0	3	-	100	4	0	4	-	100
12 a 17	11/12	7	1	6	14.3	85.7	11	0	11	-	100
TOTAL		35	3	32			29	2	27		

CUADRO VI

DATOS CLINICOS QUE PRESENTARON CON MAYOR FRECUENCIA LOS 59 NIÑOS
POSITIVOS A TOXOPLASMOSIS EN INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.

ALTERACION	NO. DE CASOS	%
RETRASO PSICOMOTOR	59	100
CUADRIPIRESIA	40	68
CRISIS CONVULSIVAS	26	44
ESTRABISMO	11	19
NISTAGMUS	5	8
CEGUERA	4	7
MICROCEFALIA	3	5
HIDROCEFALIA	3	5

CUADRO VII

DISTRIBUCION DE LOS 59 PACIENTES POSITIVOS A INMUNOFLORESCENCIA
INDIRECTA EN FUNCION AL TIPO DE PARTO.

TIPO DE PARTO	NUMERO	%
EUTOCICO	24	40.68
DISTOCICO	33	55.93
SE IGNORA	2	3.39
TOTAL	59	100.

CUADRO VIII

DISTRIBUCION DE LOS 33 PARTOS DISTOCICOS.

DISTOSIA	NUMERO	%
CESAREA	18	54.5
PREECLAMISIA	1	3.0
S.F.A.	10	30.3
R.P.M.	2	6.1
PELVICO	2	6.1
TOTAL		100.0

S.F.A. = SUFRIMIENTO FETAL AGUDO.

R.P.M. = RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS.

CUADRO IX

TRATAMIENTO FARMACOLOGICO ADMINISTRADO A 59 NIÑOS QUE PRESENTARON
SINDROME DE P.C.I.

	NO. DE CASOS	%
DIFENIL HIDANTOINATO SODICO	18	30.5
FENOBARBITAL	12	20.3
CLONAZEPAM	8	13.6
ACIDO VALPROICO	7	11.9
5-CARBAMOIL 5 H DIBENZO (ACEPINA)	6	10.2
DIPROPILACETATO DE MAGNESIO	5	8.5
NITRAZEPAM	3	5.1
PREDNISONA	2	3.4
BROMAZEPAM	1	1.7
CLORHIDRATO DE TIORIDAZINA	1	1.7
PRIMIDONA	1	1.7
PIRITINOL	1	1.7

P.C.I. = PARALISIS CEREBRAL INFANTIL.

ANALISIS DE LOS RESULTADOS.

Por los resultados obtenidos en el Cuadro I, es importante notar que del número total de sueros 328, 97 fueron positivos a títulos de dilución de 1:64 o mayor.

Lo cual corresponde al 29.6%, esto nos indica que es muy probable que en 1 de cada 3 pacientes con parálisis cerebral infantil, su síndrome haya sido consecuencia de una infección por *T. gondii*.

Esta suposición se basa en que este protozoo produce un cuadro similar al que presentaron los niños estudiados. Estamos concientes de que no podemos asegurar definitivamente que este síndrome sea consecuencia de una infección toxoplásmica, ya que sabemos que es requisito indispensable el aislamiento de *T. gondii*, situación muy difícil de lograr, ya que para ello se requieren estudios sobre productos biológicos, obtenidos de pacientes, de cultivo de tejidos, inoculación a animales y cortes histopatológicos; estudios no muy fáciles de realizar, por lo que, la mayoría de las veces, se recurren a pruebas inmunológicas, que como en este caso, coinciden con títulos de positividad que junto

con el cuadro clínico compatible con toxoplasmosis, se deben considerar como casos de toxoplasmosis, mientras no se demuestre lo contrario.

Otra consideración importante, es que en el grupo de edad de 0 a 11/12, encontramos en 10 pacientes una positividad del 40%; la detección de IgG por la reacción de IFI en los sueros de estos pacientes, muy probablemente se debió al paso transplacentario de esta inmunoglobulina, ya que sabemos que esta, es capaz de atravesar la barrera placentaria. En los otros grupos de edad, la detección de IgG, puede ser porque el producto, la sintetizó, al producirse la infección toxoplásmica.

Es de hacer notar por lo encontrado en el Cuadro II, que al estudiar los 36 sueros de las madres de los niños positivos a altos títulos de dilución para toxoplasmosis, resultaron 26 positivos (72.2%) y 10 sueros, 27.8% fueron negativos.

En el 72.2% de los sueros que resultaron positivos en el binomio madre-hijo, podemos pensar que la toxoplasmosis fue adquirida "in útero". Sin embargo, en los 10 sueros en que las madres resultaron

negativos, el 27.8%, y los niños fueron positivos, este hecho nos indica que la infección por *T. gondii* pudo haber sido adquirida, aunque no podemos afirmarlo categóricamente.

En relación a los títulos de dilución que se obtuvieron en 26 sueros del binomio madre e hijo, cabe mencionar que el 100% (26) fueron positivos a título de dilución de 1:64 o mayor tanto en madre como en hijo, tal como se aprecia en el cuadro III.

En el Cuadro IV, en el que 22 sueros fueron positivos a títulos de dilución de 1:128, el 22.6% representó que, una gran parte de los sueros positivos, siguieron teniendo altos títulos de dilución, lo que puede indicar que probablemente haya sido una infección por *T. gondii* la responsable de la PCI que presentaron estos pacientes.

Se sabe que el síndrome de P.C.I, tiene además otras etiologías como son por anoxia neonatal, infecciones, traumatismos y genética.

En los resultados obtenidos con la reacción de IFI, en pacientes sin PCI, se hace notar la importancia de tener como control, sueros de pacientes divididos en grupos etarios, como en nuestro es-

tudio, que no presentaron síndrome de PCI, ni datos clínicos sugerentes de toxoplasmosis, ya que en estos pacientes, el porcentaje de negativos fue de 92.18%, ya que sólo cinco fueron positivos 7.8% que es aceptable para este tipo de reacción. Cuadro V.

De los 59 niños estudiados con IFI a toxoplasmosis, hay que señalar que el 100% de los casos presentó retardo psicomotor; cuadriparesia 27%; crisis convulsivas 44%, estrabismo 18%; nistagmus 8%, datos clínicos que ya han sido reportados como resultado de infecciones por *T. gondii*. Cuadro VI.

Por los resultados obtenidos en los cuadros 7 y 8 en los cuales se estudiaron el tipo de parto de las 59 madres cuyos productos presentaron PCI, podemos señalar que 24 de ellos, fueron normales, 40.68%; mientras que 33 presentaron distocia 55.93%. Sin embargo no podemos asegurar que este tipo de problema haya sido el causante de PCI en estos niños.

En relación al tratamiento administrado en los niños con PCI, podemos hacer notar que, hasta antes de apoyar el diagnóstico, con inmunofluorescencia indirecta para toxoplasmosis, no habían recib

do tratamiento específico contra el agente etiológico, como lo observamos en el Cuadro IX, ya que en general había sido un tratamiento de tipo sintomático, incluyendo sedantes.

CONCLUSIONES.

En este trabajo encontramos que, en un grupo importante de niños con parálisis cerebral infantil el 29.6% de ellos dió reacciones positivas a inmunofluorescencia indirecta para *Toxoplasma gondii*, lo cual aunado a los signos y síntomas que presentaron en este síndrome, nos indica que en 1 de cada 3 niños de la Asociación pro personas con parálisis cerebral, el agente etiológico muy probablemente fue *T. gondii*.

De los niños positivos a la prueba de inmunofluorescencia indirecta por *Toxoplasma gondii*, con el síndrome de parálisis cerebral infantil, en el 72.2 de las madres de estos niños la reacción de IFI fue positiva a altos títulos, dato sugerente del probable paso por vía transplacentaria del parásito al producto.

El 27.8% de los sueros de las madres del binomio madre e hijo la reacción fue negativa, por lo que podemos suponer que, la adquisición de la parasitosis, pudo haber ocurrido después del nacimiento.

Otro hecho importante observado es que, en el 100% de los niños con PCI y positivos a inmunofluorescencia indirecta se presentó retardo psicomotor, crisis convulsivas 44%, cuadriparesia 68% y estrabismo en el 19%, y en menor porcentaje nistagmus y ceguera. Estos datos concuerdan con los encontrados por Remington y Desmont.⁽⁵⁹⁾

Se hace notar que en el 55.93% de los niños estudiados en relación al tipo de parto, este fue distócico y quizá, en algunos de ellos no podamos saber el momento de la infección por *T. gondii*.

Para hacer válidos los resultados y suposiciones que mencionamos, se corrió por la reacción de IFI un grupo control de pacientes sin PCI, y sin datos clínicos sugestivos de toxoplasmosis, grupo en el cual el 92.18% de ellos la reacción fue negativa.

No cabe duda que *T. gondii*, produce en el hombre diversos cuadros clínicos, entre los que se puede incluir el síndrome de parálisis cerebral infantil, que se caracteriza por presentar síntomas y signos ocasionados cuando el protozoo invade el sistema nervioso central del huésped; si esto ocurre *in utero* o en las primeras etapas

de la vida, el daño puede ser desde leve hasta grave, manifestándose se con una gran gamma de signos y síntomas. En caso de tratarse de toxoplasmosis congénita, se reconoce una triada clásica constituida por meningoencefalitis, hidrocefalia, retinocoroiditis y calcificaciones intracraneales. La toxoplasmosis adquirida después del nacimiento puede ser ganglionar, generalizada y ocular.⁽⁴⁴⁾

En la literatura médica nacional existen muy pocos trabajos publicados en relación a morbi-mortalidad por *Toxoplasma gondii*, pero ninguno que se enfoque a determinar el papel que juega este protozoo como agente etiológico en el síndrome de parálisis cerebral infantil en niños mexicanos.

FIG. 1 Corte esquemático de un trofozoito de

T. gondii.

Tomado del Manual de Biomérieux

Laboratory reagents and instruments

Fig. 2 Ciclo Biológico de *T. gondii*.

Tomado del Manual de Biomérieux.

Laboratory reagents and instruments.



Fig. 3 Esporoquiste de *T. gondii*.

Tomado de Pathology of Protozoal and
helminthic diseases with clinical
correlation of Frenkel.

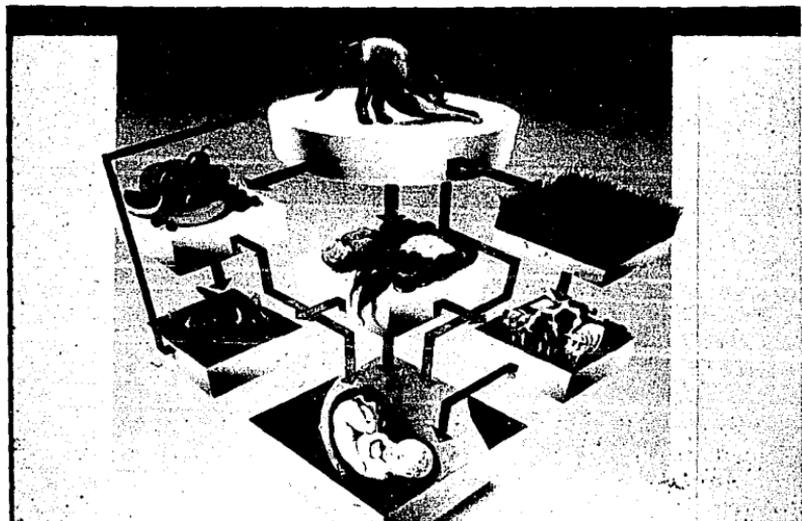


FIG. 4 Esquema que explica los mecanismos de
Transmisión de *T. gondii* en herbívoros,
aves y hombre

Tomado de Manual de Biomérieux

Laboratory reagents and instruments.

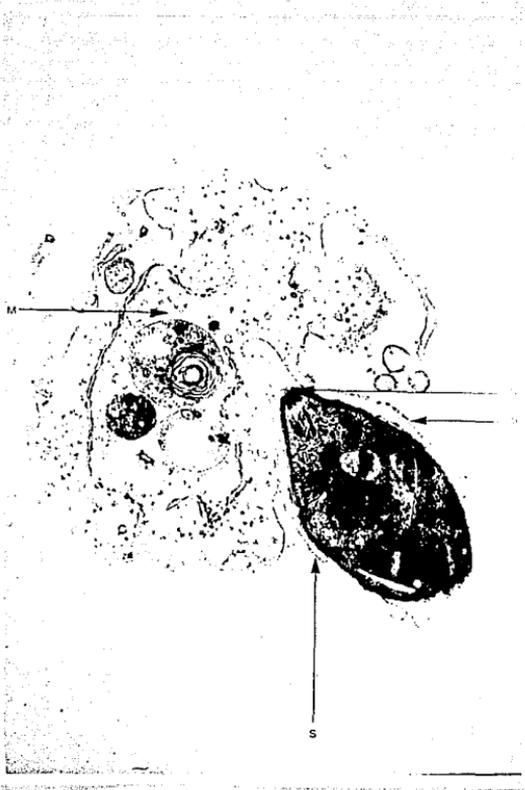


FIG. 5 Microfotografía electrónica donde se muestra un trofozoito de *T. gondii*, penetrando activamente a la célula huésped por su organelo anterior (conoide de penetración). Tomado de Atlas de Parasitología Médica. Zaman.

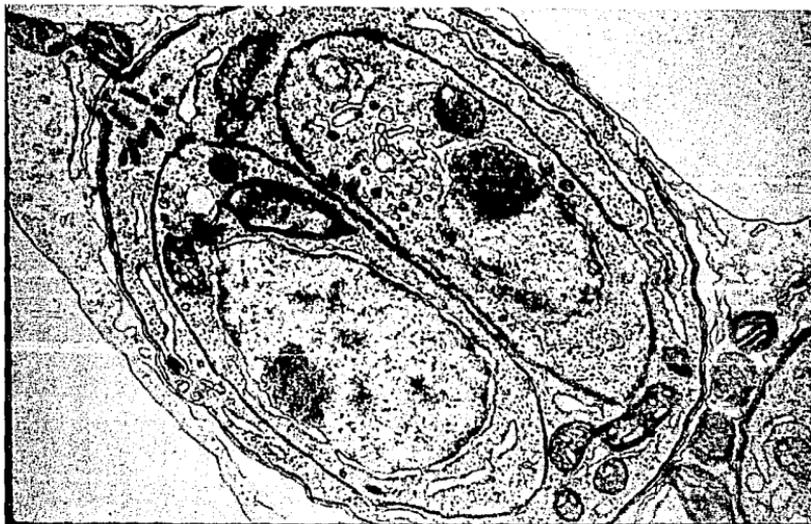


FIG. 6 *Toxoplasma gondii* que muestra dos células hijas en una célula madre, formadas por endodiogenia. Tomado de Fundamentos de Parasitología. Schmidt. 1984, Edit. C.E.C.S.A.



FIG. 7 Paciente de la A.P.A.C. con P.C.I

- Microcefalia.



FIG. 7 Paciente de la A.P.A.C. con P.C.I
- Hidrocefalia.

BIBLIOGRAFIA.

1. Nicolle C. Manceaux L. Sur une infection a corps de Leishman (au organismes voisins) du gondii. Comt. rend. Acad: 1908; 147-53.
2. Splendore A. Un nuevo protozoa parassite dei conigli. Rev. Soc. SC. Sao Paulo, 1908; 3:109-12.
3. Varela G., Martínez A.E., Treviño A. Toxoplasmosis en la República Mexicana. Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop. 1953; 13(3): 217-24.
4. Morales A., Mosca A., Silva, Sims A. Estudios Serológicos sobre toxoplasmosis y otras parasitosis en la Isla de Pascua. Bol. Chil. Parasitology, 1961; XVI(4): 82-7.
5. Wolf A, Cowen D. Granulomatous encephalomyelitis due to an Encephalitozoon (Encephalitozoic Encephalomyelitis), Bull. Neurol. Inst. New York, 1937:6-306.

6. Wolf A, Cowen D. Toxoplasmic encephalomyelitis IV. Experimental transmission of the infection to animals from a human human infant. *J. exp. Med*, 1940; 71-187.
7. Pinkerton H, Weinman D. Toxoplasma infection in man. *Arch. Path.* 1940; 30-340.
8. Winsser J, Velinde D, Thiel, Davel J, Elst P. Isolation of *Toxoplasma* from cerebrospinal fluid of a living infant in Holland. *Sc. Exp. Biol. Med*; 1948; 67: 292-94.
9. Frugoni C. Toxoplasmosis en adulto. II Policlínico niv. 1951; 58-60.
10. Roch, U.E. Compendio de Toxoplasmosis. Edit. Patria, S.A. 1a. Edición pp. 9-15, 1971.
11. Sabin A. B Isolation of filtrable transmissible agent with "neurologic properties from toxoplasma infected tissues. *Science (Lancaster Pa)* 1938; 88: 189-191.

12. Warren J, Sabin A.B. The complement fixation reaction in toxoplasmosis infection. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1942; 51:11.
13. Jacobs, L. y Lunde M.M.T. A hemagglutination test for toxoplasmosis. J. Parasit. 1957; 43:308-314.
14. Frenkel J.K. Dermal hypersensitivity to toxoplasma antigens (toxoplasmins). Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1948; 68:634-39.
15. Garin J.P. Despeignes J. Une méthode de diagnostic de la toxoplasmosis L'agglutination des particules de betonite sensibilisées. La Presse Medicale, 1964; 72(40): 217-220.
16. Kramar J., Cerna Z., Chalupsky J. Las reacciones por inmunofluorescencia en el diagnóstico serológico de la toxoplasmosis. Zentrabl. Bakt. 1964; 193:523.
17. Roch E. La toxoplasmosis y su relación con la higiene materno infantil. Trabajo presentado en la Soc. Mex. de Hig. 1961; 1-5.

18. Dulton. Toxoplasmosis retinochoroiditis, a historical review and current concepts. *Ann Acad. Med. Singapore*. 1989; 18(2): 214-221.
19. Cathiwe I.A. B. Toxoplasmosis in childhood. *Lancet* Apr. 1954; 17:813-4.
20. Decoster A, Darcy F, Caron A, Capron A. IgA antibodies against P 30 as markers of congenital and acute toxoplasmosis., *Lancet*; 1988; 2(8620): 1104-7.
21. Lunne T, Huldt G, Fenkel Y, Jonsson Styburski U. Acquired toxoplasmosis is often mild but the symptoms can be difficult to interpret. *Lakartidningen*. 1988; 85(11): 948-9.
22. Palomino D.F, Soto R., Villegas L.L. Toxoplasmosis. *Arch Asoc. para evitar la ceguera*. 1949:46-64.
23. Varela G, Roch E, Zavala J. Estudios sobre toxoplasmosis. *Salud Pública Mex*. 1961. 5(3): 451-4.

24. Bouree P, Oube C. *Toxoplasmosis*. *Scins (UUJ)*, 1987; 501: 24-7.
25. Ougust J.R. Chase T.M. *Toxoplasmosis*. *Vet. Clin. North Am.* (Small animal practice), 1987; 17(1): 55-7.
26. Chowdburý M.N. *Toxoplasmosis, a review*. *J. Med.* 1986; 17(5-6):373-96.
27. Frenkel J.K. *Dermal hypersensitivity to toxoplasma antigens (Toxoplasmina)*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1948; 68: 634-39.
28. Biagi F. *Cutireacciones con toxoplasmina en Tampico*. *Rev. Med.* 1951; 14(4):1951.
29. Cooney M.K., Kimball AC., Bauer H. *Studies on toxoplasmosis. Complement fixation test with peritoneal exudate antigen*. *J. Immunology*, 1958; 81(3): 177-86.
30. Fulton J.D., Turk J.L. *Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii**. *Lancet*, 1959; 1068-69.

31. Park H.K. Toxoplasma hemmagglutination test, using alcohol formalin sensitized luophilized erythrocytes. Am. Arch. Ophthal, 1961; 65: 184-191.
32. Sabin A.B., Feldman H.A. Dyes as microchemical indications of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (toxoplasma). Science, 1936; 108:660.
33. Desmouts G. Serologia de la toxoplasmosis. Am. Biol. Clin. 1961; 1(2): 1-3.
34. Kalustri G. El sistema indicador del fenómeno de Sabin y Feldman en toxoplasmosis. Parasitology Lond. 1960; 50(1-2): 13-20.
35. Koskiniem M., Lappalainen M, Hedman. Toxoplasmosis needs evaluation. An overview and proposals. Am. J. Dischild; 1989; 143(16): 724.
36. Ferson M.J., Roberston, P.N. Congenital toxoplasmosis and Pregnancy. Aust NZ J. Obstet Gynaecol. 1991; 30-32.

38. Sever J.L., Ellender J.H., Ley A.C., Madden D.I., Fucillo D.A., Tzan N.R., Edmons D.M. Toxoplasmosis: maternal and pediatric findings in 23,000 pregnancies. *Pediatrics*, 82(2): 181.
39. Levine, N.D., Corless, J.O., Cox, F.E.G., Deroux, G., Grain, J., Hanigber, B.M., Leedale, G.F., Loebech, A.R., Lam, J., Lynn, D., Merinfeld, E.G., Page, E.C., Poljansky, G., Sprague, V., Vavra, J. y Wallace, F.G., Anewly revised classification of the Protozoa. *J. Protozool.* 27(1): 37-58).
Traducción: Dra. María Antonieta Aladro Lubel. Lab. Protozoología, Facultad de Ciencias, UNAM.
40. Beaver, CH. P., Jung, A.R., Cupp, W.E. *Parasitología clínica*. Ed. Salvat, 2a. Edición pp. 179-184: 1990.
41. Frenkel, J.K. *Pathophysiology of Toxoplasmosis*. *Parasitology Today*. 1988: 4(10), 273.
42. Male D., Champion B, Cooke A. "Advanced Immunology". Ed. by the British Society for Immunology. Goever Medical Publishing London. 1987. Chapter 1-2:7-9.

43. Golledge C.L. BSC, M.B. and Miles H. Beaman: Toxoplasmosis and pregnancy. Aust N.Z. J. Obstet. Gynaecol. 1990:30-32.
44. Tay, Lara, Velasco, Gutiérrez: Parasitología médica. Ed. Méndez Cervantes, México. 5a Edición. 1991.
45. Carrada Bravo, T. La toxoplasmosis problema de salud pública. Avances y perspectivas. Bol. Med. Hosp. Inf. Méx. 1983; Vol. 40(7):353-60.
46. Calderón Jaimes, E. Immune response to Toxoplasmosis. Bol. Med. Hosp. Inf. Méx. 1986. 43(10):658.
47. Partanen, P., Turunen, H.J., Paasivuo, R.A., Leinikki, P.O. Immunoblot y analysis of *T. gondii* antigens by human immunoglobulins G, M and A antibodies at different stages of infection. J. Clin. Microbiol. 1984; 20, 133.
48. Pinnon, J.M., Thoanes, H. and Gruson, N. "An enzyme linked immuno-filtration assay, used to compare and maternal antibody profiles in toxoplasmosis". J. Immunological methods 1985: 77-15.

49. Santoro, F. Afchaem, D., Pierce, R., Cesbron, J., Ovalque, G., Capron, A. "Serodiagnosis of toxoplasma infection using a purified parasite protein(P 30)". Clin. Exp. Immunol. 1985; 62:262.
50. Skinner, L.J., Chatterton, J.M., Joss, A. W., Moir, I.L.? Ho Yen Do. "The use of an IgM immunosorbent agglutination assay to diagnose congenital toxoplasmosis". J. Med. Microbiol. 1989; 28(2). 125.
51. Suzuki Y. et al. "Use of acute stage specific antigens of *T. gondii* for serodiagnosis of acute toxoplasmosis". J. Clin. Microbiol. 1990; 29(8):1734.
52. Susuki Y, Thuillienz P, Desmouts G, Remington J; Antigens responsible for immunoglobulin G responses specific for the acute stage of *Toxoplasma* infection in humans". J. Clinical Microbiology; 1988, 26(5), 901.
53. Turunen H, Vuorio K A, Leinikki P D. Determination of IgG, IgM and IgA antibody responses in human toxoplasmosis by ELISA. Scand J. Infect. Res; 1983; 15, 307.

54. Severl, Jonas, Ellenberg. Toxoplasmosis Maternal and Pediatrics findings in 23 000 pregnancies. *Pediatrics*. 1988; 82(2): 181-92.
55. Janku, J. Pathogénese et anatomie pathologique du coloboma de la macula dans un oeil de dimension normale et dans un oeil microphthalme avec parasites dans la rétine (en tchèque). *Cas. Lek. Cesk.* 1923; 62: 1021-1027, 1054-59, 1081-85; 1111-1115, 1138-1144.
56. Magruson, J.H. Human toxoplasmosis. An account of twelve cases in Sweden. *Acta Path. Microbiol. Scand.*: 1948, 25: 215-233.
57. Fernández T.M., Sebaja C.M.T., Granier A.R.: Encuesta seroepidemiológica de anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* en 125 mujeres embarazadas del Oriente del Estado de Tabasco. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*; 1986; 43, 274.
58. Lowry O.H., Rosenbrough, J.N., Farr, A.L, Randall, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265-275.

59. Remington, J.S., Klein, J.O.: Infectious diseases of the fetus and newborn infant. W.b. Saunders Co, Philadelphia, London, Toronto, 1st. Edition 1976. pp. 191-310.
60. Velasco-Castrejón, O., Salvatierra Izaba, B., Valdespino, J.L., Sedano Lara, A., Galindo U.S. Seroepidemiología de la toxoplasmosis en México Rev. Salud Pública Mex. 1991; pp. 222-229.
61. Roche Varela, Y. Diversos aspectos de la investigación sobre toxoplasmosis en México. Resultados de 29,888 reacciones de Sabin y Feldman efectuadas de 1953 a 1965. Rev. Invest. Sal. Púb. México, 1966; 26: 31-49.
62. Ruiz, A. and Frenkel J.K. *Toxoplasma gondii* in Costa ricans cats. Am. J. Trop. Hyg. 1980, 29: 1150-1160.
63. Resano, P.F., Pascoeld Zúñiga T.V. Encuesta seroepidemiológica de anticuerpos anti-toxoplasma en la República Mexicana. Rev. Mex. Patol. Clin. 1985, 32: 8-17.

64. Hebert Ann Y., Pittman Bertie., McKirney Roger., Cherry W. The preparation and physicochemical characterization of fluorescent antibody reagents. Department of Health, Education, and Welfare Public Health Service. 1972; 9-23.
65. Velasco-Castrejón; Galindo Virgen, Sedone Lara y González Dominguez. Toxoplasmosis. Publicación técnica del INDRE No. 14; 1992. 1-48.