



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
FACULTAD DE MEDICINA

112-61  
MAY 20 1997

FACTORES DE RESISTENCIA ESPECIFICOS E INESPECIFICOS CONTRA *Toxoplasma gondii*  
PRESENTES EN CALOSTRO, LECHE, SUERO DE CORDON UMBILICAL Y SUERO VENOSOS  
DE MUJERES RESIDENTES EN EL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO, MICHOACAN,  
MEXICO.

# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIA BIOMEDICAS

AREA: PARASITOLOGIA

P R E S E N T A.

QFB. MA. TERESA ALVAREZ RAMIREZ.

ASESOR: DR. JORGE TAY ZAVALA

MEXICO. D.F.

1997

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

## AGRADECIMIENTO

AL JURADO REVISOR

QUE CONTRIBUYERON A LA REVISION DE LA TESIS.

DR. RUBEN ALVAREZ CHACON

DRA. AMALIA MONRROY OSTRIA

DRA. PATRICIA TATO SALDIVAR

DR. PASCAL HERION

DR JORGE TAY ZAVALA ( ASESOR )

A MIS PADRES Y ESPOSOS E HIJOS

POR EL APOYO MORAL Y ECONOMICO.

ASI COMO A LA EMPRESA

MICROSEPCIONES DE MEXICO

POR LA DONACION DE LA MAYORIA DE REACTIVOS. QUE CONTRIBUYERON A LA  
REALIZACION DE ESTA TESIS.

## ÍNDICE

## PÁGINAS.

RESUMEN	
INTRODUCCIÓN.	1
HISTORIA	4
AGENTE ETIOLOGICO	5
CICLO BIOLÓGICO	8
MECANISMOS DE EVASIÓN	9
RESPUESTA INMUNE	10
PATOLOGÍA	12
ANATOMÍA PATOLÓGICA.	13
CUADRO CLÍNICO.	14
DIAGNOSTICO.	16
EPIDEMIOLOGIA	19
TRATAMIENTO	24
PREVENCIÓN.	25
JUSTIFICACIÓN.	26
OBJETIVOS.	27
METODOLOGÍA.	28
TÉCNICAS	30.
RESULTADOS Y ANÁLISIS	36
DISCUSIÓN.	65
CONCLUSIÓN	74
BIBLIOGRAFÍA.	77

## RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el valle de Morelia-Queréndaro Michoacán. De febrero 1994 a marzo 1996, en el Hospital civil "Miguel silva" y el Sanatorio "Nuestra señora de la Luz". En 500 mujeres parturientas, finalizado su parto se les tomó muestra de suero de sangre de cordón umbilical, posteriormente en el puerperio inmediato se les tomó suero de sangre venosa mas calostro y en el transcurso de 15 a 30 días se les pidió leche materna.

El objetivo de este trabajo fue estudiar los factores inmunológicos humorales de protección específica que le puede dar la madre al hijo contra *Toxoplasma gondii* por medio de las inmunoglobulinas IgG a través del cordón umbilical, y la IgA en la lactancia materna por medio del calostro y la leche, Así como Interleucina-2 en calostro. Pero también se determinó la presencia de la inmunoglobulina IgM específica contra *T. gondii*. La presencia de este isotipo nos indica enfermedad causada por el parásito. Se midió la positividad en suero de sangre venosa para la madre y el suero de sangre de cordón umbilical para el hijo.

La técnica inmunoenzimática que se utilizó para este trabajo fue ELISA y los reactivos fueron de tipo comercial, para realizar el trabajo se comparó el equipo de diagnóstico con otros equipos comerciales, para asegurar la confiabilidad de los resultados, así como el control de la seropositividad, se utilizaron 100 sueros controles negativos y 100 sueros controles positivos. Se realizaron 1600 lecturas para IgG en sueros, 1100 para IgM en sueros, 420 para IgA en calostro y leche materna midiendo su especificidad contra *T. gondii*, y 196 lecturas para IL-2 en calostro.

Se correlacionó los resultados con los factores epidemiológicos de las pacientes, tales como la zona de procedencia, edad, hábitos higiénicos y alimenticios, convivencia con gatos y otros animales, así como antecedente patológicos gineco-obstétricos. De acuerdo a los resultados, el valle en estudio es una zona endémica, de ahí radica la importancia de la protección de la madre al hijo por medio de factores humorales inmunológicos, pero existe también el peligro que durante el embarazo y la lactancia la madre transmita la toxoplasmosis a su hijo.

## **" FACTORES DE RESISTENCIA ESPECÍFICOS E INESPECÍFICOS CONTRA *Toxoplasma gondii* PRESENTES EN CALOSTRO, LECHE, SUERO DE CORDÓN UMBILICAL Y SUERO VENOSO DE MUJERES RESIDENTES EN EL VALLE MORELIA QUERENDARO.**

### **INTRODUCCIÓN**

Desde las civilizaciones antiguas se han reconocido las cualidades protectoras, que confiere el calostro al recién nacido, tanto en humanos como en los animales. Sin embargo no fue hasta 1919 cuando Beeredka sugirió la transferencia de inmunidad adquirida a través del calostro y leche materna. Estas secreciones son consideradas transcendentales en la nutrición y defensa del neonato, lo cual se ha fundamentado en numerosos estudios realizados en las últimas décadas ( 5, 9, 64, 70, 108, 117, 132, 164 ).

En algunos estudios se han demostrado importantes componentes inmunológicos, de naturaleza específica e inespecífica, involucrados en los mecanismos de defensa del recién nacido contra diferentes agentes infecciosos. La inmunidad pasiva que confiere el calostro y la compleja interacción con las mucosas del neonato lo protegen contra infecciones entéricas y respiratorias. La protección específica esta dada por las inmunoglobulinas, principalmente IgA de secreción y células del sistema inmunitario. La protección inespecífica es conferida por componentes con propiedades reguladoras en la inflamación que intervienen en la eliminación de agentes infecciosos ( 3, 5, 19, 31, 64, 70, 108, 117, 126, 132, 164, 184).

La importancia de la inmunidad transferida por calostro al neonato fue demostrada por Smith y Little en 1922, mencionando que cerca del 75% de las terneras que no recibieron calostro, murieron de septicemia y que esta infección pudo controlarse con la ingestión de calostro. Estudios posteriores han demostrado que niños alimentados con calostro y leche materna presentan menor incidencia en morbi-mortalidad por infecciones gastrointestinales y respiratorias, comparado con niños alimentados con leche industrializada ( 9, 19, 64, 70, 117, 164 ).

El desarrollo de las glándulas mamarias y la producción de leche están bajo el control de hormonas, algunas de las cuales se presentan después del parto, como estrógenos, progesterona y prolactina. La acción de los estrógenos en los conductos lactíferos es la de estimular el crecimiento e incremento de la mitosis celular, lo que a su vez estimula mayor ramificación de los conductos. La progesterona activa la función secretora, y finalmente la prolactina induce la producción de leche ( 5, 126 ).

Las proteínas del calostro y leche materna se sintetizan dentro del retículo endoplásmico rugoso y el aparato de Golgi. Las vesículas se despiazan hacia la superficie apical donde son liberadas por exocitosis. Los componentes grasos son sintetizados y liberados en forma independiente, pero se mezclan con las

proteínas, agua y sales antes de ser secretadas por las glándulas mamarias. El contenido en proteínas del calostro es alto (1.5%) bajo en grasas, se excreta al final del embarazo y durante los primeros 8 días postparto (5,9,117,126).

El aspecto amarillento del calostro se debe a la presencia de carotenos, la ausencia de estos hace que se vea de color blanquecino. La leche y el calostro contienen minerales,( carbohidratos, principalmente lactosa) y vitaminas (hidrosolubles y liposolubles). Su pH es de 7.0 y su densidad mayor de 1.03 y 1.06 es más alta en el calostro. Estos componentes son menores en la leche madura, sin embargo ésta cumple con los requisitos de la alimentación en los primeros meses de vida del recién nacido ( 5,9, 70, 99, 117 ).

Cuando una mujer comienza a alimentar al niño, la succión del pezón estimula receptores táctiles que son abundantes alrededor del mismo, estos impulsos nerviosos y el estado emotivo de la madre llegan al hipotálamo y se libera la oxtocina, que es una hormona neurohipofisaria, la cual estimula la producción y secreción del calostro en las células epiteliales de estructura cuboidal y escamosa, que contienen una gran cantidad de vacuolas con proteínas y grasas. La composición del calostro y de leche materna, presentan variaciones que dependen de la población en estudio, de los métodos de análisis, de las características inherentes a la madre, del número de partos, tipo de alimentación, estado emocional y aspectos climatológicos entre otros, (5, 9, 117, 132).

Los componentes inmunitarios del calostro y leche materna que confieren protección inespecífica y específica son los siguientes:

#### **A. FACTORES INESPECIFICOS**

Entre estos factores se encuentran la lactoferrina, lisozima, lactoperoxidasa, componentes del complemento, monoglicéridos de acción bactericida, inhibidores de proteasas y citocinas ( interleucinas e interferones, ) todos con propiedades diferentes, reguladores inflamatorios, bacteriostáticas, bactericidas y anti- parasitarias (62, 64, 65, 75, 106, 161, 164 )

Las citocinas que contiene el calostro modulan las reacciones del neonato contra antígenos extraños que lo lesionan, regulando el crecimiento, movilidad y diferenciación de los leucocitos y otras células, durante los primeros contactos y respuestas inmunes del recién nacido. Se ha observado el papel que juegan IL-2, e IFN- $\gamma$  en la entrada a las células huésped de los parásitos intracelulares, como *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium malarie* y *P. vivax*. ( 19, 36, 70, 75, 108, 110, 111, 150, 156,160,173 )

## B. FACTORES ESPECÍFICOS

**Celulares:** integradas por los macrófagos y leucocitos polimorfonucleares conforman el mayor porcentaje de las células del calostro, mientras que los linfocitos y las células epiteliales constituyen la minoría. Las concentraciones varían entre 500 a 10,000 / mm<sup>3</sup> ( 3, 5, ).

**Humorales:** Las principales inmunoglobulinas son la IgA de secreción (11S), IgA sérica (7S), IgM, IgG (IgG3) y en niveles menores, IgE e IgD. La IgA de secreción es considerada como una de las moléculas solubles de mayor importancia en términos de protección contra enfermedades diarreicas del recién nacido. Los valores de las inmunoglobulinas presentes en los primeros días consecutivos al parto son: IgA 500 mg/día, IgM 70 mg/día e IgG 56 mg/día ( 4, 5, 9, 17, 31,132 ).

El neonato al nacer posee cantidades importantes de IgG que lo protegerán en las primeras semanas de vida, también pasan cantidades apreciables en las secreciones del calostro y leche materna que la madre le dará al hijo después de nacer y que son absorbidas principalmente por la mucosa digestiva. Esta capacidad de absorción disminuye en los primeros meses de vida y al madurar su aparato digestivo impide el paso de macromoléculas al interior del organismo. En condiciones normales, el sistema inmune del lactante sintetiza las Igs de isotipo IgM después del nacimiento, la IgA a las tres o cuatro semanas y la IgG después de las seis semanas, sin embargo este último isotipo está presente en el feto desde el último trimestre del embarazo porque es proporcionada por la madre a través de la placenta y lo protegerán antes y después del nacimiento, solamente la IgG1 e IgG3 traspasan la barrera placentaria.

La IgG es la más abundante de las Igs sintetizadas en el humano, Después de los seis meses de vida, representa el 80% de los anticuerpos circulantes contra bacterias, toxinas y virus. Su vida media es de 23 días, el individuo normal contiene 700 mg/dl de IgG en suero ( 132,168 ).

La IgA secretora constituye la primera línea importante de defensa contra agentes infecciosos y es la Ig predominante en las secreciones seromucosas, calostro y leche materna, presentándose en forma dimerica. El calostro y la leche materna evitan la sensibilidad del neonato a sustancias potencialmente alergénicas; la carencia de IgA es un factor desencadenante para padecimientos como asma, fiebre del heno, enfermedades autoinmunes e instalación de parásitos intracelulares como *T.gondii*, *Leishmania donovani* y *Trypanosoma cruzi*, entre otros ( 17,31,132,168,164 )

En condiciones normales, la IgM no cruza placenta. Sin embargo en infecciones como la producida por *Toxoplasma gondii* el feto la puede producir activamente antes del nacimiento de tal forma que la presencia de esta Ig en la sangre del cordón umbilical es evidencia de que hubo una infección del feto (99,168)



## HISTORIA

*Toxoplasma gondii* fue descubierto en 1908 por Nicolle y Manceaux, en un roedor del norte de Africa *Ctenodactylus gundl* que se había mantenido durante cierto tiempo en el Instituto Pasteur de Túnez. Un año después se creó el género *Toxoplasma*, palabra que deriva del griego "Toxon" que significa arco para flecha, en alusión a la forma que asume el parásito ( 114, 133 ). Splendore, en Brasil lo aisló de un conejo en el mismo año. Más tarde fue aislado de otros animales en varios países y Janku (1923) en Checoslovaquia describió al parásito en un corte histológico de la retina de un neonato que aparentemente murió a consecuencia de toxoplasmosis ( 80,133,163 ).

En 1939, Wolf y col. relacionaron a este protozoo como causante de la corioretinitis, la meningoencefalitis en recién nacidos y la vía transplacentaria como uno de sus mecanismos de trasmisión. Pickerton y Henderson (1941) describieron la forma adquirida en el adulto y en el mismo año Sabin reportó la toxoplasmosis adquirida en un infante (123, 119, 192 ). Magnusson y Walhgren ( 1948) describieron la toxoplasmosis ganglionar adquirida ( 98 ).

De 1960 a 70, Frenkel y col. determinaron el ciclo biológico y la importancia del gato doméstico y otros félidos como hospederos definitivos, ya que en ellos se desarrolla el ciclo sexual del parásito, siendo el hombre uno de los tantos hospederos intermedarios donde se efectúa la reproducción asexual. Por lo que el gato juega un papel importante en la cadena epidemiológica de la toxoplasmosis, asociado a factores socioeconómicos, ecológicos y climáticos ( 51 ,53, 133 ).

Mellgren (1952), Remington y col. (1958) y Langer (1960) aislaron a *T. gondii* del endometrio humano (133). Sabin y Feldman (1939) desarrollaron la prueba de tinción con azul de metileno para el diagnóstico Warren y Russ, en el mismo año, obtuvieron antígeno de *Toxoplasma* en embriones de pollo y lo utilizaron en la reacción de fijación del complemento. Russ (1940) reportó una prueba cutánea sensible al antígeno de este protozoo (144, 183). Frenkel (1948) realizó una prueba cutánea usando como antígeno, lisados de *T. gondii* obtenidos del exudado peritoneal de ratón. Garin (1960) introdujo una prueba de aglutinación, usando como antígeno un exudado peritoneal rico en toxoplasmas y una suspensión de colodión ( 55,58 ).

Jacobs y Lunde (1957 ) utilizaron la hemaglutinación indirecta y Julton y Turk (1957) introdujeron la aglutinación utilizando al parásito completo (61, 66). Remington y col. (1963) implementaron la inmunofluorescencia indirecta convirtiéndose en la más importante para el diagnóstico ( 133 ).

Duermeyer y col. (1978) introdujeron el método ELISA para determinar IgG e IgM, y al cuantificar esta última se eliminó la interferencia de la IgG (factor reumatoide). De 1980 a 1997, han evolucionado las técnicas de inmunodiagnóstico para la toxoplasmosis aumentando cada vez mas su sensibilidad y sencillez ( 58 66, 67, 121,159, 174,176, 183, 190 ).

#### AGENTE ETIOLOGICO.

SUBREINO:	Protozoa.	Goldfuss,	1846.
PHYLLUM:	Apicomplexa.	Levine,	1970.
CLASE:	Sporozoea.	Leuckart,	1879.
SUBCLASE:	Coccidia.	Leuckart,	1879.
ORDEN:	Eucoccidea.	Léger, col.	1911
SUBORDEN:	Eimeriina.	Léger.	1892
FAMILIA.	Toxoplasmodiidae.	Nicolle.	1909.
SUBFAMILIA:	Toxoplasmatinae.	Nicolle.	1909.
GENERO:	<i>Toxoplasma.</i>	Nicolle.	1909.
ESPECIE:	<i>gondii</i>	Manceaux.	1909 ( 94,95).

*Toxoplasma gondii* es un protozoo que, en su ciclo de vida, presenta tres estadios infectivos. El **Taquizoít** es ovalado y ligeramente arqueado, en forma de media luna creciente, mide de 4 a 8 micras de largo y 2 a 4 de ancho; su parte anterior es delgada y su extremo posterior es redondeado. Su superficie está formada por una cubierta externa llamada *película* compuesta de 3 membranas. De éstas, la interna es la única que es discontinua en tres sitios del parásito: hacia la parte posterior, en zonas donde hay microporos que funcionan como citostomas y en la terminación anterior donde se localiza el *anillo polar* ( 13,53,102,115,116 ) ( fig 1 ).

El anillo polar es una estructura constituida por microtúbulos, que es gruesa y osmiofílica que rodea circularmente a una estructura en forma de cono truncado llamado *conoide*, que consiste de 6 a 8 elementos fibrilares en forma de espiral en sentido contrario a las manecillas del reloj. Derivan de este anillo polar 22 microtúbulos subpeliculares que corren longitudinalmente por la superficie interna y a lo largo de toda la célula. Dentro del conoide se encuentran 8 a 10 organelos en forma de lágrima llamadas *roptrias* que se dirigen al centro de la célula; su parte más delgada se encuentra dentro del conoide y la más ancha se acerca al núcleo. Las roptrias son electrodensas y miden un promedio de 2 a 3 micras de largo y su función es de tipo glandular, vertiendo su secreción al exterior al momento en que el *Toxoplasma* infecta a una célula huésped.

Existen otras estructuras similares a las propias pero más delgadas y alargadas llamadas *toxonomes* o *miconemas* cuya distribución es al azar y su función es de secreción de sustancia que permitan al protozoo infectar células (13,41,116). En la parte media del taquizoito se observa su *núcleo* con *endosoma* ó *nucleolo* central. El citoplasma contiene *ribosomas*, *retículo endoplásmico liso y rugoso*, grandes y numerosas *mitocondrias* diferentes tipos de *vacuolas* y *aparato de Golgi* que es amplio.

El movimiento del taquizoito durante el proceso de invasión de la célula huésped, está regulada por miosina, actina y microtubulina, proteínas constituyentes de los microtubulos y que son dependientes de un gradiente de pH y iones para pasar del estado sol a gel; así la movilidad es inducida cuando el pH extracelular es mayor que el intracelular. El proceso de invasión es a través de receptores que se encuentran en la superficie de la célula huésped y la proteína p30 una de las que están presentes en la superficie del taquizoito parece actuar como ligando para infectar a la célula huésped (20,22,26,146,147,158)

Cuando el taquizoito invade a la célula huésped se rodea de una vacuola parasitófora constituida por la membrana citoplasmática, dentro de la cual sobrevive y se reproduce, debido a que no hay fusión con lisosomas y no hay acidificación del endosoma (68,189). El parásito dentro de la vacuola se divide rápidamente por un proceso asexual denominado *endodogonia*, en el cual se originan dos células hijas dentro de la célula madre; a su vez las células hijas se dividen. El tiempo de división es de 6 a 12 horas dependiendo de la cepa. De este modo los taquizoitos se van multiplicando en el interior de la célula huésped hasta llenarla completamente. Y al ser liberados pueden invadir las células adyacentes (20, 195). Este estadio de *Toxoplasma gondii* fue descrito por Frenkel en 1974, acuñó el termino taquizoito, del griego *Tachos = rápido*, porque el protozoo se multiplica rápidamente en las células nucleadas del huésped intermediario (53,56).

El *bradizoito*, segundo estadio es la fase del parásito que se multiplica lenta y asexualmente por endodogonia. Se forma en un término de 8 a 10 días después de la infección y es propio de la fase crónica de la infección; su tiempo de generación es más largo y los zoítos son más grandes y delgados. Contiene gránulos de carbohidratos en las vacuolas de reserva, que proveerán de energía durante la

fase de latencia. Además, son resistentes a medicamentos, enzimas digestivas y pueden sobrevivir varias horas bajo la acción enzimática, por lo que son infecciosos por vía oral. Este es el único estadio que tiene la capacidad de iniciar el ciclo enteroepitelial o sexual y transformarse en ooquiste en el intestino del gato (39,57,56, 133 ).

La vacuola parasitófora que contiene los bradizoitos se va rodeando de una pared gruesa, transformándose en *quiste*. El tamaño de los quistes varía de 10 y 200 micras, y contienen desde 4 bradizoitos en quistes jóvenes, hasta varias decenas de bradizoitos en los viejos. Esta forma se encuentra en los tejidos y está presente en cualquier órgano, pero con más frecuencia en cerebro, corazón, ojo y sistema músculo esquelético. Los quistes permanecen viables a 4°C durante 68 días. Sin embargo en congelación o a más de 67° C, los quistes son destruidos ( 53, 171 ).

El tercer estadio infectivo de *T. gondii* es el esporozoíto. Morfológicamente presenta todos los organelos del género *Toxoplasma* es similar al taquizoíto; sin embargo presenta más micronemas y roptrias ( 53 ). Es resistente a la pepsina y tripsina ( 171 ). En número de 4 los esporozoítos se encuentran protegidos dentro de una estructura estérica de pared externa muy gruesa llamada *esporoquiste* que mide de 6 a 8 micras de diámetro. A su vez, 2 esporoquistes están contenidos dentro de una estructura ovoide denominada *ooquiste*, que mide de 10 a 12 micras de diámetro (51)

La pared del ooquiste está formada por capas gruesas de proteínas similares a la quitina, que le permiten mantener su viabilidad ante condiciones adversas climatológicas. En condiciones favorables de oxígeno, humedad y temperatura, los ooquistes inmaduros eliminados con las heces del gato maduran al formarse los esporoquistes con sus esporozoítos . La esporulación ocurre entre 1 a 5 días. Después de este proceso, el ooquiste se vuelve infeccioso. Se ha observado que un ooquiste esporulado puede permanecer viable e infeccioso hasta por 120 días a -5° C, y por 18 a 32 meses o más a temperatura y humedad favorables (39,51) .

## CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *Toxoplasma gondii* incluye dos fases: A) La sexual o enteroepitelial que sucede en los felinos (huéspedes definitivos) B) Asexual o extraintestinal que se observa en los huéspedes intermediarios.

A) Fase Sexual. Se lleva a cabo en células epiteliales del tubo digestivo de los huéspedes definitivos que son el gato doméstico y otros felinos. Cuando estos últimos ingieren quistes presentes en tejidos de sus presas, los *bradizoítos* liberados en el tubo digestivo, invaden las células epiteliales de la pared intestinal donde se dividen por esquizogonia ó fisión múltiple y dan origen a alrededor de 35 células hijas llamadas *merozoítos*. Los merozoítos invaden más enterocitos y dan origen a nuevos merozoítos y a otros organismos diferentes en cuanto a morfología y estructura que son los *gametocitos*. Estos últimos se diferencian sexualmente en macro y microgameto ( 39,53,56 ).

El macrogametocito madura creciendo considerablemente sin división nuclear y presenta una reducción meiótica, mide 13 micras con numerosos gránulos de reserva, mientras que el microgametocito desarrolla en su interior de 6 a 32 microgametos, los cuales son alargados y delgados con 2 flagelos en su parte anterior que le sirven para acercarse hacia el macrogameto. La fecundación del macrogameto por el microgameto da lugar a un cigoto ó huevo, el cual secreta una capa protectora transformándose en ooquiste, éste se libera de la célula huésped y es expulsado junto con la heces. Los ooquistes excretados por el gato no son infectivos hasta que esporulan lo cual se alcanza en 2 a 5 días (39, 50,51,53,54,56).

B) Fase asexual. Se realiza en cualquier célula de los huéspedes intermediarios y del huésped definitivo ( excepto glóbulos rojos). La infección se inicia con la ingestión de quistes presentes en la carne de animales parasitados o de ooquistes que contaminan los alimentos. y que proceden del gato. En el intestino, la acción de los jugos gástricos permite el desenquistamiento de los esporozoítos o bradizoítos que invaden la mucosa intestinal y penetran a las células epiteliales en donde se inicia la fase de reproducción asexual por endodiogenia. Los zoítos, invaden los nódulos linfáticos mesentericos y al infectar macrófagos son transportados por vía linfática ó sanguínea hacia diferentes tejidos, principalmente a los que pertenecen al sistema nervioso y al tejido muscular donde se establecen para dividirse intracelularmente por endodiogenia y dar lugar a la formación de quistes ( 50,53,56 ) ( Fig 2 ).

El ciclo se puede repetir si otro animal de sangre caliente se alimenta con estos quistes viables. En el humano se ha observado también la infección a través de transplantes de órganos infectados con quistes, ó transfusiones de sangre que contengan el parásito ( 50,52,53,133 ).

FIGURA 1  
Morfología de *Toxoplasma gondii* (estado taquizoito)

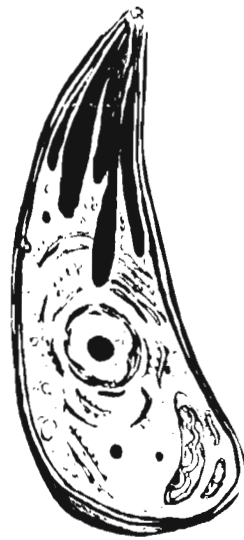
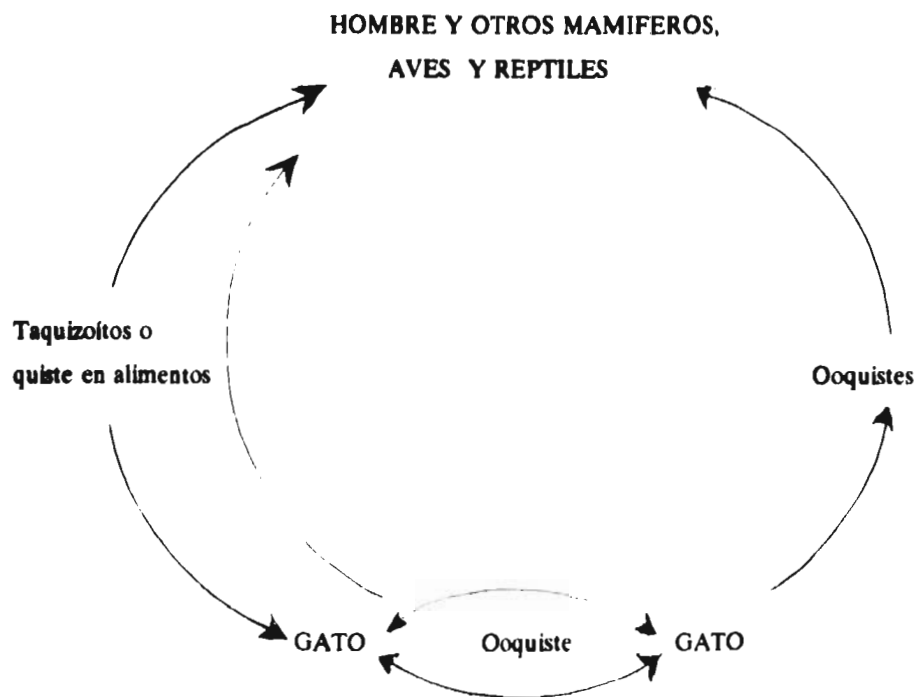


FIGURA 2  
Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*



## MECANISMOS DE EVASIÓN DE *Toxoplasma gondii*

Una de las características más interesantes, de este protozoo es que invade cualquier tipo de célula, tanto fagocíticas como no fagocíticas, a excepción de los eritrocitos. Los mecanismos de penetración de *Toxoplasma gondii* a la célula es por invasión activa ( 26,68,81,157,168 ).

Mecanismos de evasión. A pesar de la extraordinaria acción defensiva de los mecanismos inmunológicos, el parásito ha encontrado la forma de sobrevivir por períodos prolongados y en aparente equilibrio con su huésped, sólo bajo determinadas circunstancias, este equilibrio se rompe y acontece la enfermedad presentándose las recaídas que pueden ocurrir muchos años después de la primoinfección. Tal persistencia de microorganismos, viables pero latentes en el huésped permite el mantenimiento del parásito ( 81,100,158 ).

Cuando un parásito invade a un macrófago no hay fusión de la vacuola parasitofora con el lisosoma, el parásito no está expuesto a las enzimas lisosomales y no desencadena los mecanismos oxidativos. En cambio en un macrófago o monocito activados se lleva a cabo el proceso de eliminación del protozoo (6). Experimentos *in vitro* con *T.gondii* han demostrado que determinado número de parásitos fagocitados por macrófagos sobreviven dentro de la vacuola parasitofora mientras que otros mueren, observándose que los parásitos que sobreviven se encuentran en vacuolas que no se fusionaron con los lisosoma por lo que no se produjo acción hidrolítica, mientras que, los parásitos muertos estaban contenidos en un fagolisosoma y cerca del 50% de estos protozoos sobrevivieron a este mecanismo. Los autores sugieren que *T.gondii* altera las propiedades de los fagosomas oponiendo barreras de mitocondrias y material fibrilar a la membrana lisosómica lo que impide el acceso del contenido del lisosoma a la vacuola. (68, 81, 82, 109, 195 ).

El segundo mecanismo defensivo de los parásitos contra la muerte intracelular, es la modificación de los eventos metabólicos que realiza el fagocito para la eliminación de tales parásitos, afectando el estallido respiratorio en el fagocito ( 82 ). El parásito desarrolla un mecanismo defensivo durante el proceso oxidativo, eliminando enzimas como la catalasa endógena y glutatión-peroxidasa, resistiendo al peróxido de hidrógeno, lo que señala que el nivel de enzimas demolidoras de metabolitos del oxígeno también tiene un papel importante en la muerte del parásito ( 81, 82,102,109 195 )

La eliminación del antígeno llamado Capping, es otro mecanismo para evadir la respuesta inmunitaria, en el cual antígenos de superficie se combinan con anticuerpos específicos y el complejo formado se reúne en un polo de la célula que después es eliminado por exocitosis o por endocitosis. En estudios realizados con *T.gondii*, se observó la formación del casquete lo cual fue eliminado por exocitosis sin producir cambios degenerativos en su membrana del parásito. Estos últimos permaneciendo vivos y virulentos ya que produjeron infección al ser inoculados a un huésped ( 44,152,153 ).

## RESPUESTA INMUNE DEL HOSPEDERO

En sujetos sanos, la infección por *Toxoplasma gondii* provoca rápidamente respuesta inmunitaria, tanto humoral como celular. En el suero aparecen anticuerpos específicos de la clase IgG, IgM, IgA e IgE. Mediante análisis *in vitro*, puede ponerse en evidencia la respuesta de las diferentes subpoblaciones de células T a los antígenos de *T. gondii*. La activación de las células T ocurre poco después de la infección aguda aunque la identificación de la reactividad específica contra los antígenos de *T. gondii* puede durar cierto tiempo (24, 167).

Los anticuerpos IgG específicos por un lado lisan los trofozoítos extracelulares por la vía clásica del complemento y por otro lado opsonizan los trofozoítos, facilitando su destrucción por los fagocitos mononucleares. Tanto *en vivo* como *in vitro* se ha demostrado que los productos solubles (linfocinas secretadas por células CD-4+ sensibilizadas por el antígeno, como la interleucina (IL-2) y el interferón gamma (IFN- $\gamma$ )) son elementos decisivos de una respuesta eficaz frente a la infección por *T. gondii*. Experimentos en animales han demostrado que estas linfocinas actúan de manera determinante en forma específica e inespecífica para evitar la invasión y reproducción de este protozoo (21,75, 156, 166, 167,173).

La IL-2 amplía la población de células T, de las células Null, las células asesinas naturales y de células B estimuladas por el antígeno promoviendo su diferenciación a células productoras de anticuerpos. La IL-2 también estimula la producción de IFN- $\gamma$  que tiene efecto pleotrópico y de amplificación, con capacidad de estimular células susceptibles como macrófagos tisulares y la mayor parte de las células parenquimatosas para destruir o inhibir la multiplicación intracelular de trofozoítos de *T.gondii*. *in vitro*, las células de la sangre periférica de sujetos sanos inmunes seropositivos proliferan fácilmente y elaboran IL-2 e IFN- $\gamma$  al ser estimulados por los antígenos de *T. gondii* (24, 87, 150, 156, 166, 167, 173).

Las células de los enfermos con SIDA, deficientes en células T y con toxoplasmosis reactivada no secretan IL-2 e IFN- $\gamma$ . El papel crucial de estos mecanismos dependientes de células T se ha hecho más patente ante la reactivación de la infección latente en enfermos inmunodeprimidos iatrogénicamente y en pacientes con SIDA, a pesar de la existencia de anticuerpos específicos circulantes (72,99, 131,156,166,168)

En individuos sanos inmunocompetentes, la infección aguda por *T. gondii* provoca alteraciones cuantitativas en las subpoblaciones de células T de sangre periférica consistentes en la depleción de las células CD-4+, aumento de las células supresoras CD-8+ y la disminución del cociente celular CD-4/CD-8. Estos cambios pueden ser muy importantes en enfermos con síntomas, persistiendo hasta por 6 meses, la mayoría de los pacientes se recuperan en forma rápida y espontánea sin ninguna secuela (24, 87, 166)



## PATOLOGÍA

La sintomatología en Toxoplasmosis se debe a la reacción inflamatoria y a fenómenos de hipersensibilidad consecutivos a la destrucción celular; es más evidente en el sistema nervioso central y globo ocular ( 185 ). Hay factores que propician que las manifestaciones clínicas sean más severas como la edad, donde el niño y el anciano presentan menor resistencia y son más susceptibles que el adulto (155,133). Estos factores están muy relacionados con la inmunidad celular, principalmente con los linfocitos T y en lactantes con las células que le brinda la madre a través del calostro o la leche materna ( 50,120,133 ).

Las lesiones son originadas por la proliferación del parásito dentro de las células susceptibles que son destruidas y por la ruptura de los quistes, que al liberar compuestos antigénicos dan lugar a una reacción inflamatoria acentuada por hipersensibilidad, llegando a producir zonas con daño tisular de 100 a 400 micras de diámetro. En torno a las células parasitadas, se presenta una reacción granulomatosa a base de mononucleares ( 145,155,179 ).

Las células parasitadas son destruidas y cuando esto ocurre en células neuronales, se produce daño irreversible, con necrosis celular, nódulos microgliales e inflamación perivascular asociada con trofozoítos intra y extracelulares, ocasionando trombosis en vasos sanguíneos que provocan extensas zonas de necrosis por coagulación o lesiones masivas. La necrosis periacueductal y periventricular pueden conducir a la obstrucción del acueducto de Silvio y del agujero de Monro, dando como resultado hidrocefalia interna. Las áreas de necrosis pueden experimentar calcificación (80,145,155,179).

En la mayoría de los casos no hay parásitos en las lesiones, pero en algunas infecciones de retina pueden detectarse bradizoítos en quistes hísticos, acompañados de una acentuada inflamación y una alta exudación del humor vítreo, con infiltrado inflamatorio formado por monocitos, linfocitos y células plasmáticas; la ruptura constante de quistes provoca lesiones agudas donde en cada episodio se destruyen elementos de la retina, por lo que se sugiere que puede causar una reacción de hipersensibilidad ( 80,145,155,179 )

En pacientes embarazadas y durante el transcurso de una parasitemia llegan los protozoos a través del cordón umbilical hasta el producto, siendo posible que éstos atraviesen la placenta sin que existan alteraciones tisulares perceptibles, por la tolerancia inmunológica mediada por la células T presentes en ese momento (49,125,129) .

Se ha encontrado quistes con bradizoítos en el cordón umbilical, membranas ovulares y vellosidades terminales ( 49, 52, 129 ).

La presencia de quistes del parásito en los epitelios del amnios, indica que también puede infectar al feto por la llamada "endometritis toxoplásmica", con la penetración del agente patógeno en el líquido amniótico, con la presencia de quiste en el endometrio previa a una infección causada por *T. gondii*. Se ha demostrado la presencia de este parásito en frotis vaginales y en sangre menstrual, así como por inoculación de tejido uterino en animales ( 125, 129 ).

La presencia de *T.gondii* en pacientes inmunodeprimidos por SIDA pueden desarrollar toxoplasmosis cerebral, en las continuas recaídas. En 1975 Towand col. y otros autores muestran que el 50% de los casos de encefalitis en personas inmunodeficientes son provocadas por este parásito con cuadros clínicos como letargo, convulsiones, cefalea, ataxia y llegan a un estado comatoso en algunos casos porque hay necrosis en el cerebro, especialmente en el tálamo. Además pueden presenta procesos agudos con meningitis, miocarditis, neumonía, obstrucciones hidrocefálicas, distrofias en órganos de reproducción, inflamación de ganglios, apiasia ocular y ótica. entre otros ( 26,72, 129, 131, 176,188, 193 ).

## ANATOMÍA PATOLÓGICA

Frenkel (50) describe cuatro mecanismos de lesión tisular en la toxoplasmosis:

**1. Reacción inflamatoria por destrucción de células parasitadas.** Es una reacción inflamatoria intensa durante la fase proliferativa del parásito en el tejido que no presenta regeneración celular y su especialización funcional es alta como en el ojo y cerebro; esta respuesta está dada por linfocitos, monocitos (microglia, astrocitos), polimorfonucleares y a veces células plasmáticas, se acompaña de fibrosis y gliosis si la magnitud de la lisis celular es muy grande ( 50,122,133).

**2. Necrosis tisular por ruptura de quistes durante la fase crónica.** Los parásitos al ser liberados son destruidos, presentándose necrosis en células adyacentes como resultado de un fenómeno de hipersensibilidad ( 77 ). Estas lesiones y su sintomatología será mayor mientras más número de parásitos sean liberados de los quistes. Este tipo de lesiones se presenta con mayor frecuencia en retina ( 50 )

**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 y son visibles a los rayos X (54, 122,129).

**4. Necrosis periacueductal y periventricular.** Cuando el parásito entra en ventrículos a partir de lesiones parenquimatosas, lesiona las células ependimarias y periventriculares, hay reacción inflamatoria y formación de pequeñas úlceras que pueden obstruir el acueducto de Silvio. Si esto ocurre en los ventrículos laterales y en el tercer ventrículo se transforman en cavidades que contienen parásitos, células y sustancias de la reacción inflamatoria calcifican en la periferia por lo que aparecen en la radiografía simple de cráneo. Este proceso se presenta en la toxoplasmosis intrauterina ( 8, 49, 50, 86,191 ).

## CUADRO CLÍNICO.

Los cuadros clínicos en la toxoplasmosis son muy variados, desde las formas asintomáticas hasta las diseminadas pasando por las localizaciones monoviscerales y angustamiento. Dependen básicamente de la etapa en la cual se adquiere la infección, ya sea en la vida uterina o después del nacimiento. En general, se presentan los siguientes cuadros:

**A) Toxoplasmosis ganglionar.** Esta forma clínica es la más frecuente en adultos y escolares, se caracteriza por presentar adenopatías de múltiples localizaciones e involucra ganglios superficiales, principalmente cervicales, suboccipitales, supraclaviculares, axilares e inguinales, en algunos casos puede afectar ganglios mediastinales y retroperitoneales. Los síntomas principales son: malestar general, fiebre, cefalea, mialgias, dolor de garganta y en algunos casos hepatoesplenomegalia. El curso clínico es benigno, autolimitado y no requiere tratamiento específico ( 52, 96,120,185 ).

**B) Toxoplasmosis generalizada.** Es una variante de la forma ganglionar a la que se le agregan manifestaciones en hígado, miocardio, pulmones y músculo estriado, con erupción maculopapular generalizada de color rojizo, no pruriginosa que respeta las palmas y plantas; la fiebre es evidente. La virulencia de la cepa y la magnitud del inóculo determinarán la gravedad de las manifestaciones viscerales, pudiéndose presentar hepatitis, miocarditis, miositis, bronconeumonía o microabscesos pulmonares ( 34,52,50,96,188 ). Este tipo de toxoplasmosis se ha observado en el caso de inoculaciones accidentales en el laboratorio y es frecuente en pacientes inmunodeprimidos con reactivación (linfomas, Hodgkin, leucemias, neoplasias y SIDA) donde se pueden presentar alteraciones encefálicas como confusión, hipertensión intracraneana, reflejos osteotendinosos alterados, convulsiones y parálisis; es frecuente que la encefalitis se acompañe de lesiones necrosantes en miocardio y pulmones y en menor proporción en hígado y riñones. Dado el estado de inmunodeficiencia, es común que se agreguen infecciones por otros microorganismos oportunistas complicando las manifestaciones clínicas que retardan el diagnóstico ( 34,50,52,188.)

**C) Toxoplasmosis ocular.** En el adulto esta forma de toxoplasmosis se debe a secuelas de una infección ocurrida *in útero*, aunque hay algunos casos de infección adquirida. El parásito produce hipersensibilidad, reacción inflamatoria, uveítis anterior y coriorretinitis ( 69,116).

**D) Toxoplasmosis intrauterina o congénita.** Es adquirida durante el embarazo. La 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 función de la edad gestacional al momento en que la madre se infecta, mientras más temprano mas grave. por otro lado a que haya una invasión constante al feto. En Francia, reportan una prevalencia del 20% en el primer trimestre del embarazo, 25% en el segundo y 65% en el tercer trimestre, con un riesgo total estimado en 39%.

De acuerdo al daño que presenta el feto, la toxoplasmosis congénita se clasifica en forma grave, latente e intermedia ( 49,50,52,188 ).

a) **Grave.** Se presentan alteraciones neurológicas de tipo encefalomiелitis clásica, con cambios en el volumen craneano como hidrocefalia o microcefalia, microftalmia, signos de daño cerebral manifestados por trastornos del tono o convulsiones. A la observación del fondo del ojo se detectan lesiones características de coriorretinitis. La encefalomiелitis como consecuencia de una infección fetal de origen a secuelas que agravan el pronóstico (signos de alteración multivisceral), se presenta septicemia con ictericia, hepatoesplenomegalia y púrpura trombocitopénica ( 8,66,129 ).

b) **Latente.** Esta es la más frecuente. Los riesgos potenciales, como las alteraciones neurológicas u oculares secundarias, deben ser del conocimiento de los padres, y justifican tratamiento a pesar de que el neonato parezca sano (49,96,129 ).

c) **Intermedia.** En esta forma clínica de toxoplasmosis, se observan lesiones oculares o calcificaciones intracraneanas en un niño aparentemente sano. Se puede presentar secuelas que aparecen en los meses posteriores al nacimiento, como son retraso mental, cuadros convulsivos, calcificaciones intracraneanas, sordera, pérdida parcial de la visión, estrabismo, miopatas, poliomiелitis , parálisis y otras mas como síndrome de parálisis cerebral infantil ( 20,34,37,47,49,83,96, 192).

## DIAGNOSTICO

Como el cuadro clínico ocasionado por *T. gondii* es variado y muy frecuentemente inespecífico, se tiene que recurrir a soluciones alternativas para el diagnóstico definitivo. Existen métodos para demostrar la presencia del parásito o de anticuerpos específicos.

### MÉTODOS PARASITOLÓGICOS

Por medio de estos exámenes se demuestra la presencia de *T. gondii* en LCR, humor acuoso, sangre, esputo, saliva, biopsia de ganglios, de médula ósea o de placenta.

1. **Método Directo.** El examen microscópico de productos patológicos teñidos con Giemsa, Wright, hematoxilina-eosín o azul de metileno permiten la observación y la identificación del parásito en base de su morfología característica (144).

2. **Cultivo en líneas celulares,** consiste en la inoculación cultivos de líneas celulares con la muestras, con el fin de cultivar y aislar el parásito.

3. **Inoculación en animales de laboratorio,** se inoculan ratones con las muestras, permitiendo identificación del parásito o seroconversión. Sin embargo para el manejo de estas técnicas se debe contar con lugar y personal especializado (141).

4. **PCR ( Reacción en cadena de la polimerasa de DNA )** Esta técnica permite detectar pequeñas cantidades de material genético del parásito, Su aplicación en el diagnóstico de toxoplasmosis activa es altamente confiable con una sensibilidad del 100% y una especificidad de 90%, es muy útil en toxoplasmosis intrauterina y en paciente inmunocomprometidos con encefalitis causada por *T. gondii* ( 119).

### MÉTODOS INMUNOLÓGICOS.

1. **Identificación y cuantificación de anticuerpos específicos.** Por medio de éstos metodos se puede determinar la respuesta inmune que ha inducido el parásito en un individuo mediante la identificación y cuantificación de inmunoglobulinas específicas de los isotipo IgG, IgM, IgA o IgE contra *T. gondii*. De estas pruebas, se considera como clásica a la reacción de Sabin y Felman, llamada también prueba del colorante o dye test, que se basa en la capacidad que normalmente tiene *T. gondii* para captar un colorante (azul de metileno) por lo que el parásito se tiñe de azul, afinidad que se pierde cuando se pone en contacto con un antisuero específicos ( 144 ). En la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI), se utilizan antigamaglobulinas humanas conjugadas con isotiocianato de fluoresceína, para identificar la

presencia de anticuerpos específicos contra *T.gondii*. La prueba de hemaglutinación indirecta (HI) utiliza eritrocitos cubiertos con antígenos del protozoo, los cuales al ponerse en contacto con sueros probables positivos aglutinan a estos. Por ELISA, se puede detectar la existencia de IgG, IgM, IgA e IgE específicas. Estas últimas pruebas son accesibles y de gran valor diagnóstico en una infección de reciente adquisición. Las características del antígeno utilizado en las diferentes técnicas, así como 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 (23,29,35,58,66,67,104,151).

En la infección por *T. gondii* se presentan la IgM, IgG, IgA e IgE. La presencia de IgM indica una infección reciente y aguda, no así con la IgG a menos que aumente sus títulos durante el monitoreo, y esta se presenta tanto en la fase aguda como en la crónica. La presencia de la IgA sérica como de secreción nos indica una infección reciente y está presente principalmente en la fase aguda. Los títulos altos detectable de IgE indica una infección crónica con una respuesta de hipersensibilidad al parásito ( 27,61,92,169,185 ).

**Diagnóstico en infección congénita.** El diagnóstico serológico definitivo en un recién nacido se efectúa en caso de sospecha de infección reciente, mediante la demostración de anticuerpos IgM específicos contra *T.gondii*. También la IgG puede ser útil en el diagnóstico si los títulos son crecientes ó persistentes, dado que la IgG se transfiere pasivamente de la madre al producto. De ahí que el diagnóstico de infección congénita puede hacerse en base de la demostración de IgM e IgG antitoxoplasma. Así como la determinación de la presencia de antígenos del parásito ( 27,61, 67, 190).

**Diagnóstico en infección aguda durante el embarazo;** es de vital importancia, investigar si la infección se adquirió antes de la gestación ó durante la misma, ya que en el primer caso se considera que no hay riesgo alguno para el producto, mientras que el segundocaso, si se detecta la presencia y aumento en los títulos de IgM antitoxoplasma se establece el diagnóstico de infección activa, hay peligro para el producto, con un riesgo del 40% de infección del feto. La presencia de IgG específica contra *T. gondii*, puede ser de utilidad cuando sus títulos sean altos y estén en aumento durante el monitoreo, sin embargo la IgM antitoxoplasma es diagnóstica para este caso. Es útil también demostrar la presencia del protozoo en el líquido amniótico inoculando a ratones ó líneas celulares o bien material genético por PCR. Con estos tres métodos se logra un diagnóstico prenatal de toxoplasmosis congénita del 93% (14, 92, 121, 169, 174, 190 ).

**Diagnóstico en infección aguda en el paciente Inmunocompetente;** La seroconversión de negativo a positivo, el incremento en los títulos de IgG antitoxoplasma, en suero del paciente a intervalos de tres semanas ( procesados simultaneamente), así como títulos significativos de IgM específica contra *T. gondii*

corroboran el diagnóstico de una infección aguda. Sin embargo si tanto la IgG como la IgM son negativos y la sintomatología sugiere toxoplasmosis se puede recurrir a la búsqueda del antígeno por medio de PCR ó a una biopsia de ganglios con infarto permanente, esta última proporciona datos histopatológicos típicos causados por el protozoo ( 67-92, 185,121 ).

**Diagnóstico en infección aguda en el paciente inmunocomprometido.** Se complica para estos paciente un buen diagnóstico, en el caso de pacientes con SIDA y toxoplasmosis cerebral, por ejemplo no presentan la respuesta típica de anticuerpos en la infección aguda o a la reactivación. En este tipo de pacientes, para confirmar el diagnóstico se debe demostrar la presencia del protozoo en tejidos o fluidos corporales. Así como demostrar la producción intratecal de anticuerpos IgM e IgG específicos a través de su determinación en el líquido cefalorraquídeo. Otra herramienta importante para apoyar el diagnóstico es la detección y cuantificación de antígenos en suero y otros fluidos corporales por ELISA y PCR (61,78, 119, 121,141, ).

**Diagnóstico de toxoplasmosis ocular.** La presencia de IgG e IgM antitoxoplasma es diagnóstica en coriorretinitis activa, pero en la mayoría de la veces es negativa . Puesto que la toxoplasmosis ocular casi siempre es una manifestación tardía de una infección congénita, El diagnóstico se puede establecer cuando la lesión de retina es típica y además es seropositivo con IgG e IgM específica anti *T. gondii*. En casos dudosos se debe recurrir a la medición de anticuerpos en humor acuoso así como de antígenos, si aún están presentes (121,141).

La determinación de la IgM específica contra *T.gondii* puede obtenerse con la técnicas de IFI, ELISA de doble emparedado que da una confiabilidad del 88 al 90% y del inmunoblot (IB) que tiene una confiabilidad del 100%. en las fases agudas. La IgG antitoxoplasma puede determinarse en las fases agudas y crónicas por ELISA, IFI, IB, con una confiabilidad del 90 al 100%. La presencia de IgA indica una infección aguda muy reciente probablemente adquirida después del nacimiento y principalmente cuando el niño no ha sido alimentado con leche materna. La IgA antitoxoplasma en los últimos estudios de diagnóstico para la toxoplasmosis se ha recomendado como alternativa y las técnica de ELISA e IB nos dan un margen de confiabilidad del 90-100% ( 23,92, 119,121, 151,174 ).



## EPIDEMIOLOGIA

La toxoplasmosis es una protozoosis zoonótica con distribución cosmopolita y ampliamente difundida en la naturaleza. *Toxoplasma gondii* puede infectar animales herbívoros, omnívoros y carnívoros, tales como mamíferos, aves y reptiles ( 48, 51,53,133, 196 ).

El gato es el huésped definitivo porque en él se lleva a cabo la fase sexual del ciclo biológico en las células epiteliales del tubo digestivo con producción de ooquistes que son eliminados con las heces. En cada defecación se eliminan varios millones de ellos durante una a tres semanas.

Los ooquistes eliminados maduran en 24 a 48 horas si las condiciones de temperatura y humedad del suelo son óptimas, siendo este sitio la fuente de contaminación para los animales incluyendo al hombre, e iniciándose la reproducción asexual en sus tejidos ( 51, 53, 120 ).

La infección humana es muy común, pero la enfermedad clínica es poco frecuente, estimándose que alrededor de un tercio o más de la población mundial tiene anticuerpos contra *T.gondii*. Sin embargo la tasa de prevalencia es más alta en regiones semitropicales y tropicales, sobre todo en las zonas costeras, y en algunos países que por razones culturales consumen carne cruda o poco cocida ( 40,42,48,53,133 ).

La seropositividad humana en niños menores de 5 años es baja, luego tiende a elevarse, alcanzando su máximo entre los 20 y 50 años. No hay preferencia por razas, sexo o edad, pero en cambio son factores determinantes los hábitos alimenticios, la cantidad de formas infectantes adquiridas, la susceptibilidad genética (48,112). La enfermedad se presenta en forma esporádica con incidencia baja, aunque se han descrito brotes epidémicos con una fuente común de infección ( 133 ).

### IMPORTANCIA EN SALUD PUBLICA

Reside principalmente en la gravedad de la infección congénita así como en las secuelas que origina, cuando una mujer embarazada adquiere la primoinfección con *T. gondii* y éste llega al feto vía transplacentaria produciendo infección el cuadro clínico dependerá del tiempo de embarazo, siendo mayor en el primer y segundo trimestre y menor en el tercer trimestre. El número de casos de toxoplasmosis congénita a nivel mundial, es del 1 a 5 de cada 1000 recién nacidos presentan esta infección. De los fetos infectados con *T. gondii* 5 a 10% fallecen antes de nacer y el resto nacen asintomáticos ó con secuelas oculares y/o neurológicas. En los USA. Se reportan alrededor de 3000 casos por año ( 2, 25, 34, 53,49,120)

En la actualidad existe otro grupo de alto riesgo y de importancia en salud pública que está formado por personas que presentan algún tipo de inmunodeficiencia como la adquirida (SIDA). En estas personas el parásito se disemina a varios órganos, principalmente a sistema nervioso central, en el cual llega a producir encefalitis toxoplásmica y que conduce a la muerte del paciente. En países europeos constituye el 25% de causa de muerte y en EUA. entre el 5 y el 10% ( 2, 93, 198 ).

## FUENTES DE INFECCIÓN

Los principales mecanismos de transmisión de *T. gondii* al hombre son: la vía oral, que puede dar lugar a la forma adquirida de la enfermedad, y la vía transplacentaria, que origina la forma congénita. Otros mecanismos menos frecuentes son por transfusión sanguínea, por trasplantes de órganos y por inyección de parásitos en accidentes en el laboratorio ( 55, 57, 79). Se produce infección al consumir carne cruda semicruda o insuficientemente cocida de bovinos, ovinos, suinos, caprinos y aves que contenga quistes en los tejidos. Las tasas de seropositividad pueden elevarse hasta llegar al 100%, como sucedió en niños de un hospital Francés y en algunas regiones de ese país debido al consumo de carnes cruda de carnero, así como la costumbre de ingerir jugos de varias carnes crudas durante los primeros años de vida (13, 50)

También se ha observado alta seropositividad en el personal que maneja y manipula carne y vísceras crudas, de ovino, bovino, suinos, conejos, ratas, perros y aves; como son los sacrificadores en las empedadoras, tablajeros, cocineros etc. ( 40, 48, 51. ).

Otra forma menos frecuente de adquirir *Toxoplasma* es a través de la ingestión de vegetales y frutas contaminadas con ooquistes, principalmente cuando éstas son regadas con aguas negras (53, 133). El agua que no ha sido potabilizada y que proviene de fuentes donde ha sido contaminada con ooquistes, ha propiciado epidemias de toxoplasmosis ( 53, 133 ).

La leche contaminada con trofozoitos, provenientes de ovinos, caprinos y bovinos, ha producido toxoplasmosis en algunas comunidades ( 11, 48, 133 )

Cuando la mujer que amamanta tiene toxoplasmosis, la puede transmitir al neonato cuando son invadidos los tejidos de las glándulas mamarias por el protozoo ( 11, 124 )

Las gotas de secreción bucofaríngea de un paciente con toxoplasmosis pueden contener formas de *T. gondii* (53, 133, 136 ).

Cuando la infección ocurre por vía transplacentaria el parásito se disemina por vía sanguínea y se puede alojar en diferentes tejidos; así en la mujer embarazada se desarrollan acúmulos de parásitos en la placenta (125,133). La probabilidad de que una madre embarazada que adquirió la infección antes de la gestación, transmita parásitos al producto es casi nula (125). El riesgo de la primoinfección durante la gestación depende del área geográfica y del número de personas que no han sido previamente infectadas, se considera que están en riesgo de adquirir la infección aquellas mujeres que cambian de residencia de un lugar de baja prevalencia, a un lugar de alta prevalencia. La tasa de infección congénita por toxoplasmosis por cada 1000 nacidos vivos es de 2 en la Ciudad de México, de 1.3 en Nueva York, 3 en París, 2 en Melbourne, y 3 a 5 en zonas centrales de Francia (133).

La primoinfección de una gestante conlleva un riesgo de infección para el producto que aumenta del primer al tercer trimestre (17, 25 y 65% respectivamente), sin embargo las formas más graves de la toxoplasmosis congénita disminuyen de 14% en el primer trimestre a 9% en el segundo, y no aparecen en las infecciones ocurridas durante el tercer trimestre (52, 53). Otra consecuencia de la toxoplasmosis congénita son los abortos, mortinatos, recién nacidos de bajo peso para la edad o prematuros por la infección fetal (125).

Las transfusiones sanguíneas no son un medio frecuente de contagio, pero hay una serie de reportes de seroconversión después de una transfusión (siendo más frecuente en los que han recibido múltiples transfusiones (140,143). El protozoo puede sobrevivir en sangre almacenada a 4°C durante 50 días, y también, se ha observado la transmisión del parásito por trasplante de órganos de un donador seropositivo a receptores seronegativos (143). La infección en personal de laboratorio por inoculación accidental o por manejo de animales infectados en los bioterios es relativamente frecuente (133).

### **ENCUESTAS EPIDEMIOLOGICAS**

Las encuestas seroepidemiológicas para toxoplasmosis con diversas pruebas como la de Sabin y Felman, la inmunofluorescencia indirecta, la inmunoadhesión, las técnicas inmunoenzimáticas como ELISA, ELIFA, mediante las cuales se determina IgG, IgM, IgA, e IgE nos informan de la prevalencia en muchos países. (7,15,43,66,67, 119,121,138,166,159).

La seropositividad es muy variable, depende del país y de la zona estudiada, va desde el 2% en Inglaterra, 5% entre esquimales, aborígenes australianos e indios navajos, 13% en Tokio, 15.6% en Bangladesh, 16% en Nueva Guinea, 27% en Helsinki, e 29.7% en Cuba, 29.0% en Pakistán, 32.1% en Bar India, 42.9% en Etiopía, 41.1%, en La Isla de Cecilia, 49.6% en Ahwaz Irán, 45.2% en la República Checa, 46.1% en

Suecia, 50% en Australia, 53.% en Egipto, 18-56% en Taiwán, 58.6% en Posman Polonia, 62.% Arabia Saudita, 72% en el Noreste de Alemania, 77% en Tahití, 84% en Guatemala, 90 % en mujeres jóvenes de París y 100% en la Isla de Pascua ( 1, 6, 7, 42, 76, 87, 88, 104, 105, 107, 139, 194 ).

Se ha visto que el incremento de la seropositividad aumenta con la edad. En países tropicales, el ascenso es muy rápido en los primeros 5 a 10 años de vida, para estabilizarse en la adolescencia, en tanto que en otras regiones el incremento es progresivo a lo largo de la vida como lo demuestran las siguientes estadísticas ( 1, 6, 7, 87, 97, 107, 134, 139, 142, 154, 194 ). ( tabla 1 ).

Tabla 1. Seropositividad mundial de la toxoplasmosis.

Origen del suero	Porcentaje de positivos	
	6 - 120 meses	30-40 años
Anzona. ET. US.	0.	5
Portland O. US.	7	26
St. Luis Mo. US.	6	33
California. S. US.	10	27
N. Orleans L. US.	21	42
México. Méjico.	8	32
Tahití. T.	45	77
Trinidad. T.	29	45
El Salvador. S.S.	40	93
Inglatera. Gales.	8	25
Suecia. Estocolmo.	1.6	60
Francia. París.	33	90
Alemania. NE.	8.2	72
Austria. Viena.	7.0	63
Polonia. E.	7.2	58
Helsinki. Fín.	6.0	27
Arabia Saudita.	6.0	62

Los animales domésticos y silvestres muestran grados diversos de experiencia antigénica; y es de gran importancia su estudio porque constituyen las fuentes de contaminación y los reservorios naturales para este protozoo ( 101, 133, 139 ). Los gatos van a la cabeza con la incidencia de seropositividad mas alta: en México con el 52%, el 20% en Hawai y en Australia 9% ( 101, 134, 157, 177 ).

En México los estudios de Roch (1953-65) mostraron que la seropositividad fue del 4% en perros, 10.5% en cerdos y 36.6% en conejos ( 143, 177 ).

En Estados Unidos de Norteamérica las encuestas por Smith y col. (1992) mostraron que los perros presentan una prevalencia de sepositividad del 37%, la ovejas 29%, los gatos el 19% los boinos el 16%.

Dubey y col ( 1995) muestran la importancia de los animales silvestre y domésticos en el ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*, en un estudio en 47 granjas de ganado suino, el cual presentó una seroprevalencia del 14.3%, mientras que los ratones silvestres y el gato doméstico fué del 41.1% (40,97,162, 187).

El estudio de 10 años en cerdos de una provincia de Austria mostró una incidencia de seropositividad promedio del 32%. En Ahwaz Irán se encontró el 13.2% de seropositivos en ganado ovino y caprino. Al Oeste de Sudán en las planicies de Butana, los camellos presentaron 74.2% de seroprevalencia en IgG a *T. gondii* (42,45, 101,154 ).

Estudios inmunológicos en animales de vida silvestre y en cautiverio (Zoológicos) mostraron una seropositividad del 5 al 90%. Humphreys (1995) reporta en animales de reservas ecológicas de Pensilvania, como el venado de cola blanca presenta 25% de seropositividad, la marmota 9.4% en 22 condados de ese estado, y el 80% en osos negros de los cuales el 72% presentaron quistes, En Europa se encontró que el gato montés presentó 100% de seroprevalencia (6,33,74,97,101,103,165,186,187 ).

En México, Biagi y Alemañi ( 1957), con intradermoreacción hacia toxoplasmina, encontraron el 13% en la población general, siendo las frecuencias 17.7% en edades comprendidas entre los 40 a 49 años, el 16.7% los 30 a 39 años, el 16.2% entre los 5 a 9 años, el 12% entre los 10 a 19 años y el 8.1% entre 20 a 29 años (16,134,177). Resano en 1976, en una revisión de 19,633 muestras, mediante inmunofluorescencia indirecta reportó una seropositividad del 26.2% desde los primeros años de vida, la que aumentó con la edad (130).

Como parte de la encuesta nacional seroepidemiológica en 1987-88, Velasco y col. reportaron prevalencia del 32% para toxoplasmosis a una dilución de 1:16; y 19% a una dilución de 1:128 empleando la técnica de IFI, en 30,000 individuos de 1 a 98 años de edad. En estas últimas encuestas realizadas en México se ha demostrado que la seropositividad más elevada se encuentra en las zonas costeras del Golfo de México y del Pacífico, y la zona de menor prevalencia es la región norte del país ( 178 ). Sin embargo estudios realizados por Goldsmith y Kagan mediante hemaglutinación indirecta, en la costa del sureste del país obtuvieron una baja incidencia ( 12% ) (63).

Tay y col. (1992) encontraron seropositividad del 30% en sueros de pacientes con parálisis cerebral infantil y una correlación del binomio madre-hijo del 72% por medio de la técnica IFI (172).

En el Edo. de Michoacán solo se ha reportado un estudio sobre toxoplasmosis por Sereno en 1986 en 100 muestras de suero de cordón umbilical, encontrando una seropositividad del 46% usando la técnica de ELISA con partículas de látex. ( 157a ).

## TRATAMIENTO

El tratamiento ofrece las mejores posibilidades durante la etapa de proliferación rápida del parásito, pero lo mas que se puede esperar en las lesiones de encéfalo y de ojo es la contención del proceso patológico. Debe tomarse en cuenta que los pacientes inmunocopetentes que adquieren toxoplasmosis en etapa postnatal no requieren tratamiento específico, a menos que tengan afección visceral clínicamente importante, síntomas muy graves o persistentes o que hayan adquirido la infección por transfusión sanguínea o por inoculación accidental en el laboratorio. Los medicamentos de que se dispone, son ineficaces sobre las formas quísticas del parásito, lo que explica las recaídas a pesar de un tratamiento adecuado ( 30, 34, 59, 73, 141 ).

Los antibióticos más usados son: *espiramicina* indicado en el tratamiento de la toxoplasmosis de la embarazada y como complemento del tratamiento en la toxoplasmosis congénita. La dosis es de 50 a 100 millones de U/kg/día o 30 a 50 mg/kg/día durante 4 a 6 semanas. No es teratogeno por lo que puede utilizarse en los dos primeros trimestres del embarazo ( 30 ). *Primetamina*, se emplea a dosis de 0.5 a 1 mg/ kg/día en dos tomas, es muy tóxico para la médula ósea, por lo que el paciente puede presentar riesgo de trombocitopenia, anemia o granulopenia. Los efectos hematológicos se pueden prevenir con la administración de ácido fólico sin que disminuya la acción terapéutica ( 59 ). El tratamiento más eficaz es la combinación de *pirimetamina* y una *sulfonamida* como la sulfadiazina o trisulfapirimidina que produce sinergia hasta de 8 veces, administrándose a dosis de 75 mg/kg durante 2 a 4 semanas (141).

También se ha utilizado *clindamicina* se ha utilizado junto con la pirimetamina en infecciones del sistema nervioso central y en la toxoplasmosis ocular. La dosis es de 20 a 40 mg/kg/día, cuatro tomas al día durante no menos de tres semanas. Se recomienda añadir corticosteroides cuando las lesiones de fondo de ojo afectan mácula, cabeza del nervio óptico o haz papilomacular ( 119 ).

**Tratamiento de la mujer embarazada y el congénito:** en la mujer se debe administrar lo más pronto posible la Espiramicina, a dosis de 3g/día repartidas en tres a cuatro tomas. Sin embargo, Couvreur y Desmonts demostraron que el 60% de fetos presentaron la primoinfección , por lo que se sugiere que el medicamento no pasa libremente la placenta. Holifeld y col. confirmaron el uso combinado de pirimetamina con sulfadiazina en toxoplasmosis fetal, lograron disminuir del 11 a 40% las formas graves de toxoplasmosis congénita. El tratamiento precoz de la toxoplasmosis en la mujer embarazada disminuye las reinfecciones y los problemas de la toxoplasmosis congénita ( 30,73,128,129,141 ).

Si la infección del neonato se confirma, administrar pirimetamina y sulfadiazina durante tres semanas y continuar en forma alterna por seis a doce meses, dependiendo de la sintomatología. Si en el neonato hay signos de inflamación activa como coriorretinitis, ictericia y aumento de proteínas en el LCR , se agrega prednisona o metilprednisolona, hasta controlar la inflamación (73,118 ).

## PREVENCIÓN

Debido a que los mecanismos de transmisión de *Toxoplasma gondii* son múltiples, es difícil establecer medidas preventivas eficaces, sin embargo se recomiendan las siguientes:

1. Evitar el consumo de carne cruda. La cocción a temperaturas superiores a 66° C destruyen al parásito (171).
2. Aseo de las manos después de manipular carne cruda ( 50, 54, 171 ).
3. Eliminar las deyecciones de los gatos tan pronto como sean depositadas sobre el suelo (54 ).
4. Lavar adecuadamente frutas y verduras antes de su consumo ( 54, 171 ).
5. Hervir la leche y el agua antes de consumirla ( 10, 171 ).
6. Lavarse bien las manos y cepillarse la uñas después de trabajar en jardines ( 54 ).
7. Evitar que artrópodos como cucarachas, moscas y otros insectos coprófagos tengan acceso a alimentos, ya que pueden servir como transportadores de oocistas ( 53, 181 ).
8. No comer en restaurantes o lugares donde el procesamiento de alimentos sea dudoso y antihigiénico (133).
9. Las mujeres embarazadas, deberán evitar el contacto con gatos y sus crías ( 54 ).
10. En zonas endémicas los niños deberán evitar el contacto con terrarios ( 54, 133 ).
11. En caso de trasplante o transfusiones sanguíneas cerciorarse que el donador sea seronegativo a *T.gondii* ( 54, 79 ).
12. Propiciar que mediante un decreto de ley sean obligatorios los estudios serológicos prenupciales para toxoplasmosis, esto permitiría recomendar medidas preventivas en las mujeres seronegativas (2, 24, 90, 127, 128, 148 ).
13. Proponer un estudio de rutina para toxoplasmosis en los neonatos. La experiencias en otros países ha demostrado que se puede detectar la infección en estos niños a muy temprana edad, y con ello poder evitar el desarrollo del padecimiento (2, 14, 24, 79, 90, 113, 127, 148 ).
14. La sugerencia para la región del Valle Morelia-Quérendaro, principalmente para la zona de siembra por donde pasa el Río Grande, sería evitar regar las hortalizas con aguas negras.
15. Prestar servicio de educación , orientación y concientización a la comunidad del Valle Morelia-Quérendaro, así como a las autoridades médicas y sanitarias ( 113, 128 ).

## JUSTIFICACIÓN

Debido a que en el valle de Morelia-Queréndaro se presentan anomalías congénitas, como las macrocefalias, microcefalias, riñones poliquísticos, anomalías en el sistema nervioso, parálisis cerebral infantil con diferentes grados, meningoceles, calcificaciones intracraneanas, sordera, anomalías oculares como pérdida parcial de la visión, estrabismo y grados de coriorretinitis, además de frecuencia alta de abortos, mortinatos y fallecimiento de lactantes por causas no conocidas, es importante determinar la prevalencia de *Toxoplasma gondii* en estas comunidades.

Consideramos que es importante hacer estudios relacionados con la frecuencia con que puede presentarse la toxoplasmosis y determinar si este parásito es uno de los causantes de estas alteraciones, ya que las costumbres higiénicas, consumo de alimentos como carnes mal cocidas, agua y leche sin hervir, así como la estrecha convivencia con de gatos y otros animales dentro de la viviendas, apuntan a mayores probabilidades de transmisión del parásito.

Además el riego de hortalizas con aguas negras del Río Grande que recoge estas durante todo su trayecto por la Ciudad de Morelia y parte del valle hasta descargar en el lago de Cuitzeo, Ya que las condiciones climatológicas y los fuertes vientos durante todo el año pero que se acentúan en el inicio de la primavera y parte del verano, secan las márgenes del río levantándose grandes cantidades de polvo procedente de aguas negras y residuales al medio ambiente de la ciudad, este polvo contiene una gran cantidad de formas infectantes de diferentes microorganismo.

El desconocimiento de la presencia de *T. gondii* por parte de la población, hace que no se lleven a cabo medidas preventivas.

Las autoridades Médicas sospechan la existencia de esta parasitosis por la presencia de patología como abortos, mortinatos y anomalías congénitas, pero no se han llevado a cabo estudios epidemiológicos sistemáticos ni control de pacientes que presentan estas patología.



### OBJETIVO GENERAL

1. **CONOCER** la seroprevalencia a *Toxoplasma gondii* en mujeres parturientas y puerperas del valle de Morelia-Queréndaro, Michoacán.
2. **DETERMINAR** la presencia de factores protectores en el calostro y leche materna.
3. **CORRELACIONAR** los resultados obtenidos con encuestas epidemiológicas para determinar la responsabilidad de *Toxoplasma gondii* en los problemas de aborto, malformaciones, retraso mental, etc. observados en esta población.

### OBJETIVOS PARTICULARES

**DETERMINAR Y CUANTIFICAR** inmunoglobulinas del tipo IgG específicas contra *T. gondii* en suero de cordón umbilical y suero venoso de madres procedentes del valle Morelia-Queréndaro.

**CORRELACIONAR** la cantidad de anticuerpos específicos de tipo IgG contra *T. gondii* en suero de cordón umbilical y en suero venoso de las madres.

**DETERMINAR Y CUANTIFICAR** inmunoglobulinas del tipo de IgM específica contra *T. gondii* en suero de cordón umbilical y suero venoso de madres del valle de Morelia-Queréndaro.

**CUANTIFICAR** anticuerpos específicos contra *T. gondii* del tipo IgA en calostro y leche materna.

**DETECTAR Y CUANTIFICAR** la presencia de interleucina-2 (IL-2) en calostro y correlacionarla con los títulos de las tres diferente inmunoglobulinas y valorar la función de la IL-2 contra *T. gondii*.

**CORRELACIONAR** los patrones de los títulos de inmunoglobulinas específicas contra *T. gondii* en pacientes puerperas y de su neonato con sus antecedentes clínicos.

**CORRELACIONAR** la incidencia de seropositividad con los factores epidemiológico y aspectos clínicos de la paciente y el producto.

**REALIZAR** estudio socio-económico, epidemiológico y clínico de las pacientes involucradas en la investigación

**EVALUAR ESTADÍSTICAMENTE** los resultados en forma integral desde el punto de vista epidemiológico.

## METODOLOGÍA

### OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Se solicitó a 500 pacientes su colaboración y consentimiento oral para obtener los siguientes productos:

1. Toma de sangre de cordón umbilical, después del parto, en pacientes con parto normal, para la obtención del suero. El proceso se realizó en el sala de expulsión.
2. Obtención de 5 ml de sangre por punción venosa de cada una de las 500 pacientes involucradas en el estudio. El suero se separó en forma estéril, conservándose en congelación hasta ser procesada.
3. Obtención de calostro y leche materna de las pacientes participantes, el primero se colectó en el transcurso de su estancia en el hospital y la segunda en el domicilio de la paciente.
4. Realizar a cada paciente un cuestionario clínico y otro socio-epidemiológico.
5. Impartir a las madres una plática sobre la importancia de la lactancia materna, como una protección contra *Toxoplasma gondii* en las primeras etapas de vida de su bebé, y los cuidados durante el embarazo así como sobre la toxoplasmosis.

### NUMERO DE MUESTRAS OBTENIDAS

- 200 muestras de calostro.
- 200 muestras de leche materna.
- 500 muestras de suero de cordón umbilical.
- 500 muestras de suero venoso.

## MATERIAL

(Material para procesar las muestras de cada producto)

1. 500 tubos Wasserman estériles.
2. 200 tubos con rosca estériles.
3. 500 tubos de 16 x 150 mm.
4. 1000 tubos de 10 x 90 mm.
5. 1000 pipetas Pasteur.
6. Gradillas para 40 tubos.
7. Gradillas para 90 tubos.
8. 500 jeringas desechables.
9. Micropipeta de 1000 microlitros.
10. Micropipeta de 20 microlitros
11. 20 vasos de p.p. de 50 ml.
12. Matraces Erlenmeyer de 1000 ml.
13. Probeta de 100 ml.
14. Probeta de 250 ml.
15. 500 puntas de plástico de 100 ml.
16. 500 puntas de plástico de 1000 ml.
17. Marcador.
16. Rollo de papel extraza. 1000 gr.
17. Rollo de masking marcador de esterilidad.
18. Rollo de cinta masking.
19. Rollo de algodón. 500 gr.
20. Mechero Bunsen.
21. Cubre-boca.
22. Guantes desechables (500 Pzas).
23. Traje completo de quirófano.
24. Pinzas de cirujano..
25. Aplicadores de madera
26. Cuestionarios.
27. Parafim.

## EQUIPO

1. Refrigerador con congelador.
2. Reloj segundero.
- 3.- Congelador a -30°C..
4. Centrífuga.
5. Baño maría.
6. Lector de ELISA.
7. Autoclave.
8. Agitador magnético.
9. Potenciómetro.
10. Estufa incubadora 37 °C.

## ELISA TOXOPLASMA IgG.

### 1). Estuche de reactivos para la determinación de IgG por ELISA ( Clark )

11 estuches para determinar IgG anti-*T. gondii* en 1000 muestras.

Reactivos contenidos en los estuches.

- a). Antígenos de *T. gondii* contenidos en las microplacas.
- b). Sol. amortiguadora de lavado ( Tris-salino, detergente y conservador).
- c). Conjugado de peroxidasa con anti-IgG humana y conservador.
- d). Diluyentes de los sueros ( tris-amortiguador-salino / detergente ).
- e). Sol. amortiguadora para sustrato ( amortiguador de citrato con peróxido de hidrógeno).
- f). Cromógeno ( O-phenylenediamine dihydrochloride ).
- g). Sueros controles ( positivo, negativo y calibrador ).

### 2). PROCEDIMIENTO.

Todos reactivos y sueros deben estar a 21-25°C.

1. De cada uno de los sueros problema a trabajar, se hace una dilución de 1/20 con el diluyente de sueros. Lo mismo se hace con el suero positivo, el negativo y el calibrador.
2. Se colocan 100 ul de las diluciones de los sueros en las pozas.
3. La placa se incuba a temperatura ambiente durante 20 minutos.
4. La placa se lava 3 veces con sol. amortiguadora .
5. A todos las pozas se le adiciona 100 microlitros de conjugado.
6. La placa se incuban durante 20 minutos a temperatura ambiente.
7. Se repite el proceso de lavado como en el no. 4.
8. Cinco minutos antes de la incubación se prepara el sustrato, con la solución cromógena.
9. Se adicionan 100 microlitros de sol. sustrato/Cromógeno, incluyendo la celda blanco.
10. Se incubar por 10 minutos.
11. La reacción se detiene adicionando en cada poza 100 microlitros de una solución de H2SO4 1N.
12. Se deja reposar cinco minutos a temperatura ambiente.
13. Se lee en un lector de ELISA a 490 nm y 25° C.
14. Los resultados se expresan en unidades ISR (Immune Status Ratios), en unidades enzimáticas Clark (UEC), y finalmente en unidades internacionales (IU/ML). Su proceso se indica en la guía del estuche.

Todos los estuches tienen un factor numérico. Para este lote fue de 0.80,

El valor de la absorbancia ( A ) del calibrador multiplicado por el factor del lote nos dará el valor de corte = ( COV ) : Por lo tanto el ISR, las UEC y UI/ml de las muestras problemas se calculan así:

$$ISR = A \text{ de muestra problema} / COV \quad UEC = ISR \times 65 = Y \quad UI/ml = 0.8 \times Y = ( y + b)/a$$

Se consideran positivas las muestras que contienen > 12 UI /ml.

## ELISA TOXOPLASMA IGM.

### I). Estuche de reactivos para determinación de IgM por ELISA ( Clark).

22 estuches para determinar IgG anti- *T. gondii* en 1000 muestras.

Reactivos contenidos en los estuches.

- a). Antígeno de *T. gondii* contenido en las microplacas.
- b). Solución amortiguadora de lavado ( Tris con detergente y conservador).
- c). Conjugado de peroxidasa con anti-IgM humana y conservador.
- d). Diluyente de sueros ( Tris-sol. amortiguadora- salino/detergente ).
- e). Solución absorbente ( Inmunoglobulina anti-IgG anti-humana).
- f). Solución amortiguadora para sustrato ( sol. amortiguadora de citrato con peróxido de hidrógeno).
- g). Cromógeno ( O-phenylenediamine dihydrochloride).
- h). Sueros controles ( positivos, negativos y calibradores ).

### II). PROCEDIMIENTO.

- 1.- En una serie de tubos diluir las muestras y los controles 1:40. los controles se hacen por duplicado.
2. Mezclar 150 microlitros de cada dilución de las muestras de pacientes con 150 microlitros de sol. absorbente.
3. Incubar a temperatura ambiente por 20 minutos.
4. Adicionar 100 microlitros de las muestras absorbidas de pacientes y de los controles en las pozas que contienen el antígeno, cubrir la placa con la película de plástico adherible e incubar 20 minutos a temperatura ambiente.
2. Lavar la placa tres veces con solución amortiguadora, invertir la placa y secudirla sobre un papel absorbente.
3. Adicionar a cada poza 100 microlitros de conjugado e incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Lavar la placa tres veces , llenar y decantar con amortiguador, invertir la placa y secudir sobre papel absorbente.
- 5.- Agregar el cromógeno a la solución del sustrato.
- 6.- Añadir 100 microlitros de sustrato e incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
- 7.- Detener la reacción con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N.
- 8.- Realizar la lectura en un lector de ELISA a 490 nm.
- 9.- Cálculos de los resultados. Los de ISR, UEC y UI/ml. se realizan de la misma manera que para la IgG, se consideran positivas con > 8 UI/ ml de IgM.

El proceso de los cálculos los indican la guía de estuche para IgM.

## ELISA TOXOPLASMA IgA

### I. Estuche de reactivos para la determinación de IgA por ELISA ( CLark / Sigma\* )

5 estuches para determinar IgA en 400 muestras de calostro y leche materna.

Reactivos contenidos en los estuches.

- a). Antígeno de *T. gondii* contenidos en las microplacas.
- b). Sol. diluyente de calostro ( tris- Sol amortiguadora -salino/ conservador).
- c). Sol. amortiguadora de lavado ( tris-salino, detergente y conservador).
- d). Conjugado de fosfatasa alcalina con Anti-IgA humana ( cadena alfa-específica )\*/ sol. 0.05M.Tris.
- e). Cromógeno ( Sol. MgCl 0.02 % / Ditanolamina 10.5%)
- f). Sol. amortiguadora para sustrato ( paranitrofenil fosfato PNPP ).
- g). Sueros y calostros controles ( positivos, negativos y calibrador )

### II). PROCEDIMIENTO.

1. En tubos de ensaye diluir muestras y controles 1/20 (10 ml de calostro ó leche en 200 ml de diluyente,
2. Incubar todas las muestras a temperatura ambiente por 20 minutos.
3. Adicionar 100 microlitros de dilución de calostro ó leche en las pozas que contienen el antígeno, ( los controles se hacen por duplicado), cubrir la placa con la bolsa de plástico adherible, incubar 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Lavar la placa tres veces, llenar y decantar con sol. amortiguadora invirtiendo la placa y sacudiéndola sobre un papel absorbente.
5. Adicionar a cada poza 100 microlitros de conjugado e incubar 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Lavar la placa tres veces con amortiguador , invertirla y sacudirla sobre papel absorbente.
7. Agregar el cromógeno a la solución del sustrato.
8. Añadir 100 microlitros de sustrato/ cromógeno e incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
9. Detener la reacción con fosfato de potasio tribásico. 1.0 M. pH 12.\*
10. Realizar la lectura en un lector o espectrofotómetro computarizado a 405 nm.
11. Los resultados se expresan en ISR, UEC y UI/ml. se realizan de la misma manera que para las IgG.
12. Se consideran positivas las muestra que contienen > 12 UI /ml. de IgA.

## EIA INTERLEUCINA-2

### 1). Estuche para la determinación de IL-2 por EIA ( Biokine ).

2 estuches para determinar interleucina-2 en 130 muestra de calostro.

Reactivos que constituyen el estuche.

- a). Anticuerpos (ac) anti-IL-2 ( ac. murino monoclonal anti IL-2 ).
- b). Conjugado de anticuerpo anti-IgG de ratón producida en cabra con peroxidasa.
- c). Diluyente del calostro( Tris sol. amortiguadora , timerosal y gentamicina ).
- d). Interleucina-2 natural ( IL-2 ) control en sol. amortiguadora, Timerosal y gentamicina).
- e). Sol. amortiguadora de lavado ( sol. salina con tris, detergente, timerosal y gentamicina ).
- f). Sustrato concentrado ( 3,3', 5,5' tetrametil bendidina en sol. amortiguadora )
- g). Placas de polietileno con 96 pozas con ac anti-interleucina-2 ( Ac-IL-2 ).
- h). Interleucina-2 (IL-2) estándar ( IL-2 humana recombinante ).
- i). Solución amortiguadora con suero bovino y timerosal como diluyente.

### 2). PROCEDIMIENTO.

1. Reconstituir todos los reactivos en sus respectivos frascos.
2. Determinar el número de celdas que se usarán, separar los controles positivos negativos y calibradores.
3. Agregar 100 microlitros de suero control estandar, interleucina-2 estandar ó muestras en las pozas.
4. Cubrir con la tapa de plástico e incubar a 37 C. por 60 min. .
5. Aspirar la solución de las celdas y lavar cuatro veces con sol. amortiguadora de lavado. secar.
6. Agregar 100 microlitros de anticuerpos anti-Interleucina -2 a cada celda.
7. Cubrir la placa con una cubierta adhesiva e incubar a 37°C durante 60 min.
8. Aspirar la solución de las celdas y lavar cuatro veces con solución amortiguadora de lavado, secar.
9. Añadir 100 microlitros de ac- anti-Imunoglobulina de ratón-conjugado peroxidasa, en todas las pozas menos en los blancos
10. Cubrir con plástico adherente e incubar a 37°C durante 30 min ( preparar el sustrato Cromógeno con 10 min antes )
11. Aspirar el sobrenadante y lavar cuatro veces, sacudir bien la placa para no dejar residuos.
12. Agregar a cada celda 100 microlitros de TMB-sustrato, incluyendo las celdas de los blancos. Cubrir la placa por 15 min a temperatura ambiente.
13. Parar la reacción con 100 microlitros de solución ( H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N) en cada poza..
14. Leer la absorbancia en un lector de ELISA a 450 nm.
15. Los resultados se expresan en picogramos (pg/ml) o en Unidades Internacionales (UI/ml).Estos valores se obtienen por interpolación gráfica en una curva construida con los valores obtenidos con los estandares.

**RESULTADOS DEL ESTUDIO SEROLOGICO COMPARATIVO CON ELISA EN 90 SUEROS PARA DETERMINAR IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* CON TRES DIFERENTES MARCAS DE EQUIPO DE DIAGNOSTICO.**

Se utilizaron tres equipos de diagnóstico para toxoplasmosis, empleados en Instituciones de salud pública y privada, como son CLARK/ENCORE ELISA KITS ( E1), TOXONOSTIKA ORGANON TECNICA ELISA (E2) Y BEHRING ELISA/ENZYGNOS\* TOXOPLASMOISIS. (E3). Estas tres marcas emplean reactivos similares, como son antígenos, enzimas, sustratos, así como buffers y diluyentes. por lo que se usaron como parametros de comparación con el equipo de diagnóstico empleados en este trabajo.

Se tomaron 90 sueros de sangre venosa al azar, de las mismas pacientes en estudio, y se les realizó la prueba de ELISA, los resultados fueron casi similares en cuanto a la seropositividad, (E1) mostró una prevalencia del 75.6%, ( E2) de 74.4% y finalmente (E3) de 76.6% (Cuadro I EC )

Las normas de medición de la seropositividad se ajustaron a (WHO).WORLD HEALTH ORGANIZATION STANDARDS. Así como también para la conversión a UI/ml de suero por lo que los sueros con un ISR (INMUNE STATUS RADIO) mayor de 1.1 es positivo y corresponde a una equivalencia a través de la ecuación de la recta a 12 UI/ml en suero venoso.

**CUADRO I EC**

**RESULTADO SEROLOGICO COMPARATIVO CON ELISA EN 90 SUEROS PARA DETERMINAR IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*. EN TRES DIFERENTES MARCAS DE EQUIPO DE DIAGNOSTICO.**

SUERO	EQUIPO E1		EQUIPO E2		EQUIPO E3	
	Número	Prevalencia (%)	Número	Prevalencia (%)	Número	prevalencia (%)
POSITIVO	68	75.6	67	74.4	69	76.6
NEGATIVO	22	24.4	23	25.6	21	23.4
TOTAL	90	100.0	90	100.0	90	100.0

Cabe mencionar que el E1 fué el equipo empleado, durante la investigación.

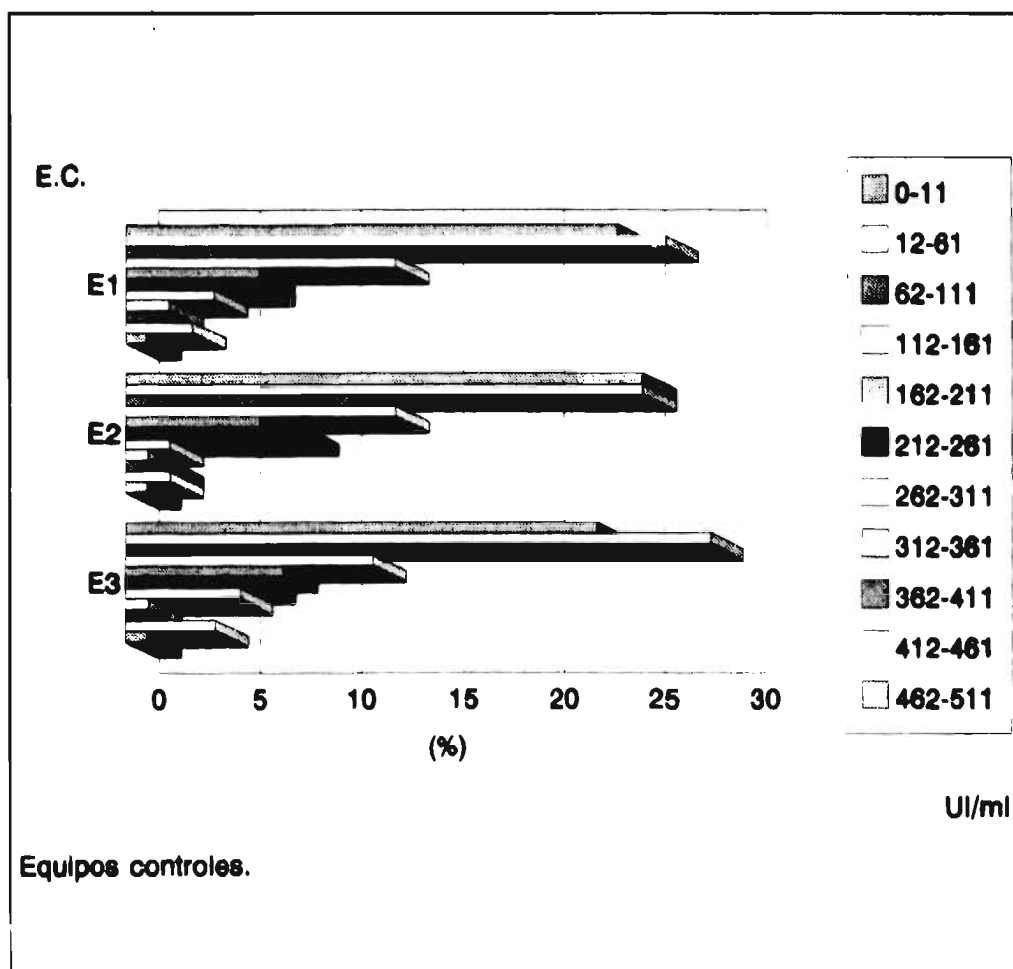
En relación a los título en UI/ml, los sueros positivos se dividieron en 10 números de clases con un rango de 49UI/ml. haciendo notar que los títulos de los tres primeros números de clase se semejan ligeramente los tres equipos. El número clase 1 concentra la mayor cantidad de sueros, con una prevalencia del 26.7 % en



E1, el 25.6% E2 , con el 28.9 para E3. Para el número de clase 2 la prevalencia es del 10% en E1, 11.1% en E2 , el 7.8 % para E3. La prevalencia en este número de clase 3 es similar en E1 y E2 con el 13.3% y menor en E3 con el 12.2%. Conforme avanzan presentan un ligero distanciamiento en las prevalencia principalmente con E3. Es importante mencionar que el E3, fué más sensible con respecto a E1 y E2 principalmente en los títulos altos. Sin embargo los tres equipos mostraron una equivalencia similar, lo que da una confiabilidad de 98% del equipo de diagnóstico utilizado en este trabajo ( figura 1 EC).

FIGURA 1 EC

DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN 90 SUEROS VENOSOS Y SU COMPARACION EN TRES EQUIPOS DE DIAGNOSTICO.



**DETERMINACION DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*: EN 100 SUEROS CONTROLES POSITIVOS Y 100 NEGATIVOS MEDIANTE CLARK ENCORE ELISA.**

El objetivo de este estudio control de 100 sueros positivos y 100 negativos, específicos para IgG contra *T. gondii* fué determinar la CONFIABILIDAD del equipo de diagnóstico utilizado en este trabajo, con mujeres del valle de Morelia-Queréndaro. Se probaron 100 sueros por ELISA para *T. gondii* procedentes de pacientes atendidos en tres laboratorios particulares y dos institucionales como el IMSS y SSA del Estado de Michoacán.

Al hacer las determinaciones 5 sueros resultaron positivos con títulos muy bajos ( en el límite de las 18 UI/ML) correspondiendo al 5% de prevalencia, los 95 sueros restantes fueron negativos; los valores presentaron un mínimo de 2.384 y un máximo de 18.324 UI/ML (cuadro y figura C1 ).

CUADRO C1

**RESULTADO DEL CONTROL DE CONFIABILIDAD DEL ESTUDIO DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE ELISA EN 100 SUEROS NEGATIVOS.**

SUERO	NUMERO	PREVALENCIA (%)
POSITIVO	5.0	5.0
NEGATIVO	95.0	95.0
TOTAL	100.0	100.0

Los 100 sueros positivos, se lograron obtener en el transcurso de seis meses recurriéndose incluso a estados vecinos ( Estado de México, Guanajuato, Jalisco y Querétaro). El 90% de los sueros provinieron de laboratorios particulares y el 10% restante de laboratorios públicos como IMSS y SSA. El criterio a seguir fué que todos presentaran positividad con cualquier técnica de inmunodiagnóstico. Lo importante es señalar que con ELISA-CLARK, los 100 sueros fueron positivos ( cuadro C2 y figura C1 ).

CUADRO C2

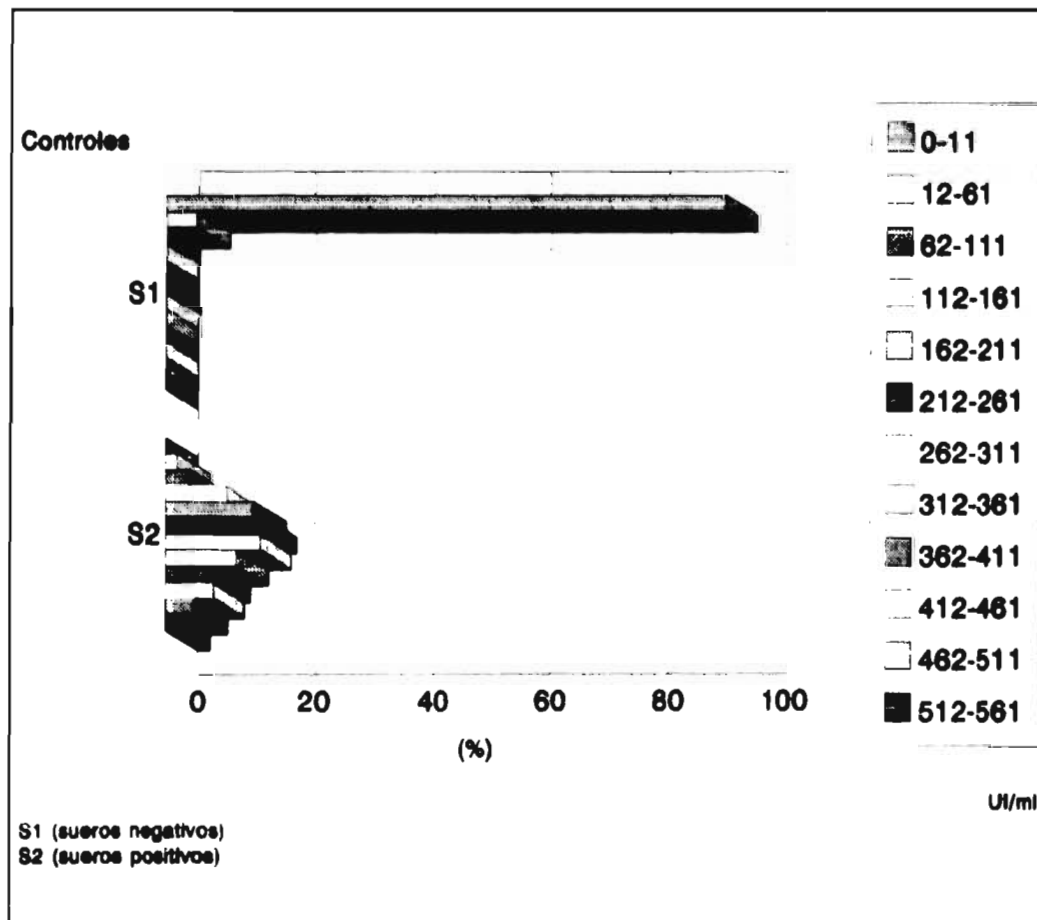
**RESULTADO DEL CONTROL DE CONFIABILIDAD DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE ELISA EN 100 SUEROS POSITIVOS.**

SUERO	NUMERO	PREVALENCIA (%)
POSITIVOS	100.0	100.0
NEGATIVOS	0.0	0.0
TOTAL	100.0	100.0

El título mínimo fué de 48.980 UI/ml y el Máximo 542.950 UI/ml. Para el análisis de prevalencia y abundancia de UI/ml, se distribuyeron en 11 números de clase con un rango de 49 UI/mL, encontrándose el mayor número de sueros en la clase 5 y 6 con 18% cada uno, en la 7 con 13% y va disminuyendo con un mínimo del 2% se observó en la clase 11, el comportamiento de la figura de los sueros positivos es una campana de Gauss ( Figura C1).

FIGURA C1

DISTRIBUCION COMPARATIVA DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgG CONTRA *Tamplasma gondii* EN 100 SUEROS NEGATIVOS Y 100 SUEROS POSITIVOS CONTROLES.



## RESULTADOS

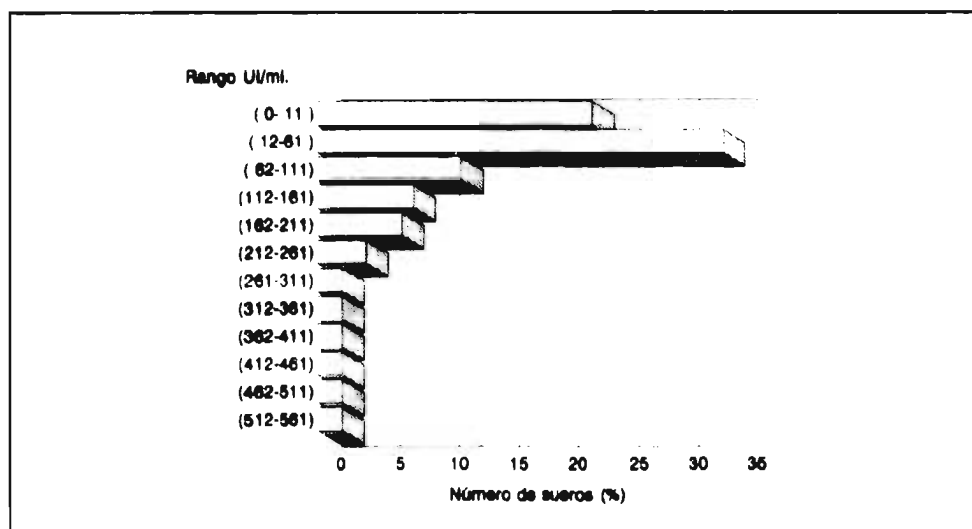
### DETERMINACIÓN DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE ELISA EN 500 SUEROS DE SANGRE VENOSA DE MUJERES PUERPERAS DEL VALLE MORELIA -QUERENDARO.

Resultaron seropositivas 386 pacientes ( 77%) seronegativas 114 ( 23%) (cuadro 1 A). Los títulos de los 386 sueros positivos presentaron un mínimo de 12 UI/ml y un máximo de 560 UI/ml por lo que se dividieron en 11 grupos para su análisis estadístico, con intervalo de 49 Unidades a partir de 12 UI/ml. La mayoría de las pacientes (170) con prevalencia del 44% presentaron títulos bajos, y se colocaron en el grupo con rango de título de 12-61 UI/ml. El segundo número de clase con ( 62-111 UI/ml ) agrupó 61 paciente (16%). El tercer número de clase con 39 personas y títulos de 112-161 UI/ml que correspondió a un 10%. El cuarto número de clase ( 162-211 UI/ml ) con 37 pacientes con el 10%. El quinto grupo ( 212-261 UI/ml ) con 22 pacientes e incidencia del 6% y los seis números de clase restantes ( 262-561 UI/ml ) que contenían de 8-11 pacientes cada uno con una prevalencia del 2 % ( figura 1A)

**CUADRO 1A**  
**PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN LA SANGRE VENOSA DE 500 MUJERES PUERPERAS DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO**

SUEROS	NUMERO	PREVALENCIA ( % )
POSITIVO	386	77.0
NEGATIVO	114	23.0
TOTAL	500	100.0

**FIGURA 1A**  
**DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgG CONTRA *Toxoplasma gondii* EN SUEROS DE 500 MUJERES PUERPERAS DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.**



Se estudió una posible correlación entre la tasa de seropositividad y factores epidemiológicos, como la zona de procedencia, edad, títulos, presencia de féidos y otros animales, hábitos alimenticios, higiénicos y antecedentes de abortos y otras modalidades.

Las pacientes se agruparon según su procedencia en tres grupos: Grupo 1 ( Urbana ) constituida por 167 pacientes provenientes de la ciudad de Morelia. Grupo 2, formado por 154 pacientes que vivían en 7 poblados ó ciudades pequeñas; grupo 3 ( Rural) constituida por 179 pacientes que vivían en rancherías o pequeñas granjas. En el ( cuadro 1B ) se puede observar que la tasa de seropositividad más alta ( 87% ) se encontró en mujeres procedentes de la zona rural. Siguen las pacientes de la zona urbana con ( 76% ) y las de provincia con el ( 68% ).

CUADRO 1B  
RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* DE LA CLASE IgG Y LA ZONA DE PROCEDENCIA DE 500 MUJERES PUERPERAS DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

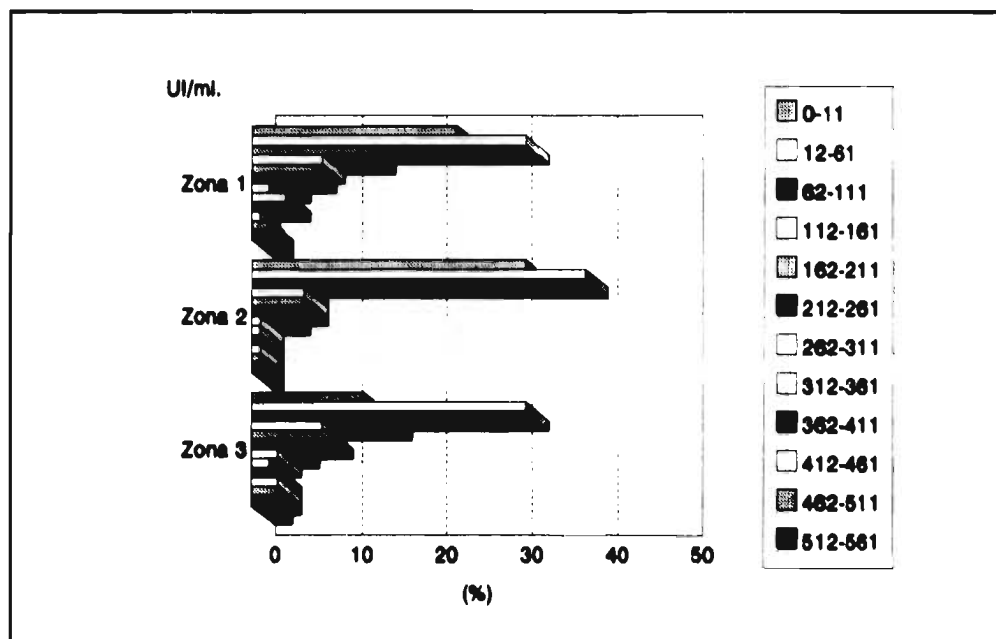
GRUPO	ZONA DE PROCEDENCIA	No. DE MUJERES ESTUDIADAS	No. DE SUEROS POSITIVOS ( % )	
1	URBANA	167	127	76
2	PROVINCIA	154	104	68
3	RURAL	179	155	87
TOTAL		500	386	77

De acuerdo a la distribución de los títulos de los anticuerpos IgG y la zona de procedencia, se observa en la ( figura 1B ) que en la zona 2 los títulos de 12-61 UI/ml, es mayor con una prevalencia del 40%, menor para la zona urbana 32% y la zona rural con el 31%. A partir del número de clase 3 al 11 siempre muestra una diferencia en la prevalencia entre la zona 2, las zonas 1 y 3 son mas semejantes.

De acuerdo al análisis estadístico de Margolis (1982) cuyos parametros medibles son (prevalencia, abundancia e intesidad promedio ) se caracteriza la infección. La zona 2 presenta menor indice de infección, pero en cambio la zona 1 y 3 en comparación con la prevalencia, presentan mayor infección, esto significa mayor contacto y dosis con las formas infectantes, por lo que la abundancia (A) y la intesidad promedio (IP) lo corrobora , La zona 2 presenta ( A=11663 e IP=106 UI/ml) menor que la zona 1 donde ( A= 13865 e IP= 112 UI/ml ) la zona de valores más alta es la rural con ( A= 24512.7 e IP=158)

FIGURA 1B

DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN SUEROS 500 DE MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO



Con respecto a la relación entre la edad y la tasa de seropositividad, se dividieron las pacientes en cuatro grupos etarios. El grupo 1 (13-21 años) con 130 pacientes presentó una tasa de seropositividad del 46%, el grupo 2 (22-30 años) con 192 personas, con el 84%, el grupo 3 (31-39 años) con 136 pacientes y del 90%. El grupo 4 (40-50 años), con 42 pacientes del 96%. Se puede observar claramente en el cuadro 1C que la tasa de seropositividad aumenta con la edad. Pasa de 46% en el grupo más joven 96%.

CUADRO 1C

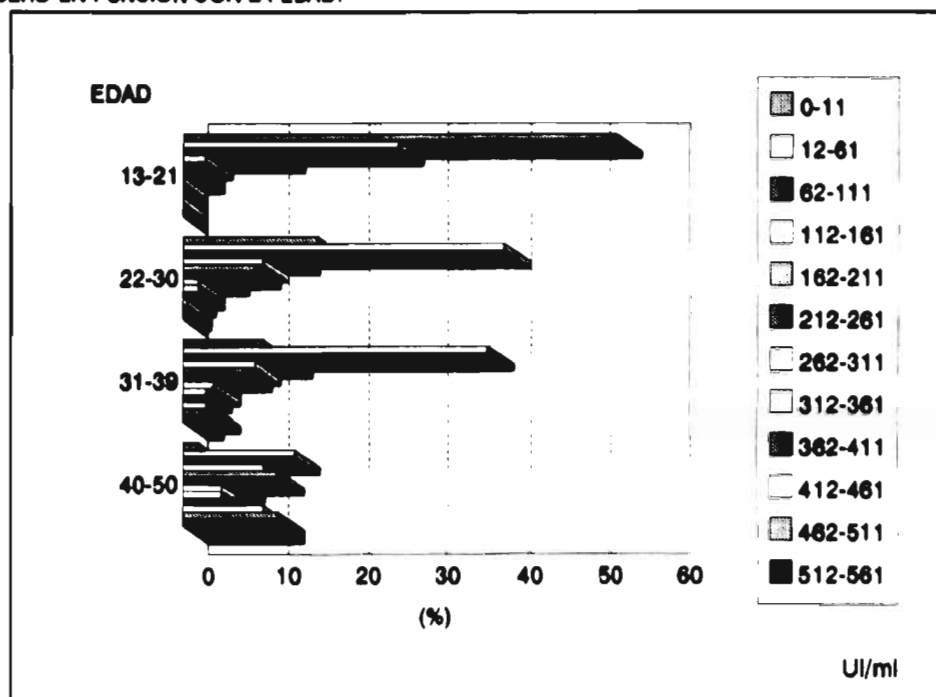
TASA DE SEROPOSITIVIDAD ( PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN FUNCION DE LA EDAD, EN 500 MUJERES PUERPERAS DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO

GRUPO	EDAD	No. DE MUJERES ESTUDIADAS	No. DE SUEROS POSITIVOS	PREVALENCIA (%)
1	13-21	130	60	46
2	22-30	192	162	84
3	31-39	136	123	90
4	40-50	42	41	96
TOTAL		500	386	77

Comparando los cuatro grupos de acuerdo a la distribución de los títulos de anticuerpos en UI/ml, se observa que el grupo 1, se distribuyen en los número clase del 1 al 5 y su máxima concentración es en 1 a 2 donde se concentran los títulos ( 1-11 y 12-61 UI/ml ) con una prevalencia 81%, y una abundancia e intensidad promedio de ( A=3357.5 e IP= 55.0 UI/ml ), en comparación del grupo 4 cuya distribución se presenta en forma constante en los 12 números de clase y en el 1 y 2 solo presenta el 14% y su abundancia es de ( A= 12426.7, IP= 303.3 UI/ml ), que indica que este grupo presenta mayor índice de infección. Para el grupo 2 y 3 la distribución principal se da en el el número de clase 1 y 2 que representa para el grupo 2 una prevalencia de 57% y 46% para el grupo 3, las siguientes distribución hacia el número de clase 12 es ligeramente mayor en el grupo 3 comparado con el grupo 2, así como su abundancia e intensidad promedio son; ( A= 14614, IP=93.17 UI/ml ) para el grupo 2 y ( A= 17203.1 y IP= 142.2 UI/ml ) para el grupo 3 ( figura 1C)

FIGURA 1C

DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgG CONTRA *Toxoplasma gondii* EN SUERO EN FUNCION CON LA EDAD.



Aplicando los parámetros epidemiológicos de José MV (1992), el grupos más susceptibles para adquirir la infección son 1 y 2, menor para el grupo 3, pero con mayores probabilidades de adquirir la enfermedad así como el grupo 4. De acuerdo a la distribución de los grupos etarios y su seropositividad se observa una distribución en la curva tipo Gauss ( figuras 1Ca , 1Cb ), este comportamiento indica que ésta zona es endémica /epidémica y que la infección se adquiere por exposición y es común en las zoonosis.

FIGURA 1Ca

DISTRIBUCION DE LAS EDADES DE LOS GRUPOS ETARIOS Y LA SUCEPTIBILIDAD DE ADQUIRIR LA INFECCION POR *Toxoplasma gondii*.

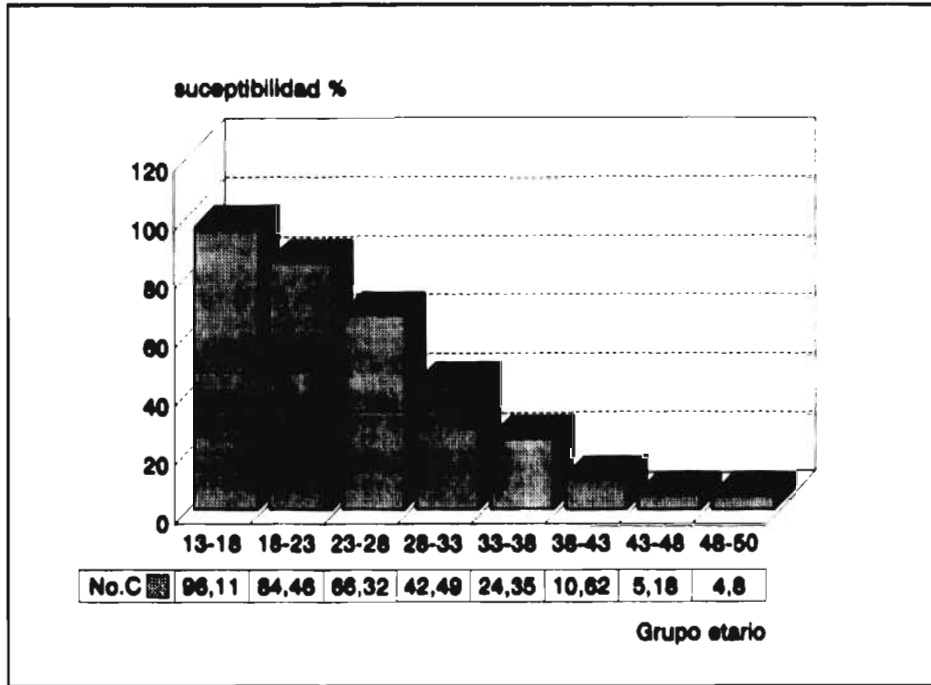
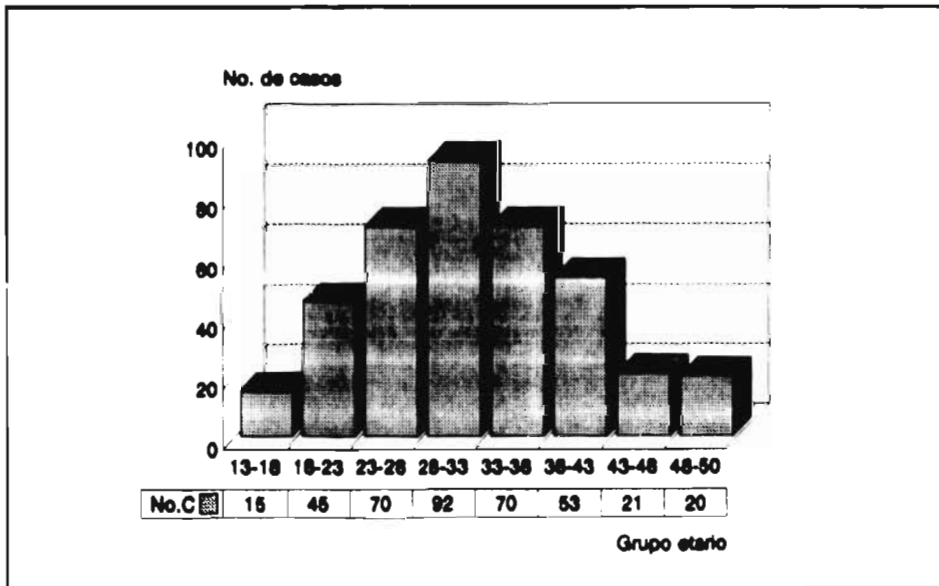


FIGURA 1Cb

DISTRIBUCION DE LOS GRUPOS ETARIOS EN RELACION A LA SEROPOSITIVIDAD A *Toxoplasma gondii*.



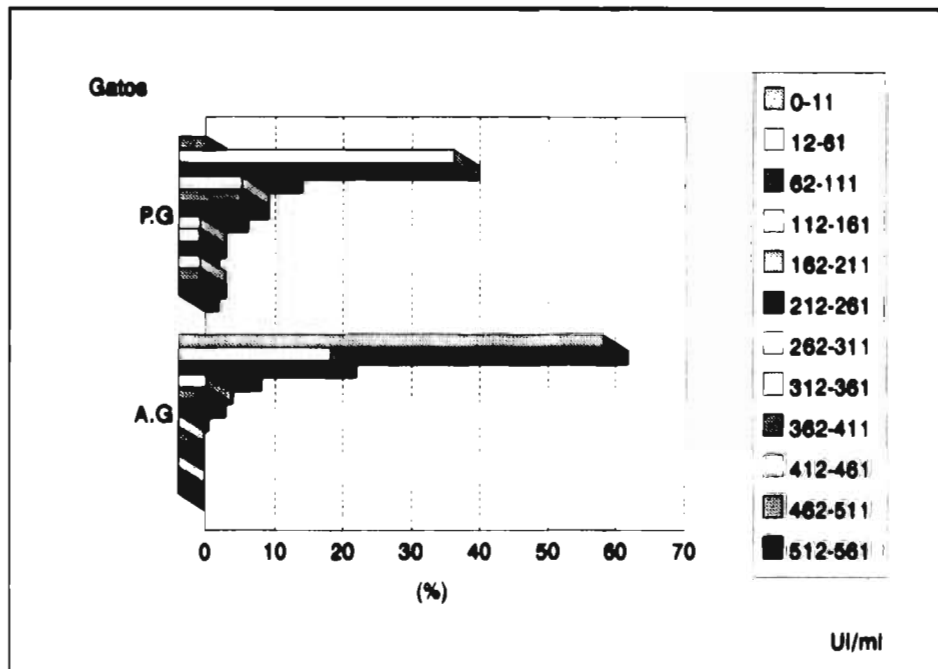


El tercer factor de riesgo examinado fue la convivencia con animales, en particular con el gato (cuadro 1D). De las 341 mujeres que conviven con animales 326 ( 95.6%) tienen anticuerpos mientras que las 159 mujeres que no tienen contacto permanente con animales, solo 60 ( 37.7% ) son seropositivas. La tasa de seropositividad es de 95.6% en mujeres que conviven con animales y se reduce al 37.7% en las mujeres que no tienen contacto permanente con animales.

CUADRO 1D  
RELACION EPIDEMIOLOGICA ENTRE LA CONVIVENCIA CON FELIDOS Y OTROS ANIMALES Y LA PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN EL SUERO DE 500 MUJERES PUERPERAS PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

		CONVIVENCIA CON ANIMALES		TOTAL
		+	-	
Presencia de IgG específica contra <i>T. gondii</i> .	+	326	60	386
	-	15	99	114
TOTAL		341	159	500

FIGURA 1D  
DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgG ESPECIFICA ANTI-*Toxoplasma gondii* EN SUERO DE 500 MUJERES PUERPERAS EN FUNCION DE LA CONVIVENCIA DE ANIMALES.



Las distribuciones de los títulos de IgG específica contra *T.gondii* en la figura 1D, con respecto a la convivencia de las mujeres y los gatos domésticos se hace patente en la gráfica P.G, comparada con la gráfica A.G. Se observa que las paciente que se encuentran en los números de clase de mayor abundancia de anticuerpos que es partir de 6 al 12 número de clase todas poseen más de un gato y conviven con otros animales. Lo contrario a las pacientes que no poseen gatos presentan una seroprevalencia y abundancia baja.

La relación de seropositividad con los hábitos higiénicos y alimenticios, es importante considerarla, ya que esta región no cuenta con los servicios higiénicos sanitarios completos por razones socio-políticas.

De las 500 pacientes, 352 solamente poseen agua potable, y 135 (35%) de las seropositivas no tienen este servicio, con el agravante de que el agua no siempre la hierven, en este caso el 56% que poseen este servicio no tienen este hábito higiénico. Y en la ciudad de Morelia el agua potable no cumple con las normas de potabilización, además de que no es constante su aprovisionamiento ( cuadro 1E ). En las zonas de provincia y rural no hierven el agua para beber pero utilizan filtros de cantera para su potabilización en un 62%, que la hace de mejor calidad.

CUADRO 1E

RELACION EPIDEMIOLOGICA ENTRE LOS HABITOS HIGIENICOS ( AGUA ) Y LA PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*. EN MUJERES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

	Servicio de agua potable		TOTAL	Hervir el agua		TOTAL	
	+	-		+	-		
Presencia de IgG específica contra <i>T.gondii</i>	+	251	135	386	102	149	251
	-	101	13	114	97	7	101
TOTAL		352	148	500	198	156	352

Una de las formas de adquirir la toxoplasmosis es la ingestión de carne cruda o mal cocida así como el manejo de esta sin precauciones higiénicas, como el lavado de manos después de manipularla para su venta o para la preparación de alimentos, los tipos de carne que se manejan en el valle de Morelia - Queréndaro son por orden de frecuencia; cerdo, bovino, aves, caprino, ovino y rana. Algunas formas de carne de consumo mal cocida son, hamburguesas, chorizos, longaniza, bistec adobado, carnes de pollo, cabra, cerdo y de res al carbón o al pastor.

El consumo de estos alimentos varia de acuerdo a las condiciones económicas de las paciente y de la zona de procedencia. De las 500 mujeres estudiadas, 339 consumían carne (68%), 304 de las cuales fueron seropositivas no la cuecen sino que la guisan directamente sin modificar su grosor, este hábito es mas frecuente en la zoma urbana y en la zona rural que en la de provincia, el consumo promedio por semana en la zona uno es de 4 días, en la provincia es de 3 días, y en la rural es de dos días, sin embargo el 81% de estas últimas no cuecen las carnes rojas, sino que las guisan directamente, y se consume el día que sacrifican a estos animales ( cuadro H).

CUADRO 1 H

RELACIÓN EPIDEMIOLOGICA ENTRE EL CONSUMO DE CARNE , HÁBITOS HIGIÉNICOS AL CONSUMIRSE Y LA PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN EL SUERO DE 500 MUJERES PUERPERAS DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

CONSUMO DE CARNE							
	Consumo general			Carne mal cocida.		TOTAL	
		+	-	TOTAL	+		-
Presencia de IgG especifica a <i>T.gondii</i>	+	304	82	386	148	156	304
	-	35	79	114	31	4	35
TOTAL		339	181	500	119	160	339

Con respecto al manejo de carne cruda segundo del hábito de lavarse las manos, de las 386 personas seropositivas, 270 de ellas que representa el 66% mencionan que este detalle tan importante no lo toman en cuenta, y el 9% de ellas están involucradas en la venta de carne cruda y alimentos de carnes rojas al público. Es de hacer notar que estas últimas pacientes presentan títulos altos en un 95% y antecedentes clínicos de toxoplasmosis, además de uno o varios abortos ( cuadro 1F).

El hábito de lavado de manos después de manejo de tierra, durante la limpieza de casa, el traspatio, el jardín o la granja, es otro dato importante de tomarse en cuenta, de las 386 personas seropositivas, el 66% (254), no realizan esta costumbre, principalmente cuando van a procesar alimento de consumo para la familia o para su venta. Cabe hacer notar que desconocer que ciertos invertebrados pueden ser vectores de transmisión de formas infectantes para adquirir la infección ( cuadro 1F).

CUADRO 1F

RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN SUEROS DE 500 PACIENTES PUERPERAS PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO Y SUS HÁBITOS HIGIÉNICOS ( COSTUMBRES).

LAVADO DE MANOS DESPUÉS DE MANEJO DE							
	Carné cruda		TOTAL	Tierra de jardín ú otros.		TOTAL	
	+	-		+	-		
Presencia de IgG específica contra <i>T. gondii</i>	+	115	270	386	132	252	386
	-	75	39	114	81	33	114
TOTAL		191	309	500	213	287	500

La toxoplasmosis puede causar abortos principalmente en el primer trimestre de gestación, 230 de las 500 pacientes estudiadas presentaron antecedentes de uno o varios abortos. De las 386 seropositivas, 208, que corresponden al 54% presentaron antecedentes de uno o varios abortos, sin embargo el número puede aumentar ya que algunas pacientes mencionan el retraso de la menstruación con sangrado abundante y con malestar específico que sugiere aborto muy prematuro ( cuadro 1G )

CUADRO 1G

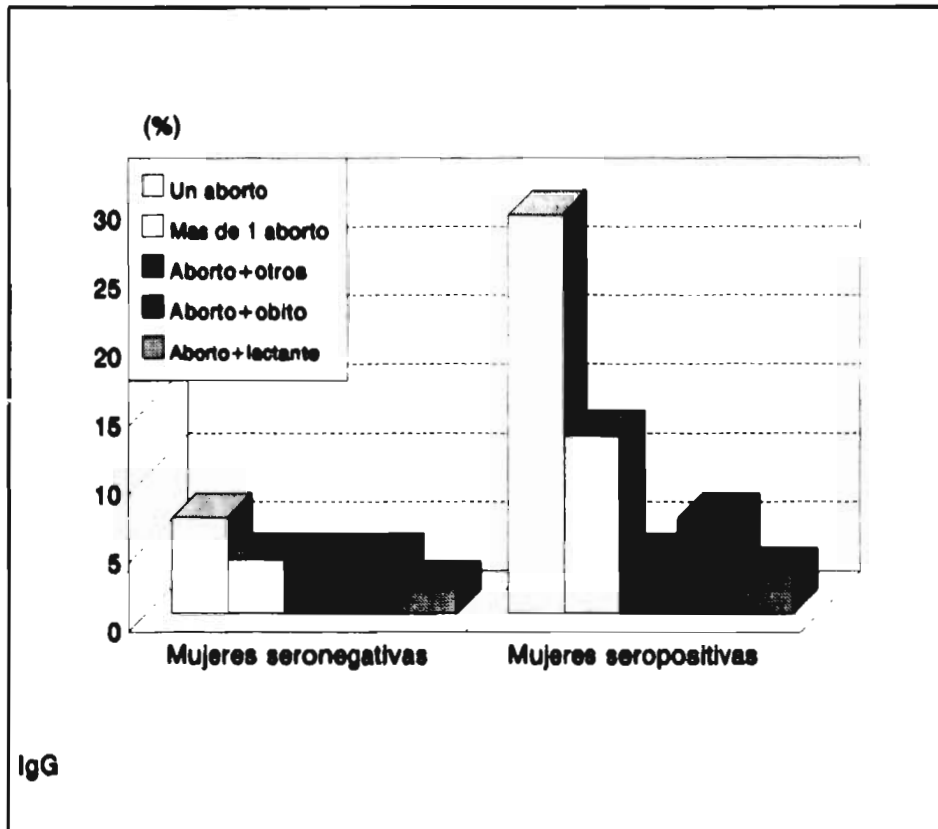
RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* Y LA PRESENCIA DE ABORTOS EN 500 MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

	PRESENCIA DE ABORTOS		TOTAL	
	+	-		
Presencia de IgG específica contra <i>T. gondii</i>	+	208	178	386
	-	22	92	114
TOTAL		230	270	500

De las personas con antecedentes de aborto, que constituyen el 46% de las 500 personas en estudio, 121 (53 %) presenta un aborto, de las cuales 113 fueron seropositivas a *Toxoplasma gondii*, 49 ( 23%) de ellas con más de un aborto, 22 con aborto y obito, y por último 12 ( 5%) presentaron aborto más muerte de lactante ( figura 1E). Las que presentaron las últimas dos modalidades, fueron paciente con antecedentes clínicos que sugiere que posiblemente se reactivó ó desarrolló toxoplasmosis. Esta paciente se quedaron de 5 a 8 días en el hospital después de su parto, por su difícil su recuperación.

FIGURA 1E

ABORTO Y OTRAS MODALIDADES EN MUJERES SEROPOSITIVAS ( N= 388) Y NEGATIVAS ( N=114) PARA *Toxoplasma gondii*.



IgG

DETERMINACIÓN DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE ELISA EN 500 SUEROS DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL EN MUJERES PROCEDENTES DE VALLE MORELIA-QUERÉNDARO.

De los 500 sueros de sangre de cordón umbilical, estudiados por ELISA, para determinar IgG específica contra *Toxoplasma gondii*. 368 (73.6%) fueron positivos con títulos que van de 12 UI/ml a 469.200 UI/ML. ( cuadro 2A ).

CUADRO 2A

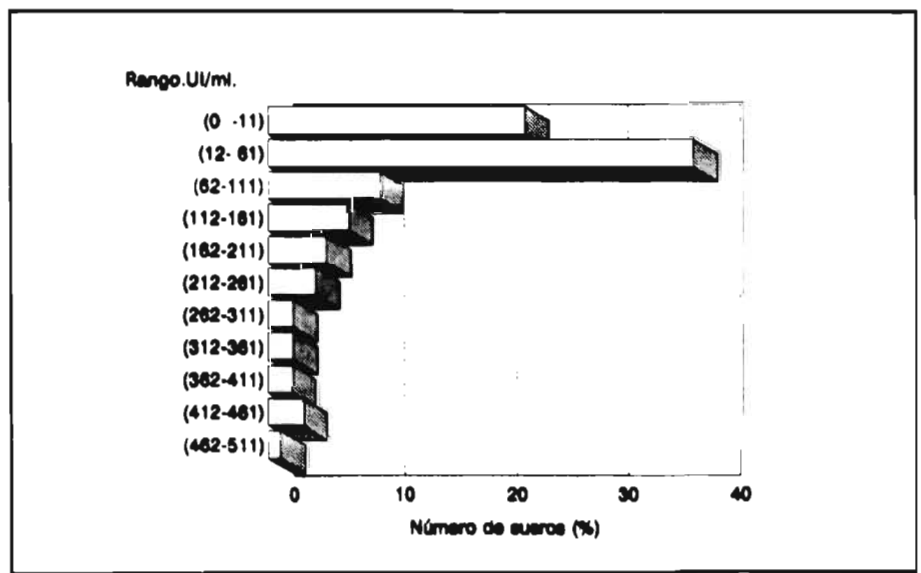
PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN LA SANGRE DE CORDON UMBILICAL EN 500 MUJERES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

SUEROS	NUMERO	PREVALENCIA ( % )
POSITIVOS	368	77.0
NEGATIVOS	132	23.0
TOTAL	500	100.0

Los diferentes títulos de seropositividad se dividieron en 10 números de clase con intervalo de 49 UI/ml. para la comparación estadística entre los sueros de sangre venosa y los sueros de sangre de cordón umbilical. El primer número de clase al igual que en suero venoso se inicia con 12-61 UI/ml. con 191 paciente, constituyendo el 52%, a diferencia de suero del sangre venosa que es del 44%. así conforme aumenta el título de unidades de IgG la incidencia del número de sueros disminuye (figura 2 A).

FIGURA 2A

DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgG CONTRA *Toxoplasma gondii* EN EL SUERO DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL DE 500 MUJERES PARTURIENTAS.



La correlación BINOMIO MADRE-HIJO. Fue del 96.4% y en lo referente a los títulos en UI/ML de suero varia, esto se observa cuando se dividen los títulos en los diferente números de clase, sin embargo presenta equivalencia, esta variación se debe a un aspecto importante reportado por varios autores ( 23, 29 143, 199). referente a que no todos los tipos de IgG pasan la barrera placentaria.

Se corroboró la equivalencia y significancia entre ambas determinaciones mediante la prueba de T student, donde  $P=0.05$ .

Existe una ligera diferencia entre los parametros estadísticos entre ambas determinaciones, presenta una Intesidad Promedio ( IP) los sepositivos de 129 UI/ml para el suero de sangre venoso (SSV), mientras que la IP= 115 UI/ml para el suero de sangre de cordón umbilical (SSC), para este último posee una Media de de 60 UI/ml y para SSV 72.42 UI/ml, estos sueros presentan una Desviación Standar (DS) de 134, con una Varianza de 18101, mientras que para el SSC la DS de 122 y una varianza de 14982 UI/ml. Con estos datos podemos observar la semejanza y la ligera diferencia del comportamiento entre el SSV y SSC.

Respecto a la seropositividad y el destino de los neonatos se observó que de los 368 neonatos 196 ( 53% ) lactaron con su madre y el 47% de ellos fue a cunero. De los 132 seronegativos el 73% lactó de su madre y el resto se fue a cunero ( Cuadro 2 B ).

CUADRO 2B

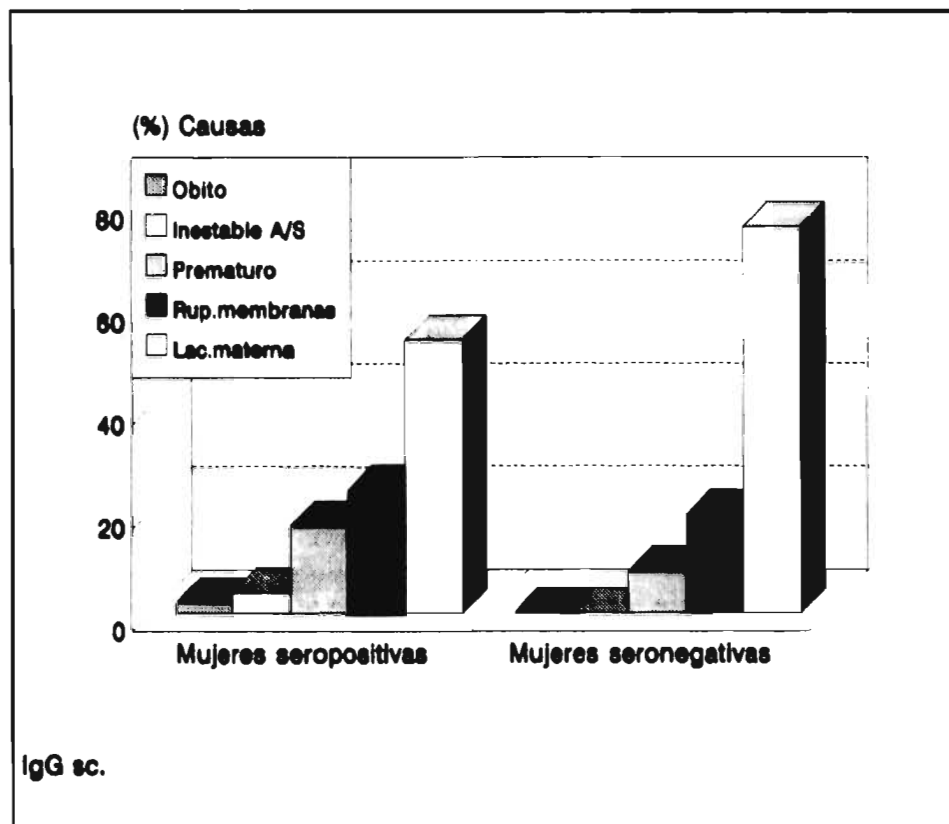
RELACION EPIDEMIOLOGICA DE LA SEROPOSITIVIDAD DE IgG ESPECIFICA CONTRA *T. gondii* Y EL DESTINO DE LOS NEONATOS DE 500 MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

		DESTINO DE LOS NEONATOS		TOTAL
		Atención en cunero	Lactancia materna	
AC	Positivos	172	196	368
	Negativos	33	99	132
TOTAL		205	295	500

Las causas por los que 172 neonatos seropositivos fueron a cunero son las siguientes: ruptura de membranas 24%, por prematuros el 17%, y el 4% correspondió a los 16 neonatos inestables o con alguna anomalía, el 2% correspondió a 7 obitos. estos dos últimos grupos presenta ron títulos muy altos ( figura 2C).

FIGURA 2B

CAUSAS DEL DESTINO DE LOS NEONATOS DE MUJERES SEPOSITIVAS ( N=368 ) Y SERONEGATIVAS (N=132) PARA IgG CONTRA *Toxoplasma gondii*.





**DETERMINACION IgM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*. MEDIANTE ELISA EN 500 SUEROS DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL DE MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.**

La determinación de inmunoglobulina M específica contra *T. gondii*. mediante ELISA en los 500 sueros de sangre de cordón umbilical se encontró una prevalencia de positividad del 8.8% que correspondió a 44 sueros y que representa la IgM del neonato (cuadro 3A).

La incidencia de seropositividad se analizó de acuerdo a la zona de procedencia de la madre, su edad el destino del neonato y la correlación del BINOMIO MADRE=HIJO con la prevalencia y título de inmunoglobulinas M.

Los criterios de seropositividad para esta inmunoglobulina se ajustaron a las normas internacionales (WORLD HEALTH ORGANIZATION STANDARDS (WHO) ). Para indicar que IgM es positivo a partir de 8.0 UI/ML de suero y menores de esta cantidad es negativo.

CUADRO 3A

**PRESENCIA DE IgM ESPECIFICA CONTRA *T.gondii* EN SANGRE DE CORDON UMBILICAL DE 500 MUJERES PUERPERAS DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.**

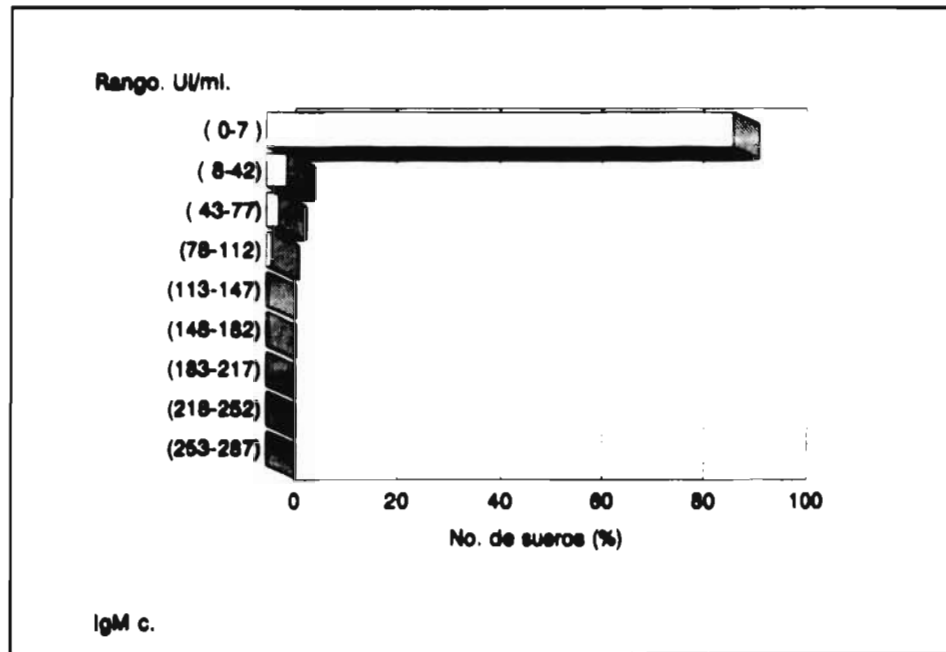
SUEROS	NUMERO	PREVALENCIA ( % )
POSITIVOS	44	8.8
NEGATIVOS	456	91.2
TOTAL	500	100.0

Se presentaron títulos de 9.199 a 253.200. UI/ml. Sin embargo, el 72% de los 44 sueros positivos se estableció en los dos primeros números de clase cuyos títulos son menores de 80. UI/ml es decir bajos. Correspondiendo al diagnóstico del neonato, donde su respuesta inmunológica de IgM apenas se inicia en el último trimestre y una gran mayoría son prematuros, por lo que sus títulos son bajo, no así para aquellos que fueron obitos donde los títulos fueron mayores 100 UI/ml. Estos neonatos son a termino, es importante mencionar que estos obitos tuvieron amenaza de aborto en el 6 y 7 mes de embarazo y se retuvieron con hormonas, y las pacientes mencionan que presentaron ligera febrícula y una gripe constante.

Los títulos de las UI/ml de esta fase se dividió en 8 números de clase con un rango de 34 UI/ML de suero, ( Figura 3 A).

FIGURA 3A

DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgM CONTRA *T.gondii* EN SUERO DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL DE 500 MUJERES PARTURIENTAS.



En relación a la zona de procedencia de la madre y la incidencia de seropositividad se observó principalmente en la zona urbana con una frecuencia del 55% le siguió la zona rural con un 36% y finalmente la zona de provincia con frecuencia del. 9.0% (cuadro 3B).

CUADRO 3B

RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS IgM ESPECIFICOS CONTRA *Toxoplasma gondii*. Y LA PROCEDENCIA DE 500 PUERPERAS MUJERES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

GRUPO	ZONA DE PROCEDENCIA	No. DE MUJERES ESTUDIADAS	No. DE SUEROS POSITIVOS	PREVALENCIA (%)
1	URBANA	167	34	20
2	PROVINCIA	154	4	3
3	RURAL	179	16	9
TOTAL		500	44	8.8

La tasa de seropositividad a IgM específica contra *T. gondii* y su relación con la edad de la paciente es muy significativa en el grupo etario 4 presenta una prevalencia del 45%, va disminuyendo conforme la edad también disminuye, el grupo etario 3 presenta el 32%. Con el 18% para el grupo 3 y finalmente el grupo 1 presenta la prevalencia más baja solamente con el 5%. Este dato demuestra que conforme aumenta la edad hay mayores posibilidades de adquirir la enfermedad ( cuadro 3 C)

TASA DE SEROPOSITIVIDAD ( PRESENCIA DE IgM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* ) EN FUNCIÓN DE LA EDAD EN 500 MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

GRUPO	EDAD	No. DE MUJERES ESTUDIADAS	No. SUEROS POSITIVOS	PREVALENCIA ( % )
1	13-21	130	2	2.0
2	22-30	192	8	4.0
3	31-39	136	14	10.0
4	40-50	42	22	52.0
TOTAL		500	44	8.8

La convivencia con los gatos y la relación epidemiológica con la seroprevalencia a IgM específica, se observa en el ( cuadro 3D) que 43 de los sueros positivos, pertenecen a pacientes que en sus casas conviven con un promedio de 3 gatos y otros animales por paciente, correspondiendo a una prevalencia del 98%, este dato nos indica que la presencia de gatos contribuye no solo a favorecer la infección sino también la enfermedad para esta zona.

CUADRO 3D

RELACIÓN EPIDEMIOLOGICA ENTRE CONVIVENCIA CON FELIDOS Y OTROS ANIMALES Y PRESENCIA DE IgM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*, EN SUERO DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL DE 500 MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

		Convivencia con animales		TOTAL
		+	-	
Presencia de IgM específica contra <i>T. gondii</i>	+	43	1	44
	-	299	158	452
TOTAL		341	159	500

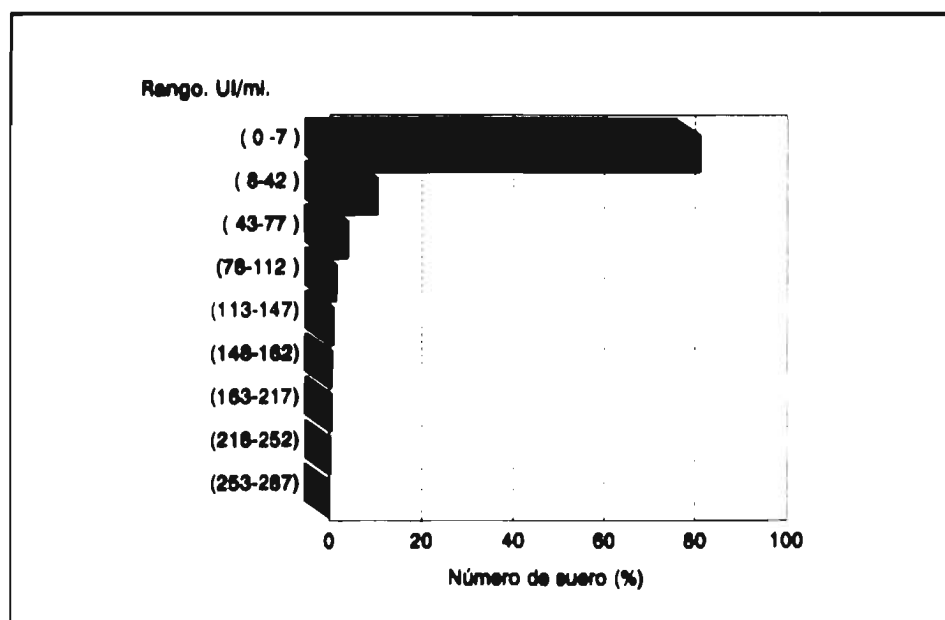
DETERMINACION DE IGM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE ELISA EN 500 SUEROS DE SANGRE VENOSA DE MUJERES PUERPERAS DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

De los 500 sueros estudiados 94 (18.8%) resultaron positivos a IgM específica contra *Toxoplasma gondii* (cuadro 4A). Se presentó un rango de positividad de 8.383 a 282.523 UI/ml. que se distribuyeron en ocho números de clase, con un rango de diferencia de 34. UI/ml entre cada uno de ellos. El 55% de las 52 muestras correspondió al número unos de las clases con menor título, seguido por el número de clase 2 con 20 (21%) sueros, disminuyendo sucesivamente conforme aumenta los títulos hasta finalizar con el número de clase 8 que que presentó solo un suero positivo ( figura 4A)

CUADRO 4A  
PRESENCIA DE IgM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN 500 SUEROS DE SANGRE VENOSA DE MUJERES PUERPERAS PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO. MICH.

SUEROS	NUMERO	PREVALENCIA ( %)
POSITIVOS.	94	18.8
NEGATIVOS.	406	81.2
TOTAL	500	100.0

FIGURA 4A  
DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgM CONTRA *T. gondii* EN 500 SUEROS DE MUJERES PUERPERAS PROCEDENTES DE VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.



En relación con la zona de procedencia y la seropositividad de la paciente a IgM, 34% pertenecim a la zona urbana, 11% de prevalencia a la provincia y 55 % a la rural, que es la que presentó mas pacientes, con los títulos de anticuerpos mas elevados ( cuadro 4B ).

CUADRO 4 B

RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS IgM ESPECIFICOS CONTRA *Toxoplasma gondii* Y LA ZONA PROCEDENCIA DE 500 MUJERES DEL VALLE DE MORELIA- QUERENDARO.

GRUPO	ZONA DE PROCEDENCIA	No. DE MUJERES ESTUDIADAS	No.SUEROS POSITIVOS	( % )
1	Urbana	167.	32	19.0
2	Provincia	154.	10	6.0
3	Rural	179.	52	29.0
TOTAL		500	94	18.8

Con respecto a la seropositividad y la edad de la paciente, se presentó menor prevalencia en el primer grupo correspondientes a las edads de 13-21 años con 6.3 %, seguido con 21.2 % para el segundo grupo, y en los dos últimos grupos con las pacientes de mayor edad se presentó una prevalencia del 36.% para cada una de ellos ( cuadro 4 C ).

CUADRO 4C

TASA DE SEROPOSITIVIDAD ( PRESENCIA DE IgM ESPECÍFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*) EN FUNCION DE LA EDAD EN 500 MJJERES PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

GRUPO	EDAD	No. DE MUJERES ESTUDIADAS	No. DE SUEROS POSITIVOS	( % )
1	(13-21)	130	6	5.0
2	(22-30)	192	20	10.0
3	(31-39)	136	34	25.0
4	(40-50)	42	34	81.0
TOTAL		500	94	18.8

La correlación epidemiológica de las 94 pacientes positivas a IgM específica para toxoplasmosis y la presencia de félidos y otros animales en casa, se hace patente en este resultado, 91 paciente (97%) de ellas poseen gatos en casa y 35 ( 37%) de las 91 pacientes positivas tiene mas de cuatro gatos en casa y nueve de ellas mencionan

mencionan tener un promedio de 9 gatos mas otras especies de animales en casa; estas pacientes presentaron los títulos más altos y antecedentes ó presencia de sintomatología compatible con una toxoplasmosis reciente ( cuadro 4D).

CUADRO 4D

RELACION EPIDEMIOLOGICA ENTRE CONVIVENCIA CON FELIDOS Y OTROS ANIMALES Y PRESENCIA DE IgM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN EL SUERO EN 500 MUJERES PUERPERAS PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA QUERENDARO.

	Convivencia con animales		TOTAL	
		+		-
Presencia de IgM específica contra <i>T.gondii</i>	+	91	3	94
	-	250	156	406
TOTAL		341	159	500

La correlación epidemiológica de la positividad a IgM y la presencia de abortos se hace también presente 82 ( 87%) presentaron uno o mas abortos y otras modalidades. En total de las 500 personas que se analizaron 230 presentaron abortos y otras modalidades, 50 de ellas (61%) presentaron u ó mas de un aborto, 26 ( 32%) presentaron además de aborto, óbitos ú otras patología relacionadas, por último 6 pacientes ( 6.3%) que además de los abortos, nacirn sus neonatos sanos pero en el trascurso de los seis meses fallecieron ( cuadro 4A y figura 4B). Es importante mencionar que la mayoría de estas pacientes 74 (81 %) llegaron con edema, presión sanguínea alta y anemia que sugiere presencia de pre-enclampsia.

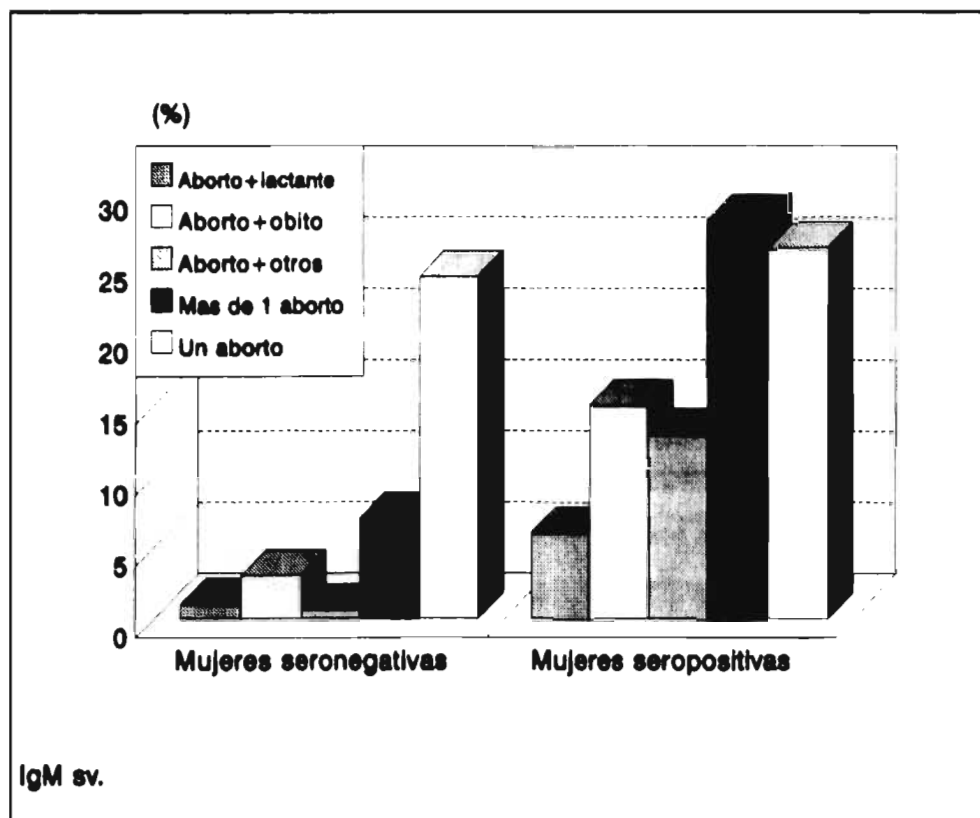
CUADRO 4E

RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE IgM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* Y LA PRESENCIA DE ABORTOS EN 500 MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

	Número de abortos		TOTAL	
		+		-
Ac. IgM específica contra <i>T.gondii</i>	+	82	12	94
	-	148	258	406
TOTAL		230	270	500

FIGURA 4B

INCIDENCIA DE ABORTOS Y OTRAS MODALIDADES DE MUJERES SEROPOSITIVAS ( N=94) Y SERO NEGATIVAS (N=406 ) PARA IgM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*.



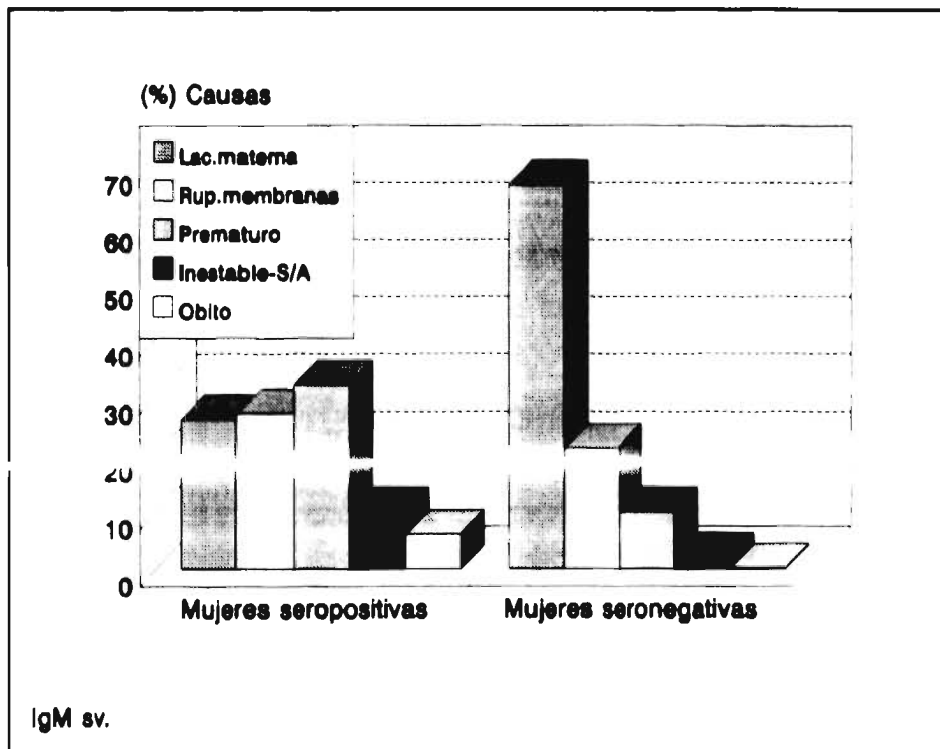
En el cuadro 4F se observa la seropositividad a IgM de las 94 madres y el destino de los neonatos al nacer, 24 de ellos se fueron a lactar con sus respectivas madre y 70 ( 74%) fueron a cunero por algún problema. La causa del destino del a cunero de los 70 neonatos de madres seropositivas fueron; 25 ( 35%) por ruptura de membranas, 30 (43%) por prematurés 14 de los cuales presentaron síntomas patológicos, y el 13% cursaron con alguna anomalía e inestabilidad fisiológica, la gran mayoría fallecieron en el transcurso de los primeros seis meses de vida, por último, el 9% fueron óbitos que corresponden a madres con títulos altos a IgG e IgM, específica a *T. gondii* que se enviaron a patología, cabe mencionar que en este servicio no cuentan con pruebas de diagnóstico para la toxoplasmosis y solamente se reporta la anomalía visible (cuadro 4F y figura 4C).

CUADRO 4F

RELACION ENTRE EL DESTINO DE LOS NEONATOS DESPUES DE PARTO Y LA PRESENCIA DE IgM ESPECIFICA CONTRA *T.gondii* DE LAS MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

	DESTINO DE LOS NEONATOS		TOTAL	
	At. cuero	Lactancia materna.		
Ac. IgM específicos contra <i>T.gondii</i>	+	70	24	94
	-	135	271	406
TOTAL	205	295	500	

FIGURA 4C  
CAUSA DEL DESTINO DE LOS NEONATOS DE MUJERES SEROPositIVAS ( N=94) Y SERONEGATIVAS ( N=406) PARA IgM ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*.





DETERMINACION IgA ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*. MEDIANTE ELISA EN 200 MUESTRAS DE CALOSTRO DE MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

Los resultados obtenidos por ELISA para determinar IgA específica contra *Toxoplasma gondii* en 200 muestras de calostro fueron las siguientes: 162 (81%) resultaron positivas con títulos que fueron de 12,650 UI/ml hasta 1398.320 UI/ml. Y 38 negativos (19%) presentaron títulos 11,465 a 5,1132 UI/ml (Cuadro 5 A).

Los reactivos IgA, anti-IgA, enzima y sustrato se obtuvieron del laboratorio SIGMA de México y los antígenos y soluciones amortiguadoras de Laboratorios Clark, el manejo de datos y su conversión a UI/ml se ajustó a las normas de la World Health Organization Standards. Que indica que para IgA, a partir de 12. UI/ml. de calostro se considera positivo, menor cantidad será negativo.

CUADRO 5A

PRESENCIA DE IgG ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN 200 MUESTRAS DE MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

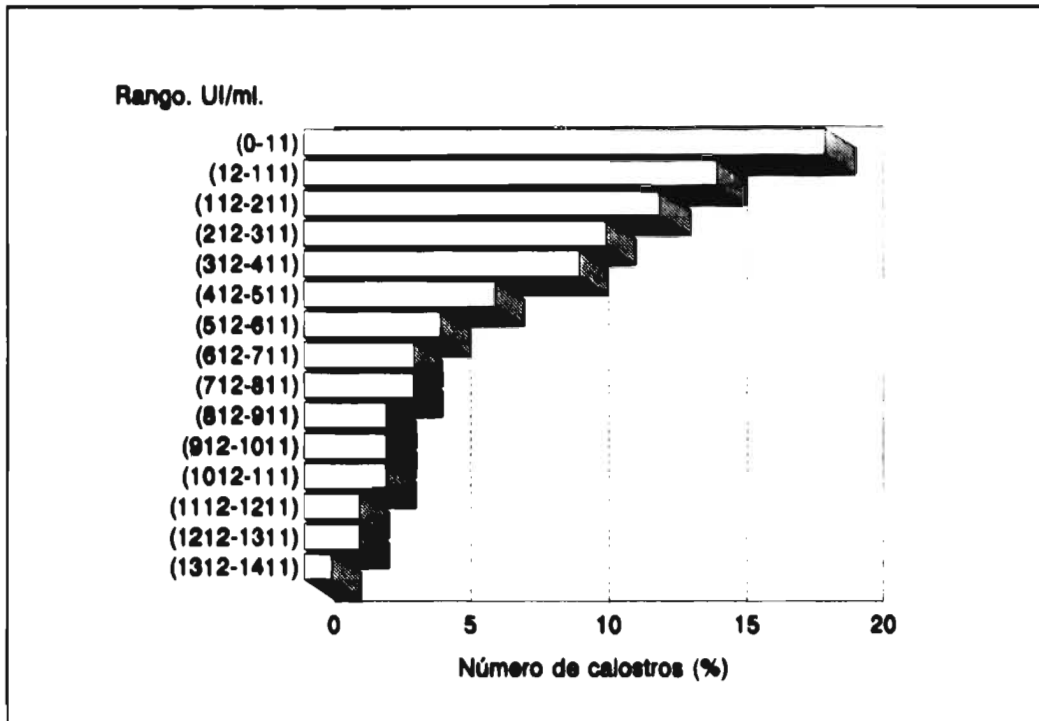
CALOSTROS	NUMERO	FRECUENCIA (%)
POSITIVOS	164	81.0
NEGATIVOS	38	19.0
TOTAL	200	100.0

En general, en estas determinaciones se observaron mayores títulos de inmunoglobulina así como mayor número de positividad que el ocurrido en otro tipo de muestras. Este comportamiento también se ha observado en infecciones con otros microorganismo como *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* (4,5).

Para el manejo y distribución de los títulos de las muestras de calostro positivas se establecieron 14 números de clase, con intervalos de 99 UI/ml. entre cada uno de ellos. En el primer número de clase de 12-111 UI/ml se observó el mayor número de muestras con el 19%, en segundo con 15%, en tercero con el 13%, para ir disminuyendo paulatinamente hasta que en el último número de clase solo se observaron 2 casos que corresponden al título entre 1312 a 1411 IU/ml (Figura 5A).

FIGURA 5A

DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE CLASE IgA ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN CALOSTRO DE 200 MUJERES PUERPERAS PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.



DETERMINACION DE IgA ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii*, MEDIANTE ELISA EN 193 MUESTRAS DE LECHE MATERNA DE MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

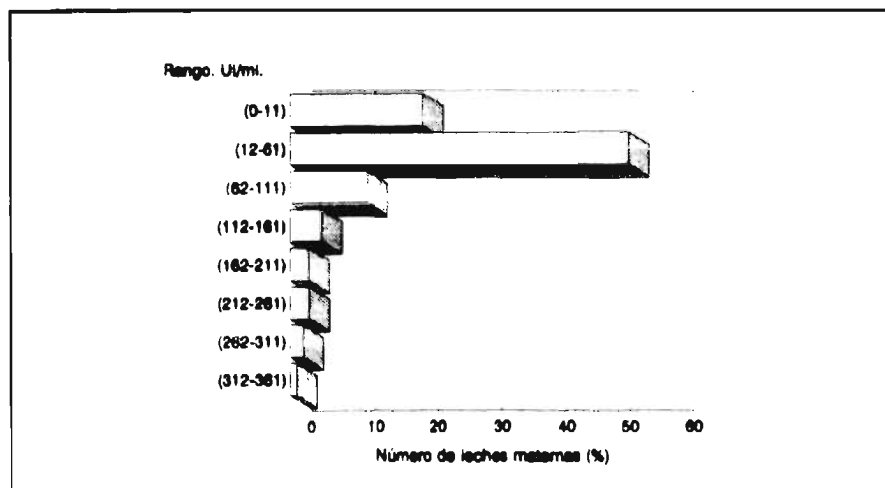
A 193 muestras de leche materna tomadas a pacientes después de 2 meses de dar a luz, se les determinó IgA específica contra *T.gondii* mediante ELISA, resultando 153 positivas (79%) ( cuadro 6A ). Las muestras de leche materna provinieron de las mismas pacientes que proporcionaron calostro, sin embargo 7 de ellas no produjeron leche debido a que sus neonatos habían fallecido por prematurés, meningocele, riñon poliquistico, anencefalía y óbitos.

CUADRO 6A  
PRESENCIA DE IgA ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN MUESTRAS DE LECHE MATERNA DE MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

LECHE MATERNA		
RESULTADOS	No. DE MUESTRAS	PREVALENCIA ( %)
POSITIVAS	153	79.0
NEGATIVAS	40	21.0
TOTAL	193	100.0

Se observó que los títulos de IgA disminuyeron con respecto a los que se presentaron en el calostro, el rango de los títulos obtenidos en UI/ml en esta medición fueron de 12 a 312 UI/ml, sin embargo el 67% de las muestras se encuentran en el número de clase de 12 a 61 UI/ml ( Figura 6 A ).

FIGURA 6A  
DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS DE LA CLASE IgA ESPECIFICA CONTRA *Toxoplasma gondii* EN LA LECHE MATERNA DE MUJERES PUERPERAS DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.



**DETERMINACION DE INTERLEUCINA-2 ( IL-2) EN 38 MUESTRAS DE CALOSTRO DE MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO, MEDIANTE ANALISIS ENZIMATICO EIA.**

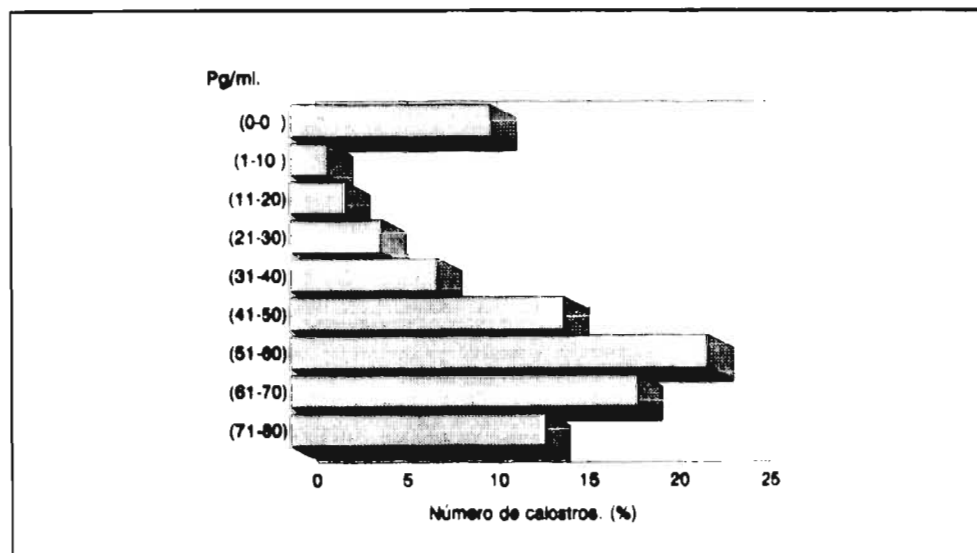
A 130 pacientes se les tomo muestras de calostro, 24 horas después de dar a luz, para determinar y cuantificar la presencia de Interleucina-2, mediante la técnica inmunoenzimática "ENZIME ASSAY" Inmunoensayo EIA ( Biokine \* IL-2), 116 calostros fueron positivos (89%) ( Cuadro 7 A ). Las muestras de calostro materno provinieron de las mismas pacientes en estudio.

**CUADRO 7A**  
**PRESENCIA DE IL-2 EN 130 MUESTRAS DE CALOSTRO DE MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO MEDIANTE EIA.**

CALOSTRO	NUMERO	PREVALENCIA ( %)
IL-2-POSITIVO	116	89
IL-2-NEGATIVO	14	11
TOTAL	130	100

Las 116 muestras positivas se dividieron en 8 números de clase según la cantidad de IL-2 con un rango de 6 Pg/ml. para cada uno de ellos. Como se puede observar en la figura 7A. El mayor número de muestras con mas alta concentración de IL-2 correspondieron a los números de clase seis y siete con una prevalencia del 19 y 23% respectivamente, seguido con los números de clase 8 y 5 con una prevalencia casi similar 14 y 15% va disminuyendo hasta el no. de clase 1 que no contiene IL-2 ( figura 7A).

**FIGURA 7A**  
**DISTRIBUCION DE LOS TITULOS DE IL-2 EN CALOSTRO MATERNO MEDIANTE EIA EN 130 MUJERES PUERPERAS PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.**



La correlación epidemiológica entre la presencia y concentraciones de IL-2 en calostro y el destino de los neonatos, de las mujeres donantes presentaron el siguiente comportamiento. A menor título de IL-2 o ausencia de ésta, el destino de los neonatos fué a cunero o patología y a mayor título ó concentración de esta, su destino fué lactancia ( Cuadro 7B y figura 7C )

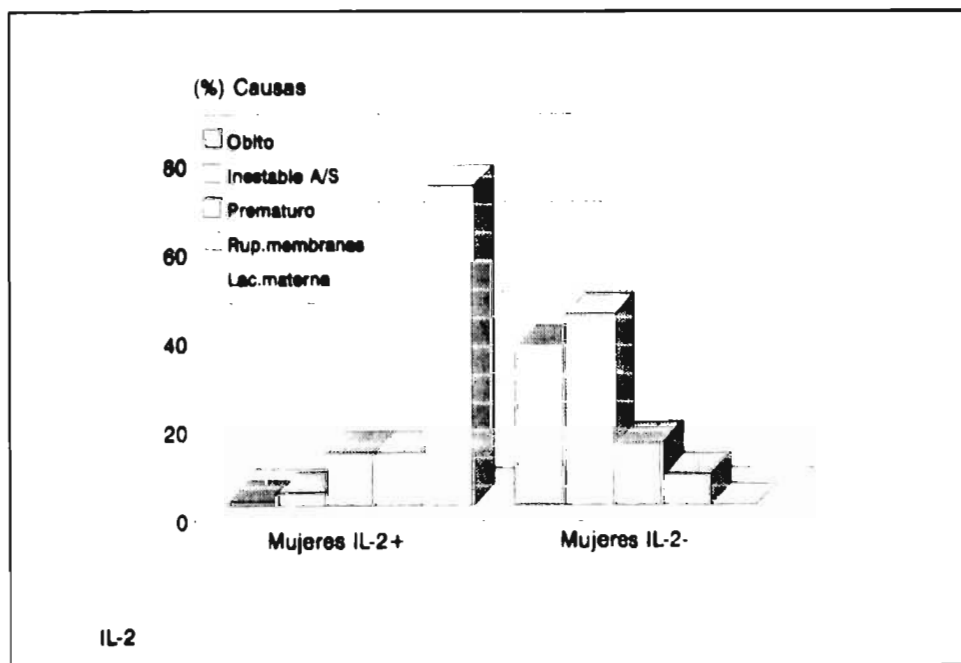
CUADRO 7B

PRESENCIA DE INTERLEUCINA-2 EN LOS CALOSTROS Y LA RELACION DEL DESTINO DE LOS NEONATOS DESPUES DE NACER. DE LAS 130 MUJERES PROCEDENTES DEL VALLE MORELIA-QUERENDARO.

	DESTINO DE LOS NEONATOS		TOTAL
	At. cuneros	lactancia materna	
Presencia de IL-2 en el calostro +	33	83	116
Presencia de IL-2 en el calostro -	14	0	14
TOTAL	47	83	130

FIGURA 7B

CAUSA DEL DESTINO DE LOS NEONATOS DE MUJERES IL-2 POSITIVAS (N=116) Y MUJERES IL-2 NEGATIVAS (N=14 )



Los neonatos de madre cuyos calostros no contenía IL-2 presentaron obitos ó alguna anomalía congénita y aquellas muestras en que los títulos fueron mínimos o muy bajos, los neonatos correspondientes fueron prematuros e inestables. Los neonatos de las pacientes que mostraron títulos mayores de 31 Pg/ml fueron estables ( figura 7B)

La correlación entre los títulos de IL-2, fué inversamente proporcional a los títulos de IgM, en las muestras del calostro de estas pacientes, ya que las que no presentaron IL-2 en sus calostros, tuvieron títulos mas altos de IgM en sus sueros , y además presentan una correlación con la sintomatología de la paciente que sugiere que probablemente presentan toxoplasmosis ( cuadro 7 D y figura 7C )

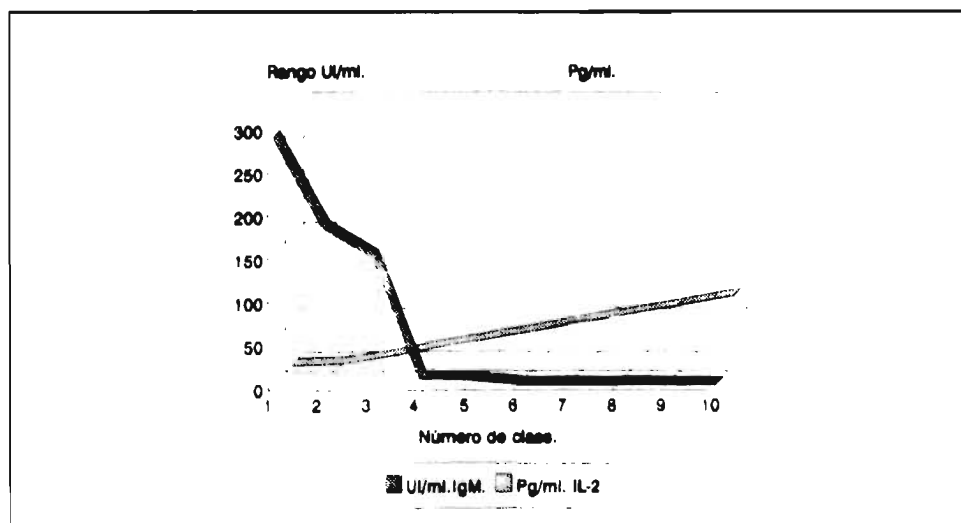
CUADRO 7 D

TASA DE POSITIVIDAD DE IgM ESPECIFICA A *T.gondii* EN SUERO VENOSOS Y IL-2 EN CALOSTRO MATERNO EN RELACION CON LA PRESENCIA DE SIGNOS Y SINTOMAS CLINICOS EN LAS 130 MUJERES PUERPERAS PROCEDENTES DEL VALLE DE MORELIA-QUERENDARO.

SIGNOS Y SINTOMAS CLINICOS DE TOXOPLASMOSIS							
Signos y síntomas	( IgM específica contra <i>T. gondii</i> )			( Interlequina -2 en calostro )			
		( + )	( - )	TOTAL	( + )	( - )	TOTAL
		( + )	( - )		( + )	( - )	
	+	16	6	22	6	16	22
	-	0	108	108	108	0	108
<b>TOTAL</b>		16	114	130	114	16	130

FIGURA 7C

CORRELACION DE LA SEPOSITIVIDAD DE IgM CONTRA *Toxoplasma gondii* Y SU CORRELACION CON LA PRESENCIA O AUSENCIA DE IL-2 EN EL CALOSTRO DE LAS RESPECTIVAS PACIENTES.



## DISCUSIÓN

- La toxoplasmosis es una zoonosis cosmopolita por lo que se le puede encontrar en las diferentes regiones tanto en humanos como en animales domésticos y silvestres, sin embargo hay factores importante como es la zona biogeografica; El valle Morelia-Queréndaro que en ella se encuentra en esa zona tropical y semitropical, que permiten las condiciones las condiciones climatológicas de humedad y temperatura para la dinámica de trasmisión de la infección a través de ooquistes, aunado a costumbres de convivencia con gatos y animales domésticos, el consumo de agua no potabilizada, uso de aguas negras para riego de hortalizas, presentan las condiciones ideales para las prevalencia altas de la infección, como se observa en los resultados de este trabajo donde la seropositividad fue del 77% en suero de sangre venosa y 73 % en suero de cordón umbilical a IgG específica contra *Toxoplasma gondii*, por lo que es probable que el valle Morelia-Queréndaro sea una zona endémica de toxoplasmosis.

- La seropositividad entre la IgG específica contra *T. gondii* del suero de sangre venosa y suero de sangre de cordón umbilical varia en cuanto a su prevalencia en positividad y abundancia , sin embargo son equivalente. Este fenómeno se debe a que solamente la IgG1 e IgG3 atraviesan placenta en forma mas activa y algunos sueros venosos con títulos en los límites de positividad se negativizan en suero de cordón umbilical.

-Se utilizó análisis estadístico donde realizó la prueba de la Chi cuadrada y T students para la IgG de sangre venosa y suero de sangre de cordón umbilical y nos dió como resulta que T students presenta una  $P= 0.005$  y una Chi C = 0.001. los que indica una correlación entre las dos variante y la confiabilidad del tamaño de muestra.

- Las correlaciones de la prevalencia en seropositividad y abundancia de IgG específica contra *T.gondii* y la zona de procedencia de la paciente en más aparente es la rural, seguida de la urbana y finalmente la de provincia. Este resultado nos habla de mayor contacto con el antígeno y este aspecto se corrobora en las zonas rurales, sin embargo se esperaba que fuera menor en la zona urbana; el 45% de estas pacientes que llegaron la ciudad de Morelia durante un promedio de 14 años provenientes de la zona rural y viven en la periferia de la ciudad en condiciones higiénicas poco favorables inclusive respecto a la misma zona rural . Otro aspecto es el espacio que se comparte entre estas familias y los animales

domésticos uno de ellos el gato, el perro, las ratas ( existe plaga), siendo el contacto mucho más estrecho. El 55% del resto de las pacientes viven en colonias donde el suministro de agua no es constante y no cumple con la normas de potabilización y viven en espacios reducidos un promedio de 112 m2 por familia( 10 personas promedio). El 46% en total poseen vivienda propia.

Con respecto a la zona de provincia se encontró la más baja seroincidencia. Esto indica menos contacto con el antígeno, mejores condiciones higiénicas y mayor número de pacientes con servicios de agua potable y el 82% de estas cumple con las normas de potabilización, ( incolora, inodora e insipida, excepto clorada), el número de animales dentro de las casas es menor, normalmente se encuentran en los traspattios y los espacios de las casas son más grandes rebasan un promedio de 360 m2 por familia y el 83 % posee casa propia, por lo que la mentalidad de estas pacientes es mejorar la vivienda.

- La edad es un factor importante para la presencia de la seropositividad ya que a mayor edad de la paciente es más probable que haya tenido mayor número de veces haya estado en contacto con el antígeno en zonas endémicas. En estas pacientes no fue la excepción, se observa que las pacientes con mayor edad presentaban mayor índice de frecuencia y abundancia de IgG específica contra *T. gondii* , la razón es que se han expuesto más tiempo al contacto con las formas infectantes, por lo que la *frecuencia* y *dosis* juega un papel importante en la presencia de la seropositividad.

Estudios preliminares realizados para apoyar la hipótesis de que la dosis y la presencia del antígeno es importante como contribución en la seropositividad de estas pacientes en estudio, se determinó por ELISA la presencia de anticuerpos IgG específicos contra *T. gondii*, en animales domésticos y silvestres que viven en la casa y sus alrededores de las pacientes en estudio. *Rattus rattus* con una positividad del (36%) , *Rattus norvegicus*( 33%), *Felis cati* (52%), *Spermophilus variegatus* (39%), *Sylvilagus floridanus* (22%), aves silvestre utilizadas para consumo humano como *Fulica americana* (12%), *Columbina inca* (39%), *Zenaida macroura* (36%), *Anas cyanoptera* (18%), Animales domésticos, cuya carne se utiliza para consumo humano, *Capra sp* (48%), el *Bos taurus* (29%), el *Sus scrofa* (37%). Aves de corral como *Gallus domesticus*( 35%).

La seropositividad como puede observarse es mas baja en los animales comparada con la de las personas en estudio, pero intervienen factores de costumbres como la forma en que consumen la carne,



normalmente las presas silvestre más pequeñas se consumen asadas a medio termino, son pocas las veces que se cuece la carne para eliminar las formas infectantes y se consume en el mismo día que se sacrifica al animal, principalmente en la zona rural, existen varias localidades de donde provienen las pacientes de la región lacustre de Cuitzeo y es común y frecuente el consumo de carne de animales silvestres y siendo en algunos hogares es la única fuente de proteína animal. En la zona urbana algunas conservan la costumbre del consumo de animales silvestres como la gallareta, patos y huiotas y otros por la necesidad de comer como son en las colonias aledañas a la rivera de río grande, frecuentemente capturan ratas, tórtolas y ardillas para su propio consumo.

Por último en la zona de provincia es menos frecuente este factor. Por lo que creemos que el número de contactos y el consumo de estos animales domésticos y silvestres si contribuye a aumentar la seroincidencia.

-El título de IgG específica a *T. gondii*, nos indica la presencia de una memoria inmunológica, que dejó la entrada de este protozoo en el hospedero, pero es necesario analizar los diferentes números de clase del cuadro IC; El primer número de clase lo constituyen el 44% y el segundo el 16%, esto representa el 60% de las seropositivas, consideramos que la mayoría de estas pacientes si cumple con lo antes mencionado. Sin embargo a partir del número de clase 3 a el 11 conforme aumenta el título de anticuerpos se observa una fuerte correlación con los antecedentes clínicos de la pacientes, por lo que se debe de considerar una investigación clínica de las pacientes. El 63% de ellas mencionan haber cefalea frecuentes, gripe simple con y sin febrícula, dolores musculares, inflamación de amígdalas, cansancio extremo, elevación de temperatura significativa, estas últimas presentaron inflamación de ganglios principalmente del cuello y axilar. Por lo que estas pacientes indican, se reactivó la infección, iniciaron la enfermedad, ó tuvieron la enfermedad principalmente los dos últimos número de clase, aunque la determinación de IgG específica no es diagnóstica de la enfermedad presente, pero si puede ser un apoyo importante en el diagnóstico preliminar y de monitoreo, principalmente en pacientes embarazadas .

El estado fisiológico de embarazo significa también tolerancia inmunológica, principalmente a los antígenos producidos por el producto en desarrollo, pero también indica disminución de la respuesta inmune general principalmente en el primer y tercer trimestre. Esto nos hace pensar si esos quistes

latentes, que se encuentran en las pacientes, pudieran activarse e iniciar una respuesta humoral con la producción de anticuerpos específicos a *T. gondii*; que la presencia de la dosis de antígeno en el medio ambiente pudiera estimular una mayor producción de IgGs ó simplemente que se deba a una respuesta inmune no estudiada de protección para el producto en desarrollo por encontrarse la paciente en una zona endémica.

De ahí la importancia de la protección inmune de la madre hacia el hijo durante el embarazo y después en la lactancia materna. Ya que posteriormente se les monitorizó título de IgG específica a 100 de estas pacientes durante seis meses y sus títulos bajaron considerablemente, aunque continuaron positivas.

Parte de este fenómeno inmune lo corroboramos con un estudio preliminar en personas solteras que coinciden con las edades y zonas de procedencia de las pacientes, observamos que el índice de positividad a *T. gondii* es ligeramente menor (63%). Y que el 81% de estas pacientes no rebasaron títulos mayores de 48 UI/ml. el resto de las demás pacientes son las de mayor edad y alcanzaron títulos más altos, pero solamente el 7% presentaron títulos entre 312-361 UI/ml. y revelan haber tenido enfermedad activa de tipo ganglionar leve.

- De acuerdo con Frenkel, los felinos son los hospederos definitivos en el ciclo de este protozoo y los principales reservorios de las formas infectantes, marcando además que las personas que conviven con estos animales tienen más posibilidad de adquirir la infección y desarrollar la enfermedad, a diferencia de las que no conviven con ellos. Por lo que en este trabajo se demuestró en personas en estudio que convivían con el gato doméstico, presentaron más positividad y mayores títulos específicos contra *T. gondii*.

Se observó en un estudio preliminar en muestras de suero de sangre venosa de 100 gatos pertenecientes a estas pacientes, por el método de ELISA en los cuales se obtuvo una positividad del 52 %, encontrándose una correlación clara entre los gatos que presentaron IgG específica a *T. gondii* y sus dueñas.

Consideramos que otro factor importante es la presencia de otros animales en la casa como los silvestres (aves, ardillas, ratas) que en ocasiones sirven de alimento al gato y que coadyuvan o participan en el ciclo de vida de este protozoo, lo cual se observó en este estudio.

Los hábitos higiénicos también son un factor importante en la transmisión de formas infectantes para adquirir la toxoplasmosis y un vector de ooquistes es el agua no potable, que encontramos que representa un problema muy serio principalmente en la zona urbana donde se realizó este trabajo, seguido de la rural. El análisis del agua potable que consumían 58 pacientes revelaron que no cumple las normas de potabilización y esto se acentúa en una forma dramática en la época de lluvias, el agua trae coloración del beige al rojizo (76%), en ocasiones con olor ( 26%), además trae consigo partículas (90%) con tamaños hasta de 3 mm. El análisis microscópico reveló la presencia de residuos de plantas, geles de sulfato de aluminio, larvas de fito y zoonemátodos, protozoos, huevos de nemátodos, esporas de hongos, polenes , quistes y ooquistes de protozoos, bacterias y otros. Además la cloración del agua no es constante así como su suministro, el lavado de pozos no es frecuente y posiblemente estén situados en zonas donde los mantos acuíferos tengan contacto con el río chiquito y grande, además las dos presas están rodeadas por asentamientos rurales que no cuentan con letrinas.

Cabe mencionar que Morelia cuenta con una empresa papelera que consume un promedio del 60 % del total del agua potable que se produce, y que existen colonias privilegiadas donde el agua potable es constante durante todo el año y presenta la calidad higiénica requerida.

El Valle de Morelia-Queréndaro cuenta con mas de 30,000 has de cultivo y la mayoría es regada con aguas negras del río grande que sale de la Ciudad de Morelia y de los pequeños pueblos, el cual ha recolectado todas las aguas negras e industriales que se producen, por lo que son fuente de contaminación para las hortalizas de consumo humano que se siembran en el valle.

Se realizó un estudio microscópico en 2000 muestras de diferentes verduras y se encontró la presencia de huevos de fito y zoonemátodos, quistes y ooquistes de protozoos y otras partículas, sin embargo la viabilidad de estas formas infectantes no se comprobó. Es importante mencionar que se revisó, el jitomate, tomate verde, cebolla, zanahoria, chiles , rábano, ajos, col, lechuga y cilantro; y los 2 penúltimos presentaron prevalencia del 53% y se encontraban en la últimas tres hojas de la planta, pero el cilantro presentó la más alta frecuencia con 85% y en la mayoría de sus hojas. Los otros productos se venden con cierta limpieza por el consumo y fue menor del 2 y el 18%. pero la incidencia varía y aumenta cuando éstos se revisan directamente en el campo, por lo que se recomienda lavar bien las verduras y sustituir ó clorar el cilantro que parece ser la fuente mas importante de infección.

-La presencia de títulos positivos de IgM específica contra *Toxoplasma gondii* en suero de sangre venosa indican que en la paciente se inició o que está activa la toxoplasmosis, en este trabajo en 19% de las pacientes fueron positivas, pero esto no indica que todas presenten la enfermedad. Durante el proceso de los datos se observó que el 1° y 2° número de clase lo constituyen el 76% de las pacientes las cuales presentaron síntomas leves como; calostro, gripe leve, febrícula, la mayoría tuvo rompimiento de la membranas amnióticas, parto prematuro en menor escala y las placentas presentaron calcificaciones parciales. Pero a partir del 3° al 8° número de clase, los antecedentes clínicos son más típicos como temperatura, gripe franca, amigdalitis e inflamación de ganglios y aumento de la presión sanguínea, las placentas presentaron calcificaciones severas. fueron madres de neonatos con problemas de estabilidad fisiológica, prematuros, deprimidos y óbitos; La mayoría de estas pacientes tienen antecedentes de abortos anteriores a este parto y 30% de ellas habían presentado mortinato, 10% su bebé anterior habían fallecido a los 4 meses de edad.

-Las pacientes con mayor incidencia de positividad a IgM específica contra *T. gondii* son de la zona rural (52%), seguida de la urbana (34%) y finalmente la de provincia(11%). estos datos corroboran una vez más que en los sitios de mayor incidencia hay mayor posibilidad de exposición y dosis del antígeno.

- La edad es otro factor de riesgo por tener más tiempo de contacto con las formas infectantes de toxoplasma, se observó que la mayor incidencia en la presencia de IgM específica a *T. gondii*, se presentó en el 3° y 4° número de clase de edad, sin embargo a partir de los 36-50 años de edad fue más drástico, aunque también se presentaron títulos muy altos en 15% de personas jóvenes, esto demuestra que a cualquier edad *T. gondii*, puede causar la enfermedad sin embargo estas pacientes mencionan estar bajo un estado de stress significativo, y que habían consumido anticonceptivos un mes antes de la concepción así como también las de mayor edad. Se sabe que algunos principios activos de anticonceptivos, pueden depletar la respuesta inmune y aunado al estado de tolerancia inmunológica propia del embarazo vuelve mas susceptible por lo que la respuesta inmune integral es determinante para mantener el equilibrio de infección y no presentar la enfermedad.

- La presencia de los gatos y otros animales en casa de estas pacientes positivas a IgM específica contra *T.gondii*, es un factor de riesgo importante pero este se multiplica cuando el número de gatos aumenta mas que la presencia de otros animales, de acuerdo a los resultados preliminares , las razones por lo

que esto sucede en primer lugar es porque el gato presentó una positividad del 52% y en segunda lugar porque es el hospedero definitivo de *Toxoplasma gondii* y esta eliminando la forma infectante más resistente y puede tener diferentes transportadores.

- La IgM no atraviesa placenta, cuando se le encuentra en el suero de sangre de cordón umbilical indica una infección Intrauterina en el neonato. De acuerdo a los resultados obtenidos el 8.8% presentaron positividad específica a *T. gondii* y sus respectivas madres el 19%, sin embargo, la correlación binomio madre-hijo fue del 96%. esto indica que los sueros venoso positivos de la madre coinciden con los positivos de suero de cordón umbilical correspondiente al hijo. solamente 2 de estas pacientes no coinciden, pero mencionan que sus esposos presentaron signos y síntomas de toxoplasmosis además de la presencia de ataques tipo epiléptico, por lo que se concluye que en estos dos casos posiblemente la infección fue adquirida por contacto sexual y se limitó a útero, inclusive los dos neonatos fallecieron en el mes siguientes después del parto.

- Respecto al análisis estadístico, la prueba de T student, la Chi. cuadrada; el comportamiento de los resultados de los 94 suero de sangre venosa con los 44 sueros de sangre de cordón umbilical, nos da  $p < 0.1$  en T students y similar para la Chi C. pero al comparar solamente los 44 sueros de sangre de suero venoso con los 44 de sangre de cordón umbilical nos da una  $P >$  de 0.005 para T studens y Chi.C.

De acuerdo a los resultados se demuestra 1° que la mayoría de ellos son prematuros y que no alcanzaron niveles de IgM parecidos a los de su progenitora y 2° que los que las rebasaron inclusive con 50 a 100 UI/ml. fueron los neonatos a termino y que corresponden a los óbitos. También se observó tres casos donde la madre se encuentra en los límites de la seronegatividad en IgM pero es muy alta en IgG y coinciden ser hijos de padre tabajero que manejan carne rojas .

- El neonato humano posee un sistema inmunocompetente para la producción de anticuerpos y mecanismos efectores celulares, que en el transcurso de los 6 a 8 meses de vida es clave que se den las condiciones adecuadas para que en el momento de ponerse en contacto con los antígenos principalmente externos, presente una respuesta inmune tanto humoral como celular eficiente; como se sab el nacimiento se caracteriza por falta de IgA e IgG en suero y mucosas como la digestiva y la respiratoria por lo que ahí estriba la importancias de la lactancia materna con el calostro y la leche.

porque sabemos que los primeros contactos con los antígenos serán con las mucosas, y si estas protegidas con IgA, se ha observado que los agentes infecciosos no se instalaran, pero sí dejaran una memoria inmune, principalmente en contra de los que son endémico de estas zonas como *Toxoplasma gondii* y otros.

De acuerdo a los resultados en la determinación de IgA específica con *T. gondii*, en calostro y leche materna podemos ver que de las 200 muestra presentaron una positividad para el 1° del (81%), y el 2° del (79%), la diferencia es muy leve pero son equivalentes en positividad (excepto 7 madres de neonatos que fallecieron ).

Sin embargo al analizar los datos mediante en la prueba T students el su  $P > 0.005$ , cuando se compararon el calostro y la leche materna, Lo anterior indica que la cantidad de IgA específica contra *T. gondii*, en calostro es muy alta comparada con la que se encuentra en la leche materna, pero sin embargo sigue presente la positividad. Este fenómeno es de vital importancia, porque esto asegura que la madre le confiere a su bebé protección para este protozoo y otros, durante más tiempo.

En un estudio preliminar de seguimiento durante 6 meses a 90 de estas madres que lactaban a sus hijos se le tomó muestras tanto de leche como de sangre venosa, se observó dos procesos inmunológicos que creemos importantes; El número de UI/ml disminuyó en la leche materna pero el (72%), siguió presentando IgA específica contra *T. gondii*, suero de sangre venosa también disminuyeron la UI/ml, pero el 50% entró solo en los rangos de positividad y con títulos bajos. por lo que se concluyo que la lactancia materna es muy importante en zonas endémicas, ya que de las 200 pacientes iniciales que se monitoriaron a los 5 meses solo lactaban el 50% de ellas y las demás abandonaron la lactancia, y sabemos por experiencia que los meses claves de apoyo para el desarrollo inmune de los bebés son entre el primer al octavo mes principalmente para las zonas rurales y periurbanas que de acuerdo al análisis son las de mayor riesgo.

También es importante mencionar que los títulos de la IgA en calostro más altos corresponden a las pacientes que también presentaron títulos altos en IgG específica, esto es preocupante porque esas madres quizá puedan infectar a su bebé vía leche materna con *T. gondii*, por eso es muy importante tener el control prenatal de las personas embarazadas, por si se observa alguna molestia, leve como una

gripe o febrícula, dar seguimiento a estas pacientes, pero solo del 14% de estas pacientes llevaron control prenatal constante, el 64% solo visitó al médico para el diagnóstico de su embarazo y la otravisista para dar a luz y el 12 visitaron el hospital para su parto.

- Las interleucinas (IL) ó linfocinas son los comunicadores celulares de la respuesta inmune y los constituyen las IL e interferones, modulando este sistema, estos factores se encuentran en las células y suero sanguíneo en forma inactiva y cuando existe algún estímulo antigénico se activan. Existen pocos estudios al respecto en calostro y quizás sea la primera vez que se realice, por lo tanto creemos que la IL-2 que está en el calostro se encuentre activo por la presencia de la gran cantidad de células que posee y que su función va a ser de iniciación y activación de la respuesta inmune en un nuevo ser como es el neonato ó en el ambiente de la madre hay suficiente estímulos para activar a estas sustancias.

- La presencia de IL-2 en esta determinación que se realizó en calostro nos presentó un dato muy importante, las pacientes que no la contenían ó títulos bajos, fueron las madres que presentaron ovitos, neonatos con alguna anomalía ó prematuros. Se ha reportado que la IL-2 y el Interferón cumplen funciones muy importantes en evitar la instalación de parásitos como el *Toxoplasma gondii* y otros. así mismo se observó en la corroboración con los títulos de IgM específica a *T. gondii*, que cuando estos disminuían ó no se encontraban los títulos de la IL-2 aumentaban, con este resultado creemos que la IL-2 cumple funciones muy importantes en la instalación de organismos intracelulares.

- Aunque el número de muestra fueron 130 nos da una información muy interesante, que en la cultura médica tradicional de algunos grupos indígenas de la zona costera de Michoacán se han mencionado, incluso aprovechan cuando el calostro es muy abundante en una madre y hay en casa otro niño enfermo tipo crónico de tripanosomiasis ó leishmaniasis, este se le da y mejora y en último el caso de lesión cutánea se le coloca también directamente en la herida y sana. lo mismo para en casos de sinusitis, amigdalitis, otitis y conjuntivitis infecciosa.

Estos resultados nos afirman más la importancia que tiene la lactancia materna, iniciando con el calostro y luego con la leche, pero que también es importante que se lleve el control prenatal para si la paciente presente algún problema de salud como los mencionados, se trate y evite el contagio al nuevo ser ya sea in útero ó a través de la leche materna. por lo que es importante la concientización inicialmente en la formación de conocimientos y valores del médico en formación, autoridades del sector salud, médicos de servicio social que inciden en las comunidades, los médicos familiares y personal que apoya en los hospitales como las enfermeras, los residentes y trabajadoras sociales.

- Los métodos inmunológicos que se utilizaron para este trabajo fueron los inmunoensayo enzimático ELISA y EIA, son métodos confiables, en especial ELISA (indirecto)., es muy sensible, por lo que es necesario respetar los tiempos marcados por la técnica y la medición exacta de los reactivos, si se quiere obtener los datos fidedignos, así como también los equipos de control presentaban estos requerimientos. El equipo Clark-Encore ELISA utilizado para este estudio fue adecuado para las expectativas que se esperaba.

## CONCLUSIONES.

- Se cuantificaron anticuerpos IgG específicos contra *Toxoplasma gondii*, mediante ELISA, en 500 sueros venosos, de los cuales 368 fueron positivos, constituyendo 77%, y 114 sueros negativo (23%). De acuerdo al método empleado, se consideró título positivo a partir de 12 UI/ml. variando los resultados de 12 a 561 UI/ml.

- El promedio total de las IgG en las 500 muestras de suero venoso fué igual a 50.462.8 UI/ml que representó un promedio general de 100, 926 UI/ml por muestra. Con respecto a los 368 sueros seropositivos el promedio parcial fué de 128.671UI/ml..

- Se determinó la IgG específica contra *T.gondii* en 500 sueros de sangre de cordón umbilical por medio del método de ELISA obteniéndose una positividad del 74% con 368 sueros y 132 negativos (26%). Los títulos de positividad, fueron de 12 a 469 UI/ml.

El promedio total de la IgG en UI/ML de las 500 muestras de suero de cordón umbilical fue de 42926.4 UI/ml con un promedio general (85.85 UI/ml), pero con respecto a los 368 sueros positivos el promedio fue de 115. 479 UI/ml.

- La correlación del binomio madre / hijo respecto a la seropositividad a IgG en suero venoso y suero de cordón umbilical fué del orden del 96.4% como se puede observar en los cuadros 1 y 2, variando poco en su positividad, 77% /74% sin embargo se sabe que no todas las IgGs atraviesan la placenta. por lo que sus títulos varían de 12-469 UI/ml en suero de cordón umbilical y de 12-561 UI/ML en suero de sangre venosa.

- Se cuantificaron y titularon las IgA específicas contra *T. gondii* por medio de ELISA, en 200 calostros, obteniéndose 164 positivos (81%) y 31 (19%) negativos. Los títulos de la IgA de 12 UI/ml a 1411 UI/ml.

Cabe mencionar que en 3 muestras se obtuvieron títulos mayores a 2000.00 UI/ml. El promedio total de IgA en UI/ml en las 200 muestras de calostro fué de 65689.4 UI/ml con promedio general de 328.447 UI y con respecto a los 164 calostros positivos el promedio fué de 403.555 UI/ml.

- Se determinó y cuantificó la positividad a IgA en 193 muestras de leche materna, resultando 173 (79%) positivos y 40 con 173 (21%) negativos. Los títulos de IgA variaron de 12 UI/ml a 312 UI/ml.

El promedio total de IgA en UI/ml. de las 193 muestra fue de 11647 UI/ml representando un promedio de 58.2348 de IgA en UI/ml y de 71. 2423 UI/ ml. para las 153 muestras positivas.



- Se identificó mediante ELISA IgM específica contra *T. gondii* en 500 sueros de sangre venosa, encontrándose positividad en 94 sueros (19%) y negatividad en 406 (81%).

-La cuantificación de los títulos de IgM variaron de 9.2 UI/ml a 287 UI/ml, presentado un promedio total en UI/ML de 6493.45 de IgM, para las 500 muestra y un promedio de 12.9869 UI/ml, y en las 94 muestras positivas de 4784.81 con un promedio por suero de 50.9022 UI/ml.

- Se identificó IgM específica contra *T. gondii* por medio de ELISA en 500 sueros de sangre de cordón umbilical, resultando positivos 44 sueros positivos (8.8 %) y 456 (91%) negativos. Los títulos de la IgM específica variaron de 8.0 UI/ml a 253 UI/ml. El promedio total en UI/ml de IgM fué de 4065.35 para las 500 muestras con un promedio de 8.13071 UI/ml. y un total de 4784.81 de UI de IgM para los 44 muestras positivas y promedio de 60.9973 UI/ml. para cada una de ellas.

- Al investigar la presencia de la interleucina-2 (IL-2) en 130 muestras de calostro, por medio del método inmunoenzimático EIA, se encontró que en 116 muestras (89%) y 14 calostros no la presentaron; se observó que estas muestras pertenecían a pacientes cuyos neonatos fueron ovitos ó presentaron alguna anomalía congénita. Al correlacionar los títulos de IgG y de IgM con la IL-2 se observó que son inversamente proporcionales, ya que a mayores títulos de interleucina-2, bajan los títulos de IgG e IgM.

Al cuantificar los títulos de Interleucina-2 se consideró su presencia en el calostro a partir de 1.0 pg/ml. Los títulos positivos encontrados variaron de de 1.0 a 71 Pg/ml. La suma (abundancia) de interleucina IL-2 en las 116 muestras fue de 4575.02 Pg/ml, con promedio 39.44 Pg/ml. Las 130 muestras positivas a IL-2 presentaron un promedio de 39 Pg/ml.

- Al correlacionar los patrones inmunológicos del binomio madre / hijo con títulos de e IgM. respecto a los 44 sueros positivos a IgM específica contra *T. gondii* de cordón umbilical, 40 de ellos coincidieron en equivalencia en cuanto a títulos de IgM y 4 de ellos que no coincidieron fueron neonatos que fallecieron en el transcurso de su nacimiento y las dos primeras semana de vida por inmadurez. De los 40 restantes el 70% de ellos fueron a cunero por ruptura de membranas, inmadurez, inestabilidad o por alguna otra anomalía.

- Hay una relación con la seropositividad a IgG, IgM e IgA, con respecto a la zona de procedencia de las pacientes, ya que la zona con mayor índice de seropositividad fué la rural con 87% a IgG, 55% a IgM el 65% a IgA. Esto era de esperarse ya que las pacientes tienen mayor contacto con gatos y animales domésticos y éstos a su vez con los silvestres, que son excelentes reservorios para *Toxoplasma gondii*.

- La edad de las pacientes es importante ya que se observó que los títulos de seropositividad más altos se presentaron en pacientes con mayor edad, así tenemos que para los dos últimos grupos etarios la IgG fue del 90% y 98%; quizá la razón sea que han estado en contacto durante más años con *T. gondii*.

- La dosis infectante del agente etiológico es determinante para que se presente la toxoplasmosis aunado a las costumbres alimentarias, higiénicas, y un sistema de servicios sanitarios incompletos, o no existentes darán mayor oportunidad para adquirir la infección.

- Se esperaba que la zona urbana no presentara altas incidencias de seropositividad, sin embargo fué la segunda en frecuencia con una incidencia de 76%, la mayoría de las pacientes involucradas viven en colonias marginadas en condiciones infrahumanas y no poseen servicios sanitarios o son incompletos.

- La costumbre de convivir en forma estrecha con gatos y perros debido a que estos controlan las poblaciones de *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* que en estos lugares son una plaga, muy peligrosa, propicia que exista el ciclo de vida de *T. gondii* en forma constante y dentro de la casa.

- La zona de provincia o de pueblo, es la que presentó menor incidencia de positividad y los títulos de las seropositivas fueron bajos. Los servicios de sanidad como el agua y el drenaje están presentes en estos lugares con mayor frecuencia y la convivencia con animales no es tan estrecha, que junto con algunas costumbres higiénicas y alimenticias no permiten la infección con facilidad del agente etiológico causante de la toxoplasmosis.

- Cabe mencionar que la zona urbana (Ciudad de Morelia), a pesar de ser una urbe no presenta todos los servicios sanitarios ya que en el caso del agua potable, su suministro no es constante y cuando existe el agua no cumple con las normas establecidas de salud puesto que trae partículas y a veces coloración y en la mayoría de las colonias no está clorada.

- Morelia cuenta con dos ríos que atraviesan la ciudad, a la entrada de la cual sus aguas son limpias, pero van recogiendo las aguas negras e industriales durante su recorrido por la ciudad y son afluentes del lago de Cuatzeo, pero antes de llegar a él su aguas se utiliza para riego de gran parte del valle de Morelia-Queréndaro, ésto propicia que sean una fuente de infección para adquirir diversos agentes etiológicos causantes de enfermedades para el hombre.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abdalla K. F., Fakhany A.F., Arafa M.C., Salama M.M., Morry T. 1994. Congenital toxoplasmosis premature infants with a different clinical pictures in Saudi Arabia. *J. Egypt Soc Parasitol.* 24 (3): 643-648.
2. Acebes M. V., Diez B., Cisterna R. 1993. *Toxoplasma gondii*. A Challenge for the 90's. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. Spain.* 11 (7). 347-351.
3. Acosta A.G., Ortiz J. 1993. Identificación y comparación de subpoblaciones de linfocitos en muestras de calostro y sangre periférica en un grupo de mujeres con producto a término. *Perinatol Reprod Hum.* 2: 12-16.
4. Acosta A.G., V. Cote A., Isibasi A., Kumate J. 1985. Detección de anticuerpos anti *Entamoeba histolytica* de clase IgA en el calostro de mujeres mexicanas. *Immunology.* 4: 24-27.
5. Acosta A. G., Cruz L. M. 1992. Inmunología de las mucosas." 1° ed. México. Edt DEM. 135-150.
6. Ahmed M.M. 1992. Seroepidemiology of toxoplasma infection in Ryyadh Saudi Arabia. *J. Egypt Soc. parasitol.* 1992. 22 (2): 407-413.
7. Ahmed M.V. 1993. IgM, IgG. antibodies specific in child bearing women. (karachi P). *JPMA. J. Pak Med. Assoc.* 43 (10); 214-218.
8. Ambroise T. P., Pelloux H., Goulhot C. 1993. Inter and intracephalic variations in pathogenecity in *Toxoplasma gondii*, Clinical and epidemiologic consequences. *Bull. Acad. Natl Med. Fr.* 177 ,(8); 1411-1419.
9. Arrieta R., Cravioto J. 1983. Lactancia Materna. ( análisis crítico). Ed. Hospital Infantil de Mexico. 125-128
10. Azab M.E., Kame. A.M., Makled.K.,Khattab H; Abo-Amer., Samy G. 1992. Naturally occurring *Toxoplasma* antibodies in suero and milk of lactating women. *J. Egypt Soc. Parasitology.* 2.(2): 561-568.
11. Beaman NH; Wong S.Y., Remington J.S., 1992. Cytokines toxoplasma and intracellular parasitis. *Immunolog Rev.* 1992., 127.(1); 97-117
12. Beaman N.H., Subauste C.S., Wong S.Y., Remington J.S. 1994. *Toxoplasma*-Macrofago interaction. *Immunol Ser-US* 60 (1): 475-493.
13. Beaver, P.C., Jung, R.C., Cupp E.W. 1990. Parasitología clínica. 2 ed. México. Ed. Salvat. 179-190.
14. Berger R., Merkel S., Rundin C. 1995. Toxoplasmosis and pregnancy-finding found umbilical cord blood screening in 30, 000 newborn infants. *Schweis Med. Wochenschr.* 125 (23). 1168-1173.
15. Bhopole G M; Naik K. 1994. Strip ELISA for the detection of IgG antibodies To *Toxoplasma gondii*. *Indian Journal Med. Res.* 1994. 99; 68-70.
16. Biagi F. 1951. Cutirreacciones con toxoplasmina en Tampico. *Rev. Med. Mex* 14 (4) : 72-80.
17. Bienenstock J., Befus A. D.1983. Some Thoughts on the biologic role of inmunoglobulin A. *Gastroenterogol.* 84: 2694-2697,
18. Blais J., Tardif C., Chamberland S. 1993. Effect of Clindamycin on intracellular replication protein synthesis and infectivity of *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 37 (12): 2571-2577.
19. Boesman Finkelstein. M., Finkelstein R. 1985. Antimicrobial effects of human milks: Inhibitory activity on enteric pathogen. *FEBS. Lett* 27: 167-174.
20. Bonhomme A., Pingret L., Pinon J.M. 1992. *Toxoplasma gondii*. cellular invasion. *Parasitologia* 34 (1-3): 31-43

21. Buisman A. 1994. Granulocytes-macrophages colony-stimulating factor is not involved production of reactive nitrogen intermediates by or toxoplasmatatic activity of gamma interferon activated murino macrophager. *Infect Immun.* 62 (3): 1121-11244
22. Bulow R, Boothroyd J.C. 1991. Protection of mice from fatal *Toxoplasma gondii* infection by immunization with p30 antigen in liposomes. *J. Immunol.* 147 (10): 3496-3500.
23. Bullock S.L. 1977. Evaluation of some parameter of the enzyme linked immunoespecific assay. *J. Infect. Dis* 36: 279-285.
24. Calderón Jaime E. 1986. Immune response to Toxoplasmosis. *Bol. Med. Hosp. Inf. Méx* 43.(10): 25-30
25. Carrada Bravo T. 1983. La toxoplasmosis problema de salud pública. avances y perspectivas. *Bol. Med. Hosp. Inf. Méx* 40. (7): 353-360.
26. Cohen S. 1982. Survival of parasites in the immunocopotent host. Immunology of parasitic infections. *Cohen, S. y Warren. K.S. Ed.* 2a ed. 138-157. Oxford Blackwell.
27. Cengiz A.T., Klyan.M., Cengiz L. Kara. F., Ugurel M.S. 1992. Determination of *Toxoplasma* IgM by ELISA in maternal blood and cord blood of infants born with abnormalites or fetal death. *Mikrobiyol Bull. Turkey* 26 (2): 121-130.
28. Condorelli F., Scalia G., Stivala A., Costanzo M., Castro A. Marino A. 1993. Seroprevalencia to some TORCH agent in a Sicilian female population of fertile age. *Eur Journal Epidemiol.* 9 (3). 341-343.
29. Cooney M.K. Kimball A. C. Bouer H. 1958. Studies on Toxoplasmosis. complement fixation test with peritoneal exudate antigen. *J. Immunol.* 81 (3): 177-186.
30. Couvreur J., Desmonts G., Thulliez P. 1988. Prophylaxis of congenital toxoplasmosis of Spiramycin on placental infection. *J. Antimicrob. Chemother.* (22); 193-198.
31. Cruz J. R. Arevalo C. 1986. Levels of human milk specific immunoglobulin a antibodies during lactacion. *Pediatr Infect Dis.* (supl.) 1, (5); 148-150.
32. Chao C. C. Gekkar G. Hu S., Close K., Peterson Pk. 1994. Human Microglial cell defense against *Toxoplasma gondii* the role of cytokines. *J. Immunol.* 152 (3): 1246-1252.
33. Chomel B.B., Carnielu M.L., Kasten RW., Castell P.M. 1994. Antibody *Toxoplasma* prevalence of eight ruminant diseases in california mule and black-tailed deer (*Odocoileus hemionus*). *J. Wildl Dis.* 30. (1): 51-59.
34. Chowdbury MN. 1986. Toxoplasmosis. *A review. J. Med.* 17. (5): 373-396.
35. Decoster A., Slizewicz B., Caron A., Capron A. 1991. Platelm-Toxo-IgA, a new kit for early dianosis of congenital toxoplasmosis by detection of ant-p30 immunoglobulin A antibodies. *J. Clin Microbiol.* 29 (10): 2291-2295.
36. Dimier I.H., Woodman J. P., Bout D. T. 1992. Human endothelial cells activated by interferon gamma, by interleukin-1-2 and TNF inhibit the replication of *Toxoplasma gondii*. *Ann. Rech. Vet.* 23 (3). 329-330.
37. Dubey J. P., Fener W. R. 1993. Clinical segmental myelitis associated with an unidentified *Toxoplasma*-like parasites in a cat. *J. Vet Diagn Invest.* 5 (3). 472-480.
38. Dubey J.P., Humphrey J. G., Thulliez P. 1995. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* Tissue cysts and antibodies to T. gondii varius serologic tests in black bears (*Ursus americanus*) from Pennsylvania. *J. parasitol.* 81 (1). 109-112.
39. Dubey J.P., Frenkel J.K. 1972. Cyst-induced toxoplasmosis in cat. *J. protozool.*(19): 155-159.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

40. Dubey J. P., Weigel R. M., Siegel A. M., Thullies P., Kitron U.D. 1995. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *J. Parasitol.* 81 (5): 723-729.
41. Dubremetz J. F., Achabarou A., Bernudes D., Joiner K.A. 1993. Kinetics and pattern of organelle exocytosis during *Toxoplasma gondii* / Host- cell interaction. *Parasitol Res Germany.* 79 (5): 402-408.
42. Dumms N., Cazaux M., Sequela J. P., Charlet J.P. 1991. Epidemiology of toxoplasmosis in mother and children in tropical Africa. *Bull. Soc. Patol. Exot.* 84 (5): 645-658.
43. Dunford P., Johnson J. 1991. Detection of toxoplasma-specific immunoglobulin-G, assessment of a slide agglutination test". *Med Lab Cij.* 1991. 48 (2): 137-141.
44. Dzebenski T. H. et al. 1992. Electron microscopic and radioisotopic studies on cap formation in *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun.* 14. 1196-1201
45. Elamin E.A., Elias S., Daugschies A., Rommel M. 1992. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in pastoral camels in Butana plains, mid-Eastern Sudan. *Vet Parasitol.* 43. (3-4): 171-175.
46. Engvall E., Pease A. J. 1978. Quantitative Enzyme Immunoassays. *Scand. J. Immunol.* 8: 5-7.
47. Fakabany E.L., Abadalla K.F., Younis N. 1992. Chronic toxilosis and toxoplasmosis. *J. Egypt Soc. parasitology.*
48. Felman H. A. 1982. Epidemiology of toxoplasma infections. *Epidemiology.* 4. (1): 204-213.
49. Ferson M.J., Roberston P.M. 1959 Congenital toxoplasmosis and pregnancy. *Aust NZ J. Obstet Gynecol.* 30-32.
50. Frenkel J.K. 1988. Pathophysiology of Toxoplasmosis, Parasitology Today. *J. parasitol.* 4(10): 273-282.
51. Frenkel J. K. Bubey J.P., Miller N.L. 1970. *Toxoplasma gondii* in cat; fecal stage indentified as coccidian oocysto. *Science N.Y.* 67: 893-899
52. Frenkel J.K., Ruiz A. 1973. Toxoplasmosis humana. *Acta Médica Cost Rica.* 16. 5-15.
53. Frenkel J. K. 1973. Toxoplasma in aroud us. *Bio. Sci.* 23: 343-352.
54. Frenkel J.K., Bubey J. P., Miller N.L. 1972. Toxoplasmosis its prevention in cat and man. *J. Infect Dis.* 126: 664-673.
55. Frenkel J.K. 1948. Dermal hipersensity to toxoplasma antigens (toxoplasmina). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 68 : 634-639.
56. Frenkel J.K., Wallace G.D. 1970. Transmission of toxoplasmosis by tachyzoite: possibility and probability of a hypothesis. *Med. Hypotheses.* 5: 429-432.
57. Fulton J.D., Turk J.L. 1959. Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. *Lancet.* 2. 1068-1069
58. Garin J.P. 1948. Une methode du diagnostic de la toxoplasmosse le aglutination de particules de bentonite sensibles. *L. presse Medicale.* 72 (40): 217-220.
59. Gasztonyi Z., Czeizelle. 1995. Where if the limit of the definition of iatrogenic disease in the medical manager of Toxoplasmosis. *Orv. Hetil.* 136 (17): 913-
60. Gazzinelli R. T., Brezin A. 1974. Acquired ocular Toxoplasmosis in the murine model protective role of TNF-alfa y IFN-gamma. *Exp. Parasitol.* 78 (2): 217-229.

61. Gerritsen E.J. 1993. Detection of specific IgG antibody production in vivo in infants with congenital HIV and *Toxoplasma gondii* infection. *Immunodeficiency*. 4 (1-4):145-148.
62. Gills S. 1983. Interleukin-2: biology and biochemistry. *J. Clin. Immunol.* 3: 1-8.
63. Goldsmith R. S., Kagan, L. G., Zarate R., Reyes G., Cedeno FJ. 1991. Low toxoplasma antibody prevalence in serologic surveys of humans in southern Mexico. *Arch. Invest. Med. Mex.* 22 (1): 63-73.
64. Golman A.S., Thorp L.W., Goldlum. 1986. Antiinflammatory properties of human milk. *Acta pedia Scand* 75: 689-695
65. Golman A.S. 1986. Immunology system in human milk. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr.* 5: 334-345.
66. Gross U., Roos T., Appold D., Heseemann J. 1992. Improved serological diagnosis on *Toxoplasma gondii* infection by detection of immunoglobulina (IgA) and IgM antibodies against P30 by using the immunoblot technique. *J. Clin. Microbiol.* 30 (6): 1436.
67. Grover C.M., Tulliez P., Remington JS., Boothoyd JC. 1990. Rapid prenatal diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. *J. Clin. Microbiol.* 1 28: 2297-2305.
68. Halonen S.K., Weider E. 1994. Overcoating of toxoplasma parasitophorous vacuola with host cell vimentin type intermediate filaments. *J. Eucaryot Microbiol.* 41 (1) 65-71.
69. Gump D.W. Holder R. A. 1979. Acquired coriorretinitis due Toxoplasmosis. *Ann. Intern. Med.* 90: 58-60.
70. Hanson A., Ahlstedt C.B., Anderson JR Carlsson B. 1985. Protective factor in milk and development and immune system. *Pediatric (Supl.)* 1: 172-178.
71. Hajlicek K., Literak L., Chalupa B. 1992. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in blood donors 1980-1990. *Cesk Epidemiol Mikrobiol Immunol.* 42 (3) 135-140.
72. Hofmann P., Bernard B. 1993. Extracerebral toxoplasmosis in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Pathol. Res. Pract.* 189 (8): 894-901.
73. Hohlfeld P., Daffos F., Thullies P., Aufrant C., Couvreur J., Mac Aleese J. 1989. Fetal toxoplasmosis outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. *J. Pediatr.* 115: 765-770.
74. Humphreys J. G., Stewart R. L., Dubey J. P. 1995. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of hunter-killed/ white-tailed deer in Pennsylvania. *Am. Journal Vet Res.* 56 (2): 172-173.
75. Hunter C.A., Subauste C S., Reminton J.S. 1994. The role of cytokines in toxoplasmosis. *Biotherapy.* 7 (3-4): 237-247.
76. Idris M.A., Ruppeer A. 1994. Prevalence of antibodies *Toxoplasma gondii* in human sera from Anofar Oman. *Ann Tro. Med. Parasitol.* 88(1): 89-91.
77. Jacobs L., Lunde M.M. 1957. A hemagglutination test from Toxoplasmosis. *J. Parasitol.* 43: 308-314.
78. Jose M.V. Ojeda J. 1992. Seroepidemiología de la Rubéola en México, datos y teoría. *Salud Publica De Mexico.* 33 (3): 328-334.
79. Jacquier P., deplazes p., Heimann P., Gottstein B. 1995. Parasitology and humanan medical preventive importance of *Toxoplasma gondii*. *Schweiz Med. Wochenschr. Suppl.* 65 (1):10-18.
80. Janku J. 1923 Pathogénese et anatomie pathologique du coloboma la maculadas un lel de dimension normale et dans un oiel microphalalme avec parasites dan la retine. *Cas. lek. cesk* 62: 1021-1144.

81. Jones T.C., Hirsch J.G. 1972. The interaction between *Toxoplasma gondii* and mammalian cells. II the absence of lysosomal fusion with phagocytic vacuoles containing living parasites. *J. Exper. Med.* 136: 1173-1194.
82. Jun C. D., Kin. S.H. 1993. Nitric oxide mediates the toxoplasma activity of murine microglial cell in vitro. *Immunol Invest.* 22 (8): 487-501.
83. Kagan L., Kimball AC. 1974. Serologic evidence of toxoplasmosis among patient with poliomyelitis. *Am. J. Med.* 58. 186-191.
84. Kasper L. H. 1983. Purification of major membrane protein of *Toxoplasma gondii* by immunoabsorption with a monoclonal antibody. *J. Immunol.* 130: 2407-2412.
85. Kasper L.H. 1982. Isolation and characterization of a monoclonal antibody resistant antigenic mutant of *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 129: 1694-1699.
86. Kean B.H., Kimball A C. 1969. An epidemic of acute Toxoplasmosis. *J.A.M.A.* . 208. 1002-1004.
87. Khan I.A., Ely K.H., Kasper L.H. A. 1991. Purified parasite antigen p30 mediates CD8+ T cell immunity against fatal *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J. Immunol.* 147 (10): 3501-3506.
88. Kluflo C. A., Delamare O., Amos A.B., Kariwiga G. 1993. Prevalence of toxoplasma antibodies in pregnant patients attending the port Moresby Hospital. New Guinea. *P.N.G. Med. Journal.* 36 (1): 4-9.
89. Knäus BU. 1991. Epidemiological findings of *Toxoplasma gondii* infection of humans in the area of Cottbus Angew. *Parasitol (Ge)*. 32 (3): 159-164.
90. Krause T., Straube W., Wiersbitzky S., Hiltz V., Kewitsch A. 1993. Screening for toxoplasmosis in pregnancy a pilot program in Northeast Germany. *Gebershilfe Frauenheilkd.* 53 (9): 613-618.
92. Lafarga B., Canas A., Perez. M.C., Suarez J. 1994. Comparative study of the serologic response of IgA and IgM type in the diagnosis of acute toxoplasmosis. *Enferm-Infecc-Microbiol-Clin.* 12 (10): 501-504.
93. Lescop J., Brinquin L., Schill H., Soulie D., S. Arrazin., Cordoliani Y S. 1995. Diffuse toxoplasma encephalitis in a non-immunosuppressed patient. *J. Radiol.* 76 (1): 21-24.
94. Levine N.D., Corliss J O., Cox F.E.G., De Roux G., Grain J., Honighberg G.F., leedale A.R. Loeblich J. Lom D., Lynn E. M., Merinfeld E. C., Page G., Poljansky V., Sprague J., Vavra J., Wallace F.G. 1980. Committee on Systematics and evolution Classification of the protozoa. *J. Protozool.* 27 (1): 37-58.
95. Levine N. D. 1979. Taxonomy of the Sporozoa. *J. Parasitol.* 56 (11): 208-209.
96. Lunne T., Hult G., Frenkel Y., Jonsson S.U. 1988. Acquired Toxoplasmosis in often mild but the symptoms can be difficult to interpret. *Lakar-tidningen* 85 (11): 948-949.
97. MacKnight K.T., Robinson. H. W. 1992. Epidemiologic studies on human and feline toxoplasmosis in Sta. clara California. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 36. (1): 37-47.
98. Magnusson J.H. 1948. Human toxoplasmosis. An account of twelve case in Sweden. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 25: 215-233.
99. Male D., Champion B. 1987. Advanced Immunology. Ed. British Society for Immunology. G. Medical Pub. London. C. 1-2: 7-9.
100. Mauel J. 1984. Mechanisms of survival of protozoan parasites in mononuclear phagocytes *Parasitology* 88. (4): 579-592.
101. McOrist S. 1992. Diseases of the European Wildcat (*Felis silvestris* Schreber 1777) in great Britain. *Rev. sci. tech. France.* 11

102. McLeod R, Mack D, Brown C. 1991. *Toxoplasma gondii* new advances in cellular and molecular biology *Exp. Parasitol.* 72: 109-115.
103. Mohammed O. B., Hussein H.S. 1994. Antibody prevalence of toxoplasmosis in arabian gazelles and oryx in Saudi Arabia. *J. wildl Dis.* 30 (4): 560-562.
104. Mohan T.C., Jalil H.A., Nadarajah M, Song E.H. 1991. Antitoxoplasma in healthy adult and in diferent patient categories. *Singapore Med J.* 32 (5): 344-347.
105. Morales A., Mosca A., Silva C., Sims A. 1961. Estudio Serológico sobre toxoplasmosis en la Isla de Pascua. *Bol. Chil. Parasitology.* XVI. (4): 82-87.
106. Morgan D.A., Dupont L.H., Gonik B. 1976. Selective in vitro growth by linfocine of lymphocytes from normal human bone marrows and calostrun. *Science.* 193: 1007-1012.
107. Moschen M.E., Stroffolini T, Arista S., Pistola., Giannanco A., Azara A. 1991. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies among children and teenagers in Italia. *Microbiologica Italy.* 14 (3): 229-234.
108. Muñoz C., Endress S. 1990. Interlukin-1 beta in human calostrum. *Esp Immunol.* 141: 505-513.
109. Murray H. W. 1981. Susceptibility of *Leishmania* and *Toxoplasma* to oxygen intermediates and killing by normal macrophages. *J. Exp. Med.* 153: 1302-1315.
110. Murray H.W., Granger A.M., Teitelbaum R.F. 1991. Gamma interferon-activated human macrophages and *Toxoplasma*, *Chlamydia* and *Leishmania donovani*: a antimicrobial role of limiting intracellular iron. *Infect.* 59 (12): 48-56.
111. Nam H.W., Kim D.J., Park S.K., Choi W.Y. 1993. Inhibition of entry of *Toxoplasma gondii* in NDCK cell by fetal bovine serum. *Kisaengu-chunghak chapchi* 32 (4): 379-382.
112. Neeken C., Rothova A., D Waal L. P., Van der Hort. 1995. HLA Typing in congenital toxoplasmosis. *Br. J. Ophthalmol.* 57 (5): 494-497.
113. Newton L.H., Hall S.M. A. 1995. A survey of health education material for the primary prevention of congenital toxoplasmosis. *Commun-Dis-Rep-CDR-Rev.* 5 (2): 21-27.
114. Nicolle C., Manceaux. 1908. Sur une infection a corps de leishman (au organismes voisins) du gondii. *Comt Rend. Aced.* 147-153.
115. Nichols B.A., Chiappino M.L. 1994. Endocytosis at the micropore of *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res.* 80 (2): 91-8.
116. Nichols B.A., Chiappino M.L. 1987. Cytoeskeleton of *Toxoplasma gondii*. *J. protozool.* 34: 218-226
117. Ogra P.L., Losonsky A.G., Fishaut M. 1984. Calostrum derived immunity and maternal neonatal interaction. *Ann NY. Acade. Sci.* 171: 82-93.
118. O'Connor G. R. 1974. Manifestatio and management of ocular Toxoplasmosis. *Bull NY. Acad. Med* 50; 60-64
119. Ostergaard L., Nielsen A.K., Black F.T. 1993. DNA. amplification on cerebrospinal fluid for diagnosis of cerebrospinal toxoplasmosis among HIV-positive patients with signs or symptoms of neurological disease. *Scand. J. Infect Dis.* 25. 227-232.
120. Ougust J.R., Chase T. M. 1987. Toxoplasmosis. *Vet North. Am.* 17 (1): 55-57.
121. Partanen P., Turunen H. J. Immunoblot and analysis of *Toxoplasma gondii* antigens by human immunoglobulins G, M and A antibodies at different stages of infection. *J. Clin. Microbiol.* 120: 133-138.



122. Peterson P.K., Gekker G., Hu S., Chao C.C. 1993. Intracellular survival and multiplication of *Toxoplasma gondii* in astrocytes. *J. Infect Dis.* 168 (6): 1472-1478.
123. Pinkerton H. Weisman D. 1940. *Toxoplasma* infection in man. *Arch Path.* 30 (1): 340-345.
124. Pinto P.L., Amato N., Braz LN., De Brito T. 1993. Experimental research on the possibility of the transmission of *Toxoplasma gondii* infection via milk. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 26 (4): 251-252.
125. Pons J. C., Sigrand C., Grangeot. Keros L., Frydman R. 1995. Congenital toxoplasmosis: transmission to the fetus of a pre-pregnancy maternal infection. *Presse Med. Fr.* 24 (3). 179-182.
126. Prentice A., Ewing G., Roberts S. B. 1987. The nutritional role of breast milks IgA and lactoferrin. *Pediatric Scand.* 76 (4): 592-598.
127. Raeber P. A., Berger R., Biedermann K., Billo N. 1995. Prevention of congenital toxoplasmosis in Switzerland Consensus report of study group "congenital toxoplasmosis" of the federal public health office. *Schweiz. Med. Wochenschr. Suppl.* 65 (1): 113-120.
128. Raeber P. A. 1995. Should a preventive congenital toxoplasmosis program be established in Switzerland. *Schweiz Med. Wochenschr. Suppl.* 65 (1): 5-9.
129. Remington J.S., Klein J.O. 1976. Infectious Diseases of the fetus and newborn infant. *Saunders Co., Philadelphia. London. Toronto.* 10.ed. 191-350.
130. Resano, P.F., Pascoel L. D., Zuniga T.V., Gonzalez TL, Gutierrez T.G. 1985. Encuesta seroepidemiológica de anticuerpos anti-toxoplasma en la Republica Mexicana. *Rev. Mex. Patol.Clin.* 32: 8-17.
131. Resnick DK, Comey CH, Welch WC, Martinez AJ, Hoover W, Jacobs GB. 1995. Isolated toxoplasmosis of the thoracic spinal cord in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. Cases report. *Journal Neurosurg.* 82(3): 493-496.
132. Robertson D.N., Forrest P.C., Frangoulis E. L. 1986. Early induction of secretory immunity in infancy. specific antibody in neonatal breast milk. *Arch Dis Child* 61: 485-489.
133. Roch. U.E. 1991. Compendio de Toxoplasmosis. *Edit. Patria. 1a.ed.* 9-160.
134. Roch U. E., Varela G. 1966. Diversos aspectos de la investigación sobre toxoplasmosis en México. Resultados de 29.888 reacciones de Sabin y Feldman efectuadas de 1953 a 196. *Rev. Invest. Sal. Pub. Mex.* 26: 31-49.
135. Rocha' R J. 1993. Elimination of *Toxoplasma gondii* through urine of mice in the cute phase of experimental infection. *Rev. Inst Med. Trop. Sao. Paulo.* 35 (4): 307-313.
136. Rodríguez' D. Remington JC. 1993. Actividad comparada de varios antibioticos frente a *Toxoplasma gondii* en un modelo murino. *Enferm Infec. Microbiol Clin.* 11 (10): 546-556.
137. Rokosowski H., Moczko J. 1994. Congenital toxoplasmosis in the poznan region polonia. *Ginekol Pol.* 65 (8): 409-412.
138. Rolitt L M. 1994. Inmunología fundamentos. 7a ed. *Panamericana E.D.* 13-234.
139. Ruiz A., Frenkel J.K. 1980. *Toxoplasma gondii* in Costa Rica in cats. *Am. J. Trop. Hyg.* 29:1150-1160.
140. Ruskin J., Remington JS. 1976. Toxoplasmosis in the compromised host. *Ann. Int Med.* 84: 193-199.
141. Russo M. 1972. Toxoplasmosis in pregnancy, prevention, diagnosis and therapy. *Recenti. Prog. Med.* 85(1): 37-48

142. Ryan M., Hall S.M., Barrett N. J., Balfour A.H., Holliman R. E., Joynton D.H. 1995. Toxoplasmosis in England and Wales 1981 to 1992. *Commun-Dis-Rep-CDR-Rev.* 5 (3): 13-21.
143. Rynning F. W., McLeod R., Maddox J. C., Hunt S., Remington J. S. 1979. Probable transmission *Toxoplasma gondii* by organ transplantation. *Ann. Intern. Med.* 90. 47-49.
144. Sabin A.B. Feldman. H.A. 1936. Dyes as microchemical indications of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). *Science*. 108-160.
145. Sabin A. B. 1938. Isolation of filtrable Transmissible agent with neurologic properties from *Toxoplasma* infected tissues. *Science (Lancaster)* . 88: 189-191.
146. Saffer L. D., Mercereau P. O., Dubremetz J. F., Schwartzman J. D. 1992. Localization of a *Toxoplasma gondii* roptry protein by immunoelectron microscopy during on after host cell penetration. *J. Protozool.* 39 (4): 526-530.
147. Saffer LD., Schwartzman J.D. 1991. A soluble phospholipase of *Toxoplasma gondii* associated with host cell penetration. *J. Protozool.* 38 (5): 454-460.
148. Sagmeister M., Gesaner U., Kind C., Horisbergerger B. 1995. Cost-Benefit analysis of screenings for congenital toxoplasmosis. *Schweiz., Med. Wochenschr. Suppl.* 65 (1): 103-112.
148. Samuels, B S., Rietschel RL. 1976. Poliomyositis and toxoplasmosis. *J.A.M.A.* 235: 60-61.
149. Santoro. F. Achaem D., Pierce. R., Cesbron J., Ovalque G., Capron A. 1985. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein. P30. *Clin. Exp. Immunol.* 62: 262-270.
150. Sato K., Iwamoto I. Yoshiki K. 1993. Experimental toxoplasmosis in pregnant cats. *J. Vet. Med. Sci. Jp.* 55 (6): 1005-1009.
151. Saavedra R. Hérlon P. 1991. Human T-Cell clone against *Toxoplasma gondii* production of interferon- $\gamma$  e interleukin-2, and strain cross-reactivity. *Parasitology Research* (77):379-385
152. Schaub J.C. 1994. The parasitophorous vacuole membrane surrounding intracellular *Toxoplasma gondii*. functions as a molecular sieve. *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 91 (2): 509-513.
153. Schmidt G.D., Roberts L.S. 1986. Fundamentos de Parasitología. Ed. CECSA. 1a, ed. 130-151.
154. Shahid- Chamran. 1993. Prevalence of toxoplasmosis in humans and domestic animals in Ahwaz. Iran. *J. Trop. Med. Hyg.* 96. (3): 163-168.
- 154a. Sereno G.JL. 1986 Estudio inmunológico de toxoplasma en mujeres de la Ciudad de Morelia. "tesis de licenciatura de Médico veterinario UMSNH.
155. Shengren J N., Lunde M N., Simon H B. 1976. Chronic lymphadenopathic toxoplasmosis with marked hyperglobulinemia and impaired delayed hypersensitivity response during active infection. *Am. J. Med.* 60. 300-305.
156. Shirahata T; Yamashita T. Ohta C., Goto H., Nakane A. 1994. CD8+ T lymphocytes are the major cell population involved in the early gamma interferon, IL-2 response and resistance to acute primary *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Microbiol-Immunol.* 38 (10): 789-796.
157. Shuneman d' Aluja. A. Aguilar P. 1977. *Toxoplasma gondii* en gatos domésticos del Distrito federal. *Gaceta Med. (Mex)*. 113. (10 ): 455-459.
158. Sibley L.D. 1993. Interaction between *Toxoplasma gondii* and its mammalian host cells. *Semin Cell. Biol.* US. 4 (5): 335-344.

159. Skinner L.J., Chatterton J.M., Joss A. W., Moir L.L. 1989. The use of an IgM immuno-sorbent agglutination assay to diagnose congenital toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 28 (2): 125-130.
160. Smith K.A. 1980. The functional relationship of the interleukins. *J. Exp. Med.* 151: 1551-1554.
161. Smith, K.A. 1988. Interleukin-2. *Science.* 240: 1169-1173.
162. Smith. K. E., Zimmerman J.J., Patton. S., Beran G. W., Hill. H. T. 1992. The epidemiology of toxoplasmosis on Iowa farms an emphasis on the roles on free-living mammals. *Vet Parasitolol.* 42 ( 3-4) 199-211.
163. Splendore A. 1908. Un nuevo protozoa parasite dei conigli. *Rev. Soc. S. C. Sao Paulo.* 3: 109-112.
164. Stephen A.D., Finkelstein B.M., Finkelstein AR. 1986. Antimicrobial activity of human milk against pediatric pathogens. *J. Infect Dis.* 154. 4: 722-725.
165. Stewart R. L., Humphrey J. G., Dubey J. P. 1995. *Toxoplasma gondii* antibodies in Woodchucks . ( *Marmota monax*) from Pennsylvania. *J. Parasitol.* 81 (11): 126-127.
166. Subauste C. S., Konaris A. H., Remington JS. 1991. Murine CD8+ Cytotoxic T lymphocytes lyse *Toxoplasma gondii*-infected cells. *J. Immunol.* 147 (11): 3955-3959.
167. Subauste C.S., Remington J.S. 1993. Immunity to *Toxoplasma gondii*. *Curr Opin. Immunol.* 5 (4): 532-537.
168. Stite D. P., Abbas I. T. 1996. Inmunología básica y clínica. 8 ed. México, Manual modern ED. 121-144
169. Suzuki Y., Thuilliez P., Desmots G., Remington J. 1988. Antigens responsible for immunoglobulin G responses specific for the acute stage of *Toxoplasma* infection in humans. *J. Clin. Microbiol.* 26 (5): 901-910.
170. Suzuki Y., Joh K. 1990. Use of acute stage specific antigens of *Toxoplasma gondii* for serodiagnosis in Toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 29 (8): 17-34.
171. Tay J., Ayala R. 1970. Acción de diferentes agentes físicos y químicos sobre una cepa de *Toxoplasma gondii*. *Rev. Latinoamer. Microbiol.* 12: 3-5.
172. Tay J., Gutierrez QM., Romero. C.R. Barboza L., Fernandez P. AM. 1991. Estudio sobre toxoplasmosis en niños con síndrome de parálisis cerebral infantil. *Rev. Latinoamer. Microbiol.* 1991.(en prensa)
173. Tsudo M. 1987. The p75 peptide is the receptor for interleukin-2 expressed on large granular lymphocytes responsible for interleukin-2 activation of natural killer cells. *J. Clin. Invest.* 81: 200-208
174. Turunen H., Vuorio K. A., Lienki P.D. 1983. Determination of IgG, IgM and IgA antibody responses in human toxoplasmosis by ELISA. *Scand J. Infect.* 15. 307-309.
175. Van Weemen B. K; Schuur A. H. 1971. Immunoassay using antigen enzyme conjugates. *Fed. European Bioch. Soc. Letters.* 15: 232-237.
176. Van de Ven E., Melcher W., Galana J., Campos W., Meuwissen J. 1991. Identification of *Toxoplasma gondii* by B1 gene amplification. *J. Clin. Microbiol.* 29(10) : 2120-2124.
177. Varela G. Roch E. Zavaala J. 1961. Estudio sobre toxoplasmosis. *Sal. Pub. Mex* 5 (3): 451-454.
178. Velasco C. O., Valdespino J.L., Salvatierra I. Sedano L, Galindo U.S. 1991. Seroepidemiología de la toxoplasmosis en México. *Rev. Sal. Pub. Mex* 222-229.
179. Villegas G.J., Portilla A J., Fustag D. S. 1977. Aspectos anatomoclinicos de la Toxoplasmosis (52 casos)". *Gac. Méd. Mex.* 113: 461-480.

180. Voller A., Bidwell D E., Bartlett E.R. 1976. Enzyme immunoassay in diagnostic medicine. *Bull. W.H.O.* 53; 55-65.
181. Wallace G. D. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by filth flies. *Am.J. Trop. Med. Hyg.* 20; 411-413.
182. Walls K.W. 1977. Use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its microadaptation for the serodiagnosis of Toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 5: 273-277.
183. Warren J., Sabin A.B. 1942. The complement fixation reaction in toxoplasmosis infection. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 51: 11-16.
184. Weaver A.A., Rudolf H.E., Randall M. 1984. Secretion of immunoglobulin A by human milk leucocytes incited by surface membrane stymuly. *J. Immunol.* 132 (2): 684-690.
185. Welch P. C., Masur H., Jones T. C., Remington J. S. 1980. Serologic diagnosis of acute lymphadenopathic toxoplasmosis. *J. Infect. Dis.* 142.(1): 256-264.
186. Webster J.P. 1994. Prevalence and transmission of *Toxoplasma gondii*. in wild brown rats. *Rattus norvegicus*. *Parasitology.* 108 (4): 407-411.
187. Wetzel R.M., Dubey J.P., Siegel A. M., Kriton U. D. 1995. Risk factor for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. *J. parasitol.* 81 (5): 736-741.
188. Wilson C.B., Remington J. S., Stagno S. 1980. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital toxoplasma infection. *Pediatrics.* 66: 767-774.
189. Wilson C.B., Tami V., Remington J. S. 1980. Failure to Trigger the oxidative metabolic burst by normal macrophage. possible mechanism for survival of intracellular pathogens. *J. Exp. Med.* 151: 328-346.
190. Wilson C.B., Remington J. S. 1980. Lymphocytes transformation in the diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection. *N. Eng. Med.* 301: 785-790.
191. Wolf A., Cowen D. 1937. Granulomatus encephalomyelitis due to an Encephalitozoon. (Encephalitozoi Encephalomyelitis). *Bull. Neurol. Inst New York.* 6: 306-312.
192. Wolf A., Cowen D. 1940. Toxoplasmic encephalomyelitis IV. Experimental transmission of the infection to animales from a human infant. *J. Exp. Med.* 71: 187-192.
193. Wrablic J., Stanik R., Catar G., Holkova R., Nemecek R., 1992 The role of *Toxoplasma gondii* in the etiology of chronic otitis in children. *Ustav Lek. Listy Czeche.* 93 (1): 16-19.
194. Yamamoto M., Konishi F. 1993. Prevalence of antibody to *Toxoplasma gondii*. among inhabitants under different geographical and climatic conditions in Hyogo prefecture. Japon. *J. Med. Sci. Biol.* 46 (3): 121-129.
195. Zaman V., Colleg F.C. 1972. Ultrastructural study of penetration of macrophagus by *Toxoplasma gondii*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 66: 781-792.
196. Zuber P., Jaquier P. 1995. Epidemiology of Toxoplasmosis: Worldwide status. *Schweiz. Med. Wochenschr. Suppl.* 65. (1) 19-22.