

Estudios sobre la Incidencia de Anticuerpos Séricos para Toxoplasma en las Poblaciones de Maracaibo y un Pueblo Rural del Estado Zulia y Comparación de tres Métodos Serológicos distintos

Dr. Helman Serrano
Doctor en Ciencias Médicas.
Profesor Agregado de Inmunología
en la Facultad de Medicina
de la Universidad del Zulia.

PREFACIO

En conversaciones sostenidas con colegas especialistas en los campos de Pediatría, Oftalmología, Obstetricia y Neurología obtuve la impresión de que en su práctica diaria se habían encontrado con casos clínicos en los cuales se había sospechado como toxoplasmosis, pero les había sido imposible confirmar el diagnóstico clínico por métodos de aislamiento del parásito de tejidos supuestamente infectados o por métodos serológicos por no ser estos métodos disponibles o accesibles en nuestro medio hospitalario y de laboratorio diagnóstico.

Considerando que la toxoplasmosis es una infección parasitaria predominante en áreas tropicales y que para poder hacer el diagnóstico serológico de una infección activa o presente es preciso conocer de antemano cuál es la incidencia de anticuerpos para toxoplasma en la población normal y cuáles son los títulos nor-

malmente encontrados, ya que la infección por toxoplasma muchas veces pasa inaparente era mi opinión que antes de implantar un método serológico de diagnóstico rutinario era preciso primero realizar dos pasos previos: a) hacer una encuesta serológica entre la población normal de Maracaibo b) evaluar diferentes métodos serológicos para escoger aquel que fuera más práctico y económico así como menos laborioso para poder ser implantado en cualquier laboratorio de serología de la ciudad.

Estos dos puntos fueron pues el objeto del presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO I

Introducción. Importancia de la infección humana causada por *Toxoplasma Gondii*

CAPITULO II

Material y métodos

CAPITULO III

Resultados

CAPITULO IV

Discusión

CAPITULO V

Conclusiones

CAPITULO VI

Resumen

Lista de abreviaturas

Bibliografía

CAPITULO I

Introducción: Importancia de la infección humana causada por el *Toxoplasma Gondii*.

Hace 66 años Nicolle y Manceaux del Instituto Pasteur de Túnez hallaron por primera vez el *Toxoplasma Gondii* en un roedor del África del Norte, el *Cnetidactylus gondii* y lo clasificaron entre las leishmanias¹. Después de reconocer un año más tarde que el parásito era diferente a las leishmanias, lo denominaron *Toxoplasma gondii* (toxon=arco, plasma=células, gondii=roedor de donde fue aislado). En 1939, Wolf presentó las primeras evidencias de que el parásito era capaz de infectar al humano y producir enfermedades fatales². En 1948, Sabin y Feldman describen el test del colorante (dye test) como útil para el diagnóstico serológico de la toxoplasmosis³. Sesenta años después del descubrimiento del parásito, se reunieron en Noviembre de 1968 en Ginebra los integrantes de un Comité de investigadores sobre toxoplasmosis designados por la Organización Mundial de la Salud para estudiar los últimos progresos realizados en taxonomía, fisiología e inmunología de la toxoplasmosis, así también como aspectos de epidemiología, diagnóstico y terapéutica. Al comenzar la reunión de apertura, el Dr. K. Raska recordó a los asistentes que la toxoplasmosis, siendo una infección muy difundida en diferentes partes del mundo, todavía presentaba aspectos desconocidos⁴.

Características del parásito. Se trata de un protozoario que pertenece a la clase Toxoplasmida dentro del subfilum Sporozoa. La clase Toxoplasmida está constituida por tres familias estrechamente emparentadas: Toxoplasmidae, Besnoitiidae y Sarcocystidae⁴. La familia Toxoplasmidae se caracteriza porque la especie se reproduce por endodiogenia, origina quistes de finas membranas y los zoítos poseen un núcleo vesicular, un conoide, toxonemas y un micropilo, pero no tienen flagelos ni cilios. Su locomoción es por fibrillas subepicilares. También son capaces de formar pseudoquistes. El quiste es un conjunto de zoítos rodeados de una pared fina, resistente y elástica, mientras que el pseudoquiste es un conjunto de trofozoítos presentes en la vacuola interior de la célula huésped infectada. Se reserva el nombre de **trofozoíto** para el parásito que se encuentra dentro de un pseudoquiste, proveniente de una división asexual (endodiogenia) y el de **zoíto** para el microorganismo que se encuentra en el interior de un quiste y también proveniente de una división asexual. Por **endodiogenia** se entiende la producción de dos merozoítos en el interior de la membrana

externa inicial de la célula madre del parásito, que empieza por la formación de dos conoides y la división de su núcleo. Este proceso fue descrito por primera vez para el *Toxoplasma gondii* por Goldman y colaboradores⁵.

Hace tres años Werner y Janitschke⁶ describieron en forma detallada las fases evolutivas del desarrollo y ciclo evolutivo del parásito:

a) una fase **proliferativa** que se desarrolla principalmente en el sistema reticuloendotelial del huésped parasitado y en el exudado peritoneal de los ratones inyectados a través de esa ruta. En esta fase de rápida proliferación dentro de la célula huésped, donde el parásito se multiplica por endodiogenia, se origina el pseudoquiste de donde se liberan nuevos trofozoítos. Los trabajos de Garnham y colaboradores⁷ demostraron que aunque el parásito no produce la membrana entera del pseudoquiste, ciertamente contribuye sustancialmente en su estructura, de tal forma que hay quienes lo denominan como un verdadera quiste⁸.

b) una fase de **quiste**, también por endodiogenia, es una fase de proliferación lenta intracelular, formándose el quiste, en el interior del cual se encuentran los zoítos, rodeados de una membrana doble de origen parasitario. Esta fase quística se lleva a cabo principalmente dentro del sistema nervioso central y en el tejido muscular del huésped parasitado. Van den Zypen y Piekarski⁹, estudiando la ultraestructura de la endodiogenia del *Toxoplasma gondii* se encontraron una forma muy peculiar de división nuclear: la cromatina necesaria para la formación de las células hijas se aglomera formando una estructura electrónicamente densa que ellos denominaron "cuerpo E", éste se divide simulando una formación de huso; la zona sobresaliente de la membrana nuclear se abre y las partes del "cuerpo E" que ya estaban separadas, son expulsadas junto con su parte del material cromatínico no ordenado, formando así la base para los dos núcleos de las células hijas. Esto hace pensar un proceso mitótico parcial que sin embargo se limita al "cuerpo E".

Los toxoplasmas enquistados son resistentes a la acción de la pepsina, mientras que los trofozoítos libres son susceptibles a la acción de la enzima¹⁰. Este hecho proporciona un método útil

para el aislamiento del parásito de órganos y tejidos. Al ser expuesto un zoíto o trofozoíto a la acción del anticuerpo específico, y en presencia de una sustancia termolábil llamada "activador", la membrana del parásito se lisa y el parásito muere³. Aparte del hombre, otros animales poseen un sistema termolábil de suero adicional y diferente del anticuerpo, que es capaz de lisar el parásito³. El ratón, a diferencia del humano, no posee ni el sistema activador ni el sistema inespecífico lítico, lo cual lo convierte en un animal altamente susceptible a la infección, haciéndolo de esta forma el animal ideal para el aislamiento experimental del parásito a partir de muestras de tejidos o líquidos que se sospechen de estar infectados por el parásito.

c) una fase de reproducción llamada **agamogonia**, que se diferencia de la endodogonia por tratarse más bien de una división binaria que origina micro y macrogametocitos y durante la cual se lleva a cabo la fecundación de los macrogametocitos con la formación del cigoto. Es pues ésta, una fase sexuada y se lleva a cabo principalmente en el epitelio del intestino delgado. A la fecundación del macrogameto por uno de los microgametos maduros lo llaman los autores la **fase de gamogonia** o d) **fase de reproducción sexuada**.

e) En la fase de **esporogonia**, después de una división de reducción el cigoto se rodea de una membrana y se transforma en **ooquiste** que al comienzo no es esporulado y en el cual se forman dos esporoblastos posteriormente y al completarse la esporulación el ooquiste contiene 4 esporozoítos en cada esporoblasto. Esta fase se lleva a cabo a nivel del epitelio intestinal del animal huésped infectado. Los autores hacen hincapié en su trabajo ya mencionado⁶ que ellos solo han sido capaces de demostrar este ciclo evolutivo completo en el gato. En este animal, infectado por vía oral con ooquistes maduros, si los quistes llegan al tubo digestivo, por efecto del jugo gástrico, se produce la ruptura del ooquiste y se liberan los esporozoítos. Estos penetran el epitelio, mucosa y submucosa del intestino delgado o llegan a los ganglios linfáticos del intestino delgado atravesando el mesénquima de las vellosidades. En los tejidos linfáticos pueden ocurrir una o dos fases proliferativas y por vía sanguínea y linfática se diseminan

a otros tejidos: músculo y sistema nervioso central y retina donde pueden producir lesiones y formar quistes en los músculos y tejido nervioso.

Transmisión de la infección. Los trofozoítos y las formas quísticas de toxoplasma pueden entrar al organismo por diferentes vías. Las formas vegetativas del parásito sobreviven muy poco fuera del organismo huésped y las infecciones humanas adquiridas después del nacimiento se deben a la ingestión de alimentos infectados con quistes^{11 12 13 14} ya que los trofozoítos pueden ser destruidos por el jugo gástrico. Experimentalmente se ha demostrado que quistes provenientes de heces de gato pueden infectar animales de experimentación^{15 16} lo cual sugiere que estas formas pueden ser infectantes en animales domésticos y en el hombre¹⁷. La carne y, con mucha menor frecuencia, los huevos pueden contener quistes de *Toxoplasma*, de forma que carnívoros y omnívoros pueden adquirir la infección al comerlos. La transmisión de la toxoplasmosis por medio de heces de gatos infectados con *Toxoplasma* puede ser en forma directa por los quistes del parásito en las heces o por intermedio de un nemátodo, el *Toxocara canis*, cuyos huevos pueden servir de reservorios a los quistes del toxoplasma^{18 19 20}. Se considera comúnmente que la infección se propaga de preferencia entre los animales y de éstos al hombre. Habiéndose demostrado la infección en muchas especies de animales domésticos y silvestres^{21 22 23 24 25 26} la transmisión de toxoplasma de los animales al hombre puede ocurrir por consumo de carne cruda o semicruda habiendo una estrecha relación entre el índice de infección de una población con el índice de infección de los animales de la región y los hábitos alimenticios de la población humana^{11 27 28 29 30 31}. No solamente la carne cruda o poco cocida puede servir de vía de trasmisión al humano como lo demostró la encuesta realizada en una población hindú de Bombay, en la cual se encontró cierta incidencia de toxoplasmosis por lo que se presume que vegetales contaminados por heces infectadas pueden servir de vía de transmisión³². Otras vías menos comunes serían la leche de vaca, cabra y huevos de gallina y otras aves^{23 26 33 34}. El único mecanismo de trasmisión de la toxoplasmosis entre los seres humanos que se ha podido demostrar hasta ahora es el paso trasplacentario de madre a feto^{35 36 37}. Otros au-

tores han sugerido la transmisión directa por vía oral en humano basado en el hallazgo de toxoplasma en saliva y amígdalas humanas^{11 38 39}.

Formas clínicas de la infección. La penetración del parásito por cualquier vía produce daño tisular localizado por invasión intracelular, multiplicación intracelular y ruptura de la célula huésped con la liberación de más parásitos el cual a través de vías sanguíneas y linfáticas provoca una infección generalizada constituyendo esta fase la toxoplasmosis aguda la cual puede presentarse como un síndrome benigno que puede pasar desapercibido como una infección viral febril o bien puede provocar adenopatías, atribuyéndose a la toxoplasmosis hasta un 15% de las adenopatías inespecíficas o de origen desconocido, en algunos países; otras veces el cuadro clínico es más grave, con fiebre, erupción cutánea, malestar general, dolores musculares, neumonía, miocarditis y meningoencefalitis; otra localización de la infección puede ser el tracto uveal del ojo causando uveítis o la retina causando retinitis que puede llevar a la ceguera; puede localizarse en el útero siendo causa de abortos o de transmisión congénita de la infección y el niño puede nacer muerto o presentar diversas combinaciones de los siguientes signos: fiebre, hepatoesplenomegalia, erupción cutánea, púrpura, ictericia, lesiones del sistema nervioso central con sordera, microcefalia, retardo mental; lesiones retinianas con o sin ceguera. En casos de pacientes recibiendo terapia inmunosupresora o padeciendo de una inmunodeficiencia se han observado casos de toxoplasmosis diseminada a varios órganos y tejidos^{4 40 41 42}.

Con la aparición y el aumento progresivo de las defensas inmunitarias del huésped, los parásitos extracelulares desaparecen de la sangre y los tejidos, y al mismo tiempo se frena su multiplicación intracelular. Si el individuo está dotado de adecuadas defensas inmunitarias se puede producir en esta etapa un estado de equilibrio entre huésped y parásito: se puede originar la fase de enquistamiento del parásito en los tejidos previamente invadidos; los toxoplasmas pueden permanecer en estado latente en los quistes formados dentro de los tejidos del huésped: a esta fase de infección se le llama infección latente o crónica, pero que puede tener momentos de reactivación por ruptura de los quistes. A pesar de producirse anticuerpos anti-toxoplasma, la inmunidad es solo par-

cialmente efectiva: no es pues propiamente un estado de inmunidad total, sino uno de premunición, es decir la infección persiste en forma latente mientras se mantenga el equilibrio entre huésped y parásito.

CAPITULO II

Material y métodos

Descripción del medio: El estudio seroepidemiológico fue desarrollado principalmente en la ciudad de Maracaibo, ciudad del N.O. de Venezuela, capital del Estado Zulia y del Distrito Maracaibo, con una población cercana a los 800.000 habitantes en el área metropolitana; está situada en la orilla occidental del estrecho que comunica el Lago de Maracaibo con el Golfo de Venezuela. La ciudad está integrada por las partes urbanas de los municipios Bolívar, Coquivacoa, Cristo de Aranza, Chiquinquirá, Santa Bárbara, Santa Lucía, Cacique Mara y San Francisco. Desde 1962, las poblaciones de Santa Rita, Barrancas, Palmarejo y Altagracia en la costa oriental del estrecho o Barra de Maracaibo quedaron incorporadas al área metropolitana de la ciudad de Maracaibo mediante un puente de fácil acceso.

El clima es caluroso y húmedo por estar situada al nivel del mar. La temperatura media anual es de 28,3 grados C. y la humedad relativa media anual es de 78% con una precipitación anual de 747 mm., variando el promedio mensual de 1,4 mm. a 12,8 mm.

Se seleccionaron 4 centros asistenciales como centros pilotos para la recolección de muestras en la ciudad de Maracaibo: Hospital Universitario, Hospital General del Sur, Hospital Coromoto y Unidad Central del Banco de Sangre del Edo. Zulia. De Enero de 1971 a Junio de 1974 se recogieron 300 muestras de cada Centro asistencial, alcanzándose un total de 1.200 sueros entre los cuatro centros.

Métodos de muestreo: Los sueros recolectados en ese tiempo del estudio representaban personas de ambos sexos, con una distribución por edad satisfactoria dentro de cada década de 10 a 60 inclusive y de 5 a 10 años. Solamente se incluyeron en este grupo de la ciudad de Maracaibo, las personas cuya residencia

se encontraba en el área metropolitana de la ciudad de Maracaibo y que habían vivido un mínimo de seis meses en la misma.

La Tabla I muestra la distribución por edad y sexo de las personas que suministraron sueros en los 4 centros asistenciales, comprendidos entre los 5 y los 60 años.

Se incluyeron además 50 muestras de sueros de niños comprendidos entre las edades de 6 meses y 4 años de vida, obtenidas de casos hospitalizados en el Servicio de Pediatría y Retén de los Hospitales Coromoto, Universitario, de Niños, de Maracaibo. Intencionalmente no fueron incluidos niños comprendidos entre las edades de 0 días a 5 meses de vida debido al hecho de la transmisión placentaria de anticuerpos IgG para *Toxoplasma gondii*⁴².

TABLA I

Distribución por edad y sexo de personas del área metropolitana de Maracaibo

Grupo de edad (años)	Porcentaje y número de personas en cada grupo de edad	Porcentaje de personas del sexo masculino en cada grupo de edad
5 — 9	3.6% (43)	61%
10 — 14	6.8% (82)	53%
15 — 19	20.8% (250)	58%
20 — 29	22.8% (273)	66%
30 — 39	20.8% (250)	55%
40 — 49	13.4% (160)	66%
50 — 60	11.8% (142)	64%
TOTAL	100.0% (1200)	—

La Tabla II muestra la distribución por edad y sexo del grupo de niños de 6 meses a 5 años (4 años, 11 meses).

TABLA II

Grupo de edad	Porcentaje y número de niños en cada grupo de edad	Porcentaje y número de niños del sexo masculino en cada grupo
6 — meses — 23 meses	40% (20)	65% (13)
2 años — 4 años, 11 m.	60% (30)	57% (17)

A estos dos grupos de poblaciones urbanas tuvimos la fortuna de poder agregar otro grupo de población rural, gracias a la gentileza de la Dra. Slavia Ryder, del Instituto de Investigaciones Clínicas de la Universidad del Zulia, quien nos suministró 314 sueros provenientes de una encuesta serológica para encefalitis equina venezolana realizada en el año 1967⁴³. Los sueros habían sido almacenados a —70 grados C. y provenían de personas residentes de la población de Paraguaipoa, de descendencia guajira indígena. La población de Paraguaipoa se encuentra en la zona guajira del Estado Zulia, perteneciente al Distrito Páez del Estado y contaba para esa fecha con una población de 1972 habitantes⁴³.

Paraguaipoa se encuentra en terreno llano, semiárido y caluroso con temperaturas medias entre 26 y 29 grados C.; situada geográficamente al norte de la Laguna de Sinamaica. De las 314 muestras, 129 pertenecían a niños y adultos de sexo femenino (41.08%) estando así también predominante en este grupo el sexo masculino.

La Tabla III nos muestra la distribución por edad y los porcentajes correspondientes, al sexo masculino.

TABLA III

Población de Paraguaipoa

Grupo de edad	Porcentaje y número de personas en cada grupo de edad	Porcentajes del sexo masculino en cada grupo
5 — 9	2.23% (7)	59%
10 — 14	54.46% (171)	53%
15 — 19	24.20% (76)	61%
20 — 29	5.73% (18)	58%
30 — 39	6.69% (21)	60%
40 — 49	4.46% (14)	56%
50 — 60	2.23% (7)	59%
TOTAL	100.00% (314)	—

Pruebas serológicas.

A pesar de que la reacción de Sabin-Feldman o dye-test⁴⁴ es de indiscutible valor en lo que se refiere a especificidad y sensibilidad su técnica es tan laboriosa y engorrosa e involucra un alto riesgo de infección accidental en el laboratorio que fue preciso sustituirla por métodos más simples. En nuestro estudio, decidimos evaluar en nuestro laboratorio tres métodos diferentes con el fin de seleccionar aquel que fuera más práctico y sencillo de realizar para uso rutinario en un laboratorio diagnóstico cualquiera. Cien sueros de los obtenidos en la encuesta fueron seleccionados al azar y junto con sueros controles positivos y negativos procedentes del Laboratorio de Parasitología del Centro de Enfermedades Contagiosas de Atlanta, U.S.A., y sueros controles de origen comercial (Virgo Reagents*, Canalco Diagnostics** Behringwerke Ag*** fueron probados usando los siguientes métodos: Reacción de Hemaglutinación indirecta (HAI) por el método de Jacobs y Lunde^{45 46}, Reacción de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) de acuerdo con el método original de Fletcher⁴⁷, con modificaciones de Walton y colaboradores⁴⁸ y de Sulzer y Hall⁴⁹ y siguiendo las recomendaciones del Centro de Enfermedades Contagiosas (Center for Disease Control, CDC) dadas en el Manual de Procedimientos editado sobre este particular⁵⁰; y el tercer método probado fue el de la reacción de fijación de complemento (RFC) siguiendo las recomendaciones técnicas dadas por Kagan y Norman⁵¹.

En la técnica de IFI se utilizaron como antígenos, toxoplasma procedente de exudado peritoneal provenientes del Laboratorio de Parasitología del CDC y otros provenientes del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina de LUZ, gentilmente suministrados por el Dr. Gustavo Perruolo. También se utilizaron láminas previamente preparadas con el antígeno suministradas por Virgo Reagents de U.S.A.*.

* VIRGO REAGENTS, Electro-Nucleonics Laboratories, Inc., Bethesda, Maryland.

** CANALCO DIAGNOSTICS, Canalco, Inc. Rockville, Maryland, U.S.A.

*** BEHRINWERKE AG, Marburg-Lahn, Alemania.

En la técnica de HAI se utilizó un antígeno de toxoplasma proporcionado por el Laboratorio de Parasitología del CDC de U.S.A., y a manera de comparación utilizamos un equipo o "kit" comercial que ya trae los eritrocitos sensibilizados con el antígeno, siendo los eritrocitos estabilizados para poder ser utilizados hasta por seis meses (Canalco Diagnostics).

En la técnica de RFC se utilizó el antígeno suministrado por los laboratorios comerciales de Behrinwerke AG. Se intentó utilizar este mismo antígeno en la técnica de HAI pero debido a su poca sensibilidad (Título 1:2) fue desechado su uso para la técnica de HAI.

Los métodos de HAI y RFC fueron adaptados a la técnica de microtitulación en placas plásticas con pocitos u hoyitos en "U" según las recomendaciones de Kagan y Norman⁵¹.

Se incluyeron en cada prueba serológica dos sueros testigos: positivo y negativo.

CAPITULO III

Resultados

La Tabla IV muestra los resultados obtenidos al montar 100 sueros tomados al azar con tres técnicas serológicas diferentes: reacción de fijación de complemento (RFC), hemaglutinación indirecta (HAI) e inmunofluorescencia indirecta (IFI).

TABLA IV

Títulos Serológicos	Número de sueros positivos para cada método		
	HAI	IFI	RFC
1:2	24	30	5
1:4	18	11	2
1:8	8	10	1
1:16	5	2	1
1:32	3	1	1
1:64	2	1	0
1:128	1	1	0
1:256	1	1	0
1:512	1	0	0
1:1024	0	0	0
1:2048	0	0	0
1:4096	0	0	0
% Positividad	63%	57%	10%

La Tabla IV nos muestra que tanto la técnica de HAI como la de IFI detectan un alto porcentaje de sueros positivos; sin embargo trabajos previos realizados por otros investigadores han demostrado que cuando se utiliza la técnica de HAI un 70% de las reacciones positivas por debajo de títulos de 1:200 son inespecíficas puesto que pueden ser absorbidas o negativizadas por antígenos inespecíficos no-toxoplasmas; el otro 30% probablemente representa niveles bajos de anticuerpos anti-toxoplasma persistentes en un porcentaje de la población normal. Para los efectos de diagnóstico serológico con la técnica de HAI sólo se consideran de verdadero valor significativo reacciones positivas por encima de 1:200^{51 52 53}.

En la técnica de IFI títulos de 1:16 — 1:64 generalmente reflejan una infección pasada, quizás hasta de hace años. También podría significar una infección muy reciente con un título apenas elevándose (Aproximadamente un 30% de la población normal puede tener títulos positivos de esta categoría)⁵⁰. En la misma técnica de IFI títulos de 1:128-1:256 generalmente indican una infección muy reciente y si la infección permanece activa habrá elevación ulterior del título positivo⁵⁰. Títulos de 1:512-1:1024 en la técnica de IFI son muy sospechosos de una infección activa y deberá esto confirmarse con una segunda muestra serológica⁵⁰.

Títulos de RFC de más de 1:32 son sospechosos de una infección aguda activa pero aparentemente este método solamente produciría resultados positivos en la fase aguda de la infección toxoplasmática⁵⁴.

La Tabla V nos muestra el grado de concordancia entre los resultados obtenidos con esas cien muestras preliminares usando diferentes reactivos para las pruebas de HAI e IFI (reactivos del C.D.C. de Atlanta para las pruebas de HAI e IFI, y reactivos de los laboratorios VIRGO para la prueba de IFI y reactivos de los laboratorios CANALCO para la prueba HAI).

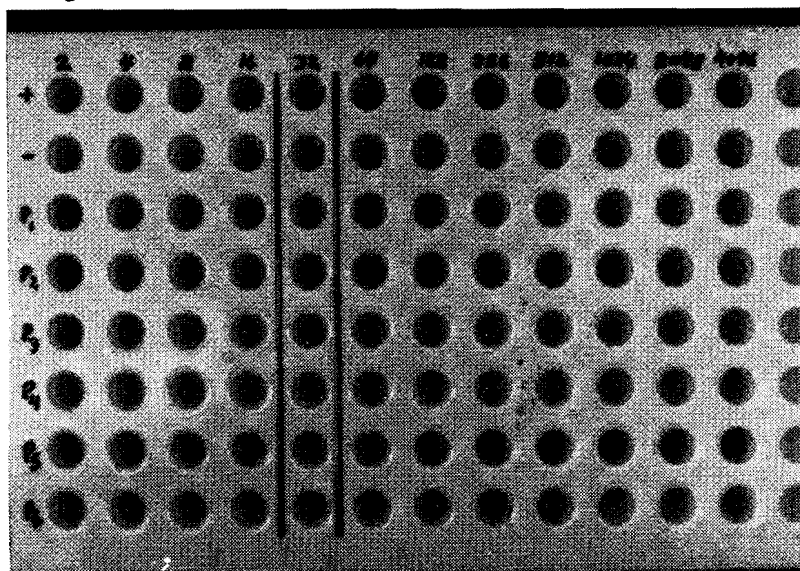
TABLA V

Concordancia en positividad y títulos	94%	96%
Concordancia en negatividad	99%	98%
	Canalco y C.D.C.	Virgo y C.D.C.
	Hemaglutinación indirecta	Inmunofluorescencia indirecta

Debido a que la técnica de HAI realizada con los reactivos CANALCO es mucho más sencilla, menos laboriosa, consume menos tiempo y existiendo estudios realizados previamente donde se demostró una concordancia excelente entre la prueba HAI y la prueba de Sabin-Feldman⁵³ el autor decidió continuar utilizando el conjunto de reactivos suministrados por los Laboratorios Canalco para la prueba de HAI en todo el estudio sero-epidemiológico.

La Foto No. 1 nos muestra una placa de microtitulación CANALCO con la hilera de hoyitos o pocitos. En sentido horizontal se encuentran las diluciones seriadas al doble de cada suero, desde 1:2 hasta 1:4096. La primera hilera corresponde a un suero control positivo y la segunda hilera a un suero control negativo. Las restantes hileras desde P1 hasta P6 son sueros problemas. La dilu-

Foto No. 1



Placa de microtitulación canalco con eritrocitos tanicados y sensibilizados con el antígeno toxoplasma

Horizontal: Diluciones seriadas al doble 1:2 al 1:4096 para cada suero. Vertical: Sueros controles positivo (+), negativo (-) y sueros problemas P1 al P6.

ción de 1:32 fue utilizada para control de eritrocitos tanicados no sensibilizados con el antígeno de *Toxoplasma*. Puede observarse cómo el suero control positivo presenta aglutinación hasta la dilución de 1:4096 y así mismo lo hace el suero problema P5, mientras que el suero problema P₂ presenta aglutinación hasta la dilución de 1:512.

FIGURA No. 1

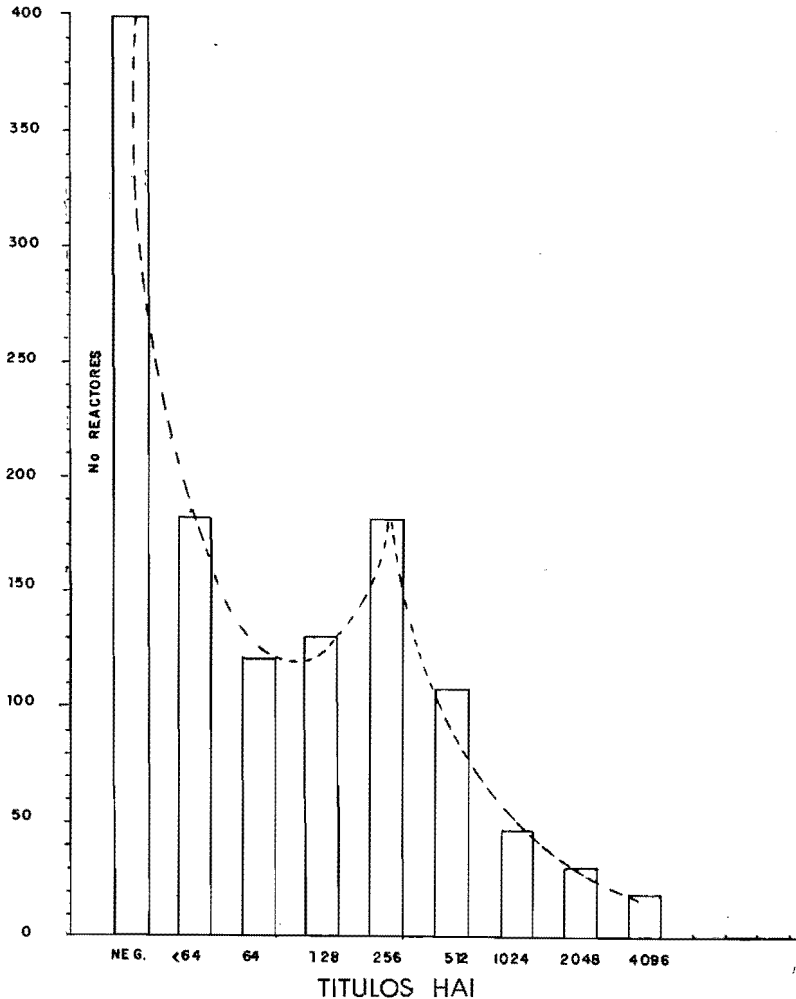


Figura No. 1. Distribución de la frecuencia de títulos de hemaglutinación para toxoplasmosis entre la población urbana de Maracaibo.

Los resultados obtenidos en la población urbana del área metropolitana en la ciudad de Maracaibo fueron los siguientes: 33.33% negativos o no reactivos; 34.84% reactivos con títulos entre 1:2 y 1:128 (estando distribuidos de la siguiente manera, 180 con títulos por debajo de 1:64; 120 con título de 1:64 y 128 con título de 1:128); 31.83% reactivos entre títulos de 1:256 y 1:4096 (180 con título de 1:256; 104 con títulos de 1:512; 48 con título de 1:1024; 32 con título de 1:2048 y 18 con título de 1:4096). Estos resultados están expresados en la Figura No. 1 y representan las 1.200 muestras procedentes del área metropolitana de personas comprendidas entre las edades de los 5 años a los 60 años.

FIGURA No. 2

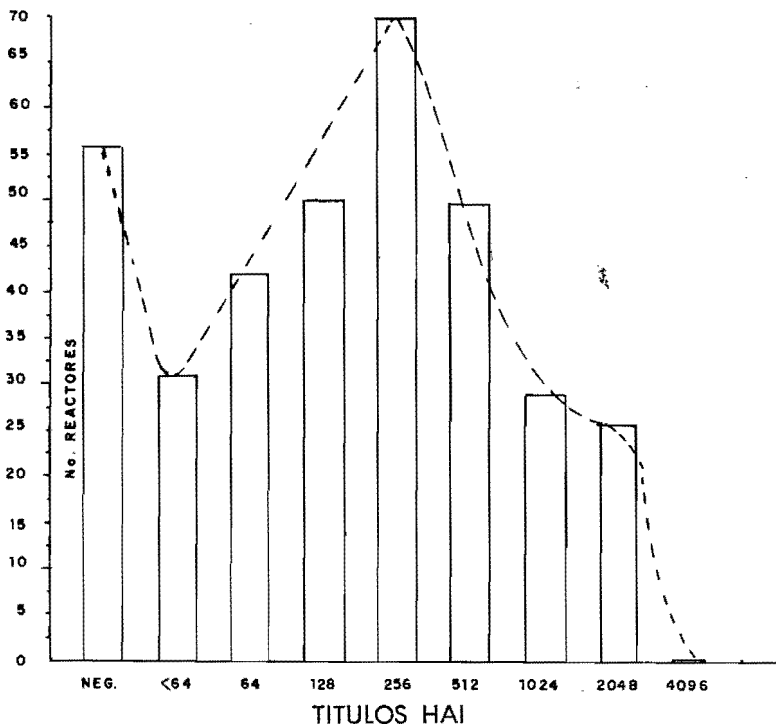


Figura No. 2. Distribución de la frecuencia de títulos de hemaglutinación para toxoplasmosis entre la población rural de Paraguaipoa.

La población de Paraguaipoa representada por 314 muestras mostró una mayor tendencia a la positividad o reactividad serológica ya que solamente un 17.83% fue negativo, mientras que un 32.81% presentó títulos positivos entre 1:2 y 1:128 (31 por debajo de 1:64; 42 en 1:64 y 50 en 1:128); y 49.36% presentaron títulos positivos entre 1:256 y 1:4096 (70 en 1:256; 49 en 1:512; 26 en 1:1024 y 10 en 2048). La figura No. 2 expresa en forma más sencilla los resultados obtenidos en esa población rural.

TABLA VI

Distribución por edades de reactores positivos a la prueba de hemaglutinación indirecta con antígeno de toxoplasma Gondii en 1564 sueros procedentes del área urbana de Maracaibo y área rural de Paraguaipoa.

Grupo de edad	Nº de sueros investigados	% Positivos (\cong 1:256) %
6 meses — 23 meses	20	0
2 años — 4 años	30	3.3
5 — 9 años	50	10
10 — 14 años	253	13.8
15 — 19 años	326	26.3
20 — 29 años	291	38.1
30 — 39 años	371	33.9
40 — 49 años	174	36.5
50 — 60 años	149	33.4

En cuanto a la incidencia de anticuerpos anti-toxoplasma en personas del sexo masculino y del sexo femenino no observamos alguna diferencia significativa en ninguno de los diferentes grupos de edades estudiados. Reuniendo las 1.200 muestras de área urbana con las 314 del área rural y las 50 muestras de niños menores de 2 años fue posible determinar la incidencia de la infección toxoplásmica en las diferentes edades de la vida a partir de los 6 meses de vida. La Tabla VI muestra la frecuencia de títulos significativos en las 1.564 muestras procesadas.

CAPITULO IV

Discusión

Las encuestas serológicas y epidemiológicas realizadas en diversos países con el fin de determinar la incidencia de la infección toxoplásmica ha permitido llegar a la conclusión de que entre el 30 y 50 % de los adultos aparentemente sanos entre los 30 y 40 años de edad ya han sufrido la infección por *Toxoplasma gondii*^{29 30 53 85}. Todos los trabajos seroepidemiológicos realizados tienden a señalar varios aspectos importantes en relación con la infección por *Toxoplasma gondii*: a) la incidencia de la infección aumenta con la edad; b) está relacionada con factores geográficos y climáticos; c) está condicionada por hábitos alimenticios, higiénicos y socio-económicos; d) está influido por tipo de trabajo y se ha podido establecer inequívocamente que a mayor contacto con animales aumenta el riesgo de la infección. El Dr. Alberto Maekelt y sus colaboradores han sido pioneros en el estudio de la Toxoplasmosis en Venezuela, habiendo realizado importantes encuestas epidemiológicas en la ciudad de Caracas^{59 64 70} observando que un 47 % de las muestras estudiadas presentaban títulos positivos para HAI por encima de 1:128, mientras que la prueba de toxoplasmina realizada en 290 mujeres gestantes fue positiva en un 62 %.

Si comparamos nuestro estudio con algunos de los trabajos realizados por otros autores sobre la seroepidemiología de la Toxoplasmosis, tales como los de Walls y Kagan en los Estados Unidos y Brasil^{53 86} y Goldsmith y colaboradores en México⁸⁷ podemos concluir que la distribución de los títulos de hemaglutinación en nuestra población estudiada es muy similar a la observada por los mencionados autores Walls y Kagan en Estados Unidos y Brasil en donde estudiaron grandes números de muestras: 2.429 en Estados Unidos y 2.889 en Brasil^{53 86}. La curva obtenida es una curva bimodal y la forma de las curvas es casi idéntica, diferenciándose solamente en la magnitud de los picos lo cual representa las tasas de incidencia mayor o menor en las diferentes poblaciones estudiadas: en la población de Brasil se encontró una incidencia del 56.4 % de reactores a un título de 1:64 o mayor; en Estados Uni-

dos la incidencia fue de 24.4%; mientras que en nuestro estudio conseguimos resultados intermedios para nuestra población urbana, ya que la incidencia de reactores con títulos de 1:64 o más fue de 41.8%, aunque sólo un 31.8% presentaban títulos por encima de 1:128, nivel considerado epidemiológicamente significativo⁵³. Por otra parte nuestra población rural incluida en este estudio (menos de 2.400 habitantes) presentó una incidencia de 49.3% con títulos por encima de 1:128, lo cual es algo mayor que la incidencia de positividad en el muestreo de la población rural de Brasil que fue del 43%. De todas maneras en ambas encuestas seroepidemiológicas la incidencia de anticuerpos antitoxoplasma fue mayor en la población rural que en la urbana hablando esto una vez más en favor de la importancia del contacto con animales para la transmisión de la infección por *Toxoplasma gondii* lo cual ya ha sido postulado por otros autores^{88 89 90}.

En nuestro estudio, después de analizar la incidencia de la infección en las diferentes edades, puede verse claramente en la Tabla VI que la infección comienza a hacerse evidente a partir de los 2 años de edad y aumenta progresivamente su incidencia hasta los 20 años de edad a partir de la cual tiende a estabilizarse con un promedio de tasa de infección que varía entre el 33.4% y el 38.1% desde la edad de 23 años hasta los 60 años.

CAPITULO V

Conclusiones.

De los resultados obtenidos en nuestra encuesta seroepidemiológica hemos concluido lo siguiente:

1.— De todas las pruebas serológicas para investigar anticuerpos anti-toxoplasma con índice de infección por el parásito la prueba de la hemaglutinación indirecta es más práctica cuando se aplica a muestras de suero de individuos por encima de los 6 meses de edad.

2.— Para un Laboratorio de Serología que se dedique fundamentalmente al Diagnóstico y no a la investigación, los reactivos suministrados por los Laboratorios Canalco simplifican aún más

la prueba ya que suministran los eritrocitos ya sensibilizados, tancados y estabilizados con una vida útil bastante razonable aunque tienen la desventaja del costo mucho mayor.

3.— También en nuestro medio los títulos por encima de 1:128 en hemaglutinación son de verdadero valor significativo diagnóstico, como lo corroboró la curva de la tasa de incidencia de anticuerpos.

4.— Después de los 20 años de edad de un 33 a un 38 % de nuestra población urbana ha padecido infección por *Toxoplasma gondii*.

5.— No existen diferencias de incidencia de la infección entre los sexos masculino y femenino.

6. Esta encuesta serológica sentará las bases para una mejor interpretación diagnóstico en casos clínicos sospechosos de padecer la infección.

7.— La toxoplasmosis es una infección por muchos médicos olvidada al considerar muchas condiciones clínicas susceptibles a ser causadas por el parásito y todos los laboratorios de rutina diagnóstica serológica deberían implantar esta técnica dentro de su armamentario diagnóstico.

CAPITULO VI

Resumen

En este trabajo se realizó una encuesta serológica con 1.564 sueros provenientes de individuos procedentes de las áreas urbana de Maracaibo y rural de Paraguaipoa, desde las edades de 6 meses hasta los 60 años.

Se observó una incidencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii*, utilizando el método de hemaglutinación indirecta, de un 31.8 % de positividad con títulos por encima de 1:128 en la población urbana de Maracaibo y de un 49.3 % de positividad por encima de 1:128 en la población rural de Paraguaipoa.

Aparentemente la incidencia de infección adquirida en niños menores de 2 años es prácticamente nula o ausente. La incidencia de anticuerpos es mayor entre la población rural.

Summary

A serology survey was done with 1.564 serum samples from urban population of Maracaibo and rural population of Paraguaipoa, including persons from 6 months to 60 years old.

Using the indirect hemagglutination technique, an incidence of 31.8% was found among the urban population of Maracaibo and 49.3% among the rural population of Paraguaipoa with positive titer above 1:128, for *Toxoplasma* antibodies.

The incidence of acquired infection in children below 2 years old is apparently absent. The prevalence of *Toxoplasma* antibodies is greater among the rural population.

LISTA DE ABREVIATURAS

- IgG = Inmunoglobulina G
HAI = Hemaglutinación indirecta.
IFI = Inmunofluorescencia indirecta.
RFC = Reacción de fijación de complemento.

AGRADECIMIENTO

El Autor agradece la colaboración proporcionada por los Dres. Gustavo Perruoló y Slavia Ryder en el presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 — **Nicolle, Ch. J. Manceaux, L.:** "Sur une infection a corps de Leishman (on organisms voisins) du gondii" AMPT. REND. ACAD. du SCI. 147:763, 1908.
- 2 — **Wolf, A., Cowen, D., Paige, B.:** "Human toxoplasmosis: occurrence in infants as encephalomyelitis: verification by transmission to animals". SCIENCE 89:226, 1939.
- 3 — **Sabin, A. B., Feldman, H. A.:** "Dyes as microchemical indications of new immunity phenomenon affecting protozoan parasite (toxoplasma)". SCIENCE 108:660, 1948.

- 4 — **Babudieri, B.**, Desmonts, G., Garnham, P.C.C., Jirovec, O. Kulasiri, C. de S. Piekarski, G., Cole, C. R., Jacobs, L., Kagan, I.G., Nobuto, K., Siim, J. Chr., Königshörf, H., Abdussalam, M., Fedman, H. A., Kaplan, M. M.: "Toxoplasmosis: Informe de una reunión de investigadores de la OMS". ORG. MUND. SALUD. SER. INF. TECN. No. 431, 1969. Ginebra, Organización Mundial de la Salud.
- 5 — **Goldman, M.**, Carver, R.K., Sulzer, A.J.: "Reproduction of Toxoplasma gondii by internal budding". J. PARASITOL. 44:161, 1954.
- 6 — **Werner, H.**, Janitschke, K.: "Fases evolutivas, ciclo evolutivo y posición sistemática de Toxoplasma gondii". BOL. CHILENO PARASITOL. 25:57, 1970.
- 7 — **Garnham, P.C.C.**, Baker, J. R., Bird, R. G.: "Fine structure of cystic form of Toxoplasma gondii". BRIT. MED. J. 1:83, 1962.
- 8 — **Feldman, H.A.**: "Toxoplasmosis". N. E. J. M. 179: 1370, 1968.
- 9 — **Vanden Zypen, E.**, Piekarki G.: "Ultraestructura de la endodiogenia en Toxoplasma gondii". BOL. CHILENO PARASITOL. 23:90, 1968.
- 10 — **Jacobs, L.**, Remington, J. S., Melton, M. L.: "Resistance of encysted form of Toxoplasma gondii". J. PARASITOL. 46:11, 1960.
- 11 — **Couvreur, J.**, Desmonst, G., Gerbbaux, J., Lelong, M.: "Les modes de propagation de la Toxoplasmose humaine" ARCH. FR. PEDIATR. 18:1026, 1961.
- 12 — **Desmonts, G.**, Courvreur, J., Alison, F.: "Estude épidémiologique sur la toxoplasmose: de l'influence de la cuisson des viandes de boucherie sur la fréquence de l'infection humaine", REV. FR. ETD. CLIN. et. BIOL. 10: 952, 1965.
13. — **Joseph, R.**, Desmonts, G., Job. J.C., Couvreur, J.: "Adenite Mésenterique localisation initiale probable d'une toxoplasmose acquise" ARCH. FR. PEDIATR. 14:405, 1957.
- 14 — **Remington, J.S.**: Toxoplasmosis: recent developments" ANN. REV. MED. 21:201, 1970.
- 15 — **Frenkel, J.K.**, Dubey, J.P., Miller, N. L.: "Toxoplasma gondii in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts". SCIENCE 167:893, 1970.
- 16 — **Weland, G.**, Kunhn, D.: "Experimentelle Toxoplasma-infektionen bei der ke/ze. II. Entwicklungsstadien des parasiten im darm". TIER WOCHENSCHR 83: 128, 1970.
- 17 — **Dubey, J. P.**, Miller, N. L.: Grenkel, J. K.: "Characterization of the new fecal form of toxoplasma gondii. J. PARASITOL. 56:447, 1970.
- 18 — **Hutchison, W.M.**, "The nematode transmission of Toxoplasma gondii". TRANS. ROY. SOC. TROP. MED. HYG. 61:80, 1967.

- 19 — **Hutcheson, W.M.**: "Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*". *NATURE (LONDON)* 206:961, 1965.
- 20 — **Hutchison, W.M.**, Dunachie, J.F., Work, K.: "The fecal transmission of *Toxoplasma gondii*" *ACTA PATHOL MICROBIOL. SCAND.* 74:462, 1968.
- 21 — **Jacobs, L.**, Melton, M.L., Jones, F.E.: The prevalence of *Toxoplasmosis* in wild pigeons *J. PARASITOL.* 38:437, 1952.
- 22 — **Jacobs, L.**, Melton M.L., Cook, M.K.: "Experimental *Toxoplasmosis* in pigeons". *EXP. PARASITOL.* 2:403, 1953.
- 23 — **Jacobs, L.** Melton, M.L., Stanley, A.M.: "The Isolation of *Toxoplasma gondii* from ovaries and oviducts of naturally infected hens. *J. PARASITOL.* 48: (Supp. 2), 38, 1962.
- 24 — **Jacobs, L.**, Moyle, G.G., Ris, R.R.: "The prevalence of *toxoplasmosis* in New Zealand sheep and cattle". *AMER. J. VET. RES.* 24:673, 1963.
- 25 — **Jacobs, L.** Hartley, W. J.: "Ovine *toxoplasmosis*: studien on parasitaemia, tissue infection, and congenital transmission in ewes infected by various routes. *BR. VET. J.* 120:347, 1964.
- 26 — **Jacobs, L.**, Melton, M.L.: "*Toxoplasmosis* in chickens". *J. PARASITOL.* 52:1158, 1966.
- 27 — **Berengo, A.**, De Lalla, F., Cavalli-Sampieri, L.: "Prevalence of *toxoplasmosis* among domestic and wild animals in the area of Siena, Italy. A Serologic and parasitic study. *AMER. J. TROP. MED. HYG.* 18:391, 1969.
- 28 — **Jamra, L.M.F.**, Dione, M.P., Guimaraes, E.G.: "On the isolation of *Toxoplasma gondii* from human origin. Partial results in the city of Sao Paulo (Brazil). *REV. INST. MED. TROP. SAO PAULO* 11:169, 1969.
- 29 — **Kimball, A.C.**, Bauer, H., Sheppard, Ch. G.: "Studies on *toxoplasmosis*. III. *Toxoplasma* antibodies in obstetrical patients correlated with residence, animal contact and consumption of selected foods. *AMER. J. HYG.* 71:93, 1960.
- 30 — **Jamra, L.M.F.**: "Contribucão para la epidemiologia de *toxoplasmosis*. Inquérito em 100 familias de uma área de cidade de Sao Paulo". Tese apresentado a Cadeira Doencas Tropicais e infectuosas da Faculdade de Medicina. Universidade de Sao Paulo. Tipograpfia Edalo, Sao Paulo, 1964.
- 31 — **Kean, B.H.**, Kimball, A.C.: "An epidemic of acute *toxoplasmosis*". *J.A.M.A.* 208:1002, 1969.
- 32 — **Rawal, R.D.**, "A dye-test survey on sera from vegetarians and meat eaters in Bombay". *TRANS. ROY. SOC. TROP. MED. HYG.* 53:61, 1959.
- 33 — **Piekarski, G.**, Witte, H.M.: "Die *toxoplasmosis*, eine zoonose". *LANDARZT* 44:1052, 1968.
- 34 — **Zardi, O.**, Giorgi G., Somochowicz, E., Vecchi, R.: "Serological and biological study in the *toxoplasmosis* infection in chi-

- ckens from the vicinity of Roma". ACTA PARASITOL. POLON. 16:1, 1969.
- 35 — **Feldman, H. A., Miller L. T.:** "Congenital human toxoplasmosis". ANN. N. Y. ACAD. SCI. 64:180, 1956.
 - 36 — **Remington, J.S.:** "Toxoplasmosis and congenital infection". National Foundation, March of Dimes, 4:49, 1968.
 - 37 — **Thiermann, E., Apt, W., Niedmann, G.:** "Conceptos actuales sobre infecciones intrauterinas por *Toxoplasma gondii* y su importancia en obstetricia". BOL. CHILENO PARASITOL. 21:51, 1966.
 - 38 — **Levi, G.C., Hyakutake, S., Amato, Neto, V. en Correa, M.O.A.:** "Observacoes complementares sobre a presenca do *Toxoplasma gondii* na saliva de pacientes con toxoplasmosis. REV. SOC. BRAZ. MED. TROP. 2:275, 1968.
 - 39 — **Jamra, L.M.F.:** "Isolation of *Toxoplasma gondii* from human tonsils". REV. BRAZ. PESQ. MED. et BIOL. 4:97, 1971.
 - 40 — **Tejerina Raygada, M.S.:** Estudio de la toxoplasmosis humana adquirida". Editorial Paz Montalvo, 1970, Madrid.
 - 41 — **Apt, W., Niedmann, G., Pasmanik, S., Thiermann, E.:** "Toxoplasmosis" Universidad de Chile, Arancibia Hnos., 1973, Santiago.
 - 42 — **Remington, J.S., Miller, M.J.:** "19S and 7S anti-toxoplasma antibodies in diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis" PROC. SOC. EXPER. BIOL. & MED. 121:357, 1966.
 - 43 — **Ryder, S., Finol, L.T., Soto Escalona, A.:** "Anticuerpo contra el virus de la encefalitis equina venezolana en la población humana del Estado Zulia Venezuela, en 1967. INVEST. CLIN. 12 (39): 31, 1971.
 - 44 — **Sabin, A.B., Feldman, H.A.:** "Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoos (toxoplasma) SCIENCE 108:660, 1948.
 - 45 — **Jacobs, L., Lunde, M.N.:** "A hemagglutination test for toxoplasmosis" J. PARASITOL. 43:308, 1957.
 - 46 — **Jacobs, L., Lunde, M. N.:** Hemaglutina ion test for toxoplasmosis SCIENCE 125:1035, 1957.
 - 47 — **Fletcher, S.:** Indirect fluorescent antibody technique in the serology of *Toxoplasma gondii*". J. CLIN. PATHOL. 18:193, 1965.
 - 48 — **Walter, B.C., Benchoff, B.M., Brooks, W.H.H.:** Comparison of the indirect fluorescent antibody test and the methylene blue dye test for detection of antibodies to *Toxoplasma gondii*". AMER. J. TROP. MED. 15:149, 1966.
 - 49 — **Sulzer, A.J., Hall, E.C.:** "Indirect Fluorescent antibody tests for parasitic diseases IV. Statistical study of variation in the indirect fluorescent antibody (IFA) test for toxoplasmosis. AMER. J. EPIDEMIOLOG. 86:401, 1967.

- 50 — Immunology series No. 1, Procedural Guide, Indirect Fluorescent Antibody Test for Toxoplasmosis, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, U.S.A, June, 1970.
- 51 — **Kagan, I., Norman, L.:** "Serodiagnosis of parasitic diseases", **MANUAL OF MICROBIOLOGY**, Chopter 51, pág. 453-486, 1970, American Society for Microbiology.
- 52 — **Chordi, A., Walls, K.W., Kagan, I.G.:** "Studies on the specificity of the indirect hemagglutination test for toxoplasmosis". **J. IMMUNOL.** 93:1024, 1964.
- 53 — **Walls, K.W., Kagan, I.G., Turner, A.:** "Studies on the prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii*. 1. U.S. military recruits". **AMER. J. EPID.** 85:87, 1967.
- 54 — **Thiermann, E., Apt, W., Niedmann, G.:** "El diagnóstico de laboratorio de la toxoplasmosis". **BOL. CHILENO PARASITOL.** 21:82, 1966.
- 55 — **Baruzzi, R.G., Amato Neto, V.:** "Inquerito serológico sumario para toxoplasmosis entre indios do parque nacional do Xingés". **REV. INST. MED. TROP. S. PAULO** 8:277, 1966.
- 56 — **Biagi, F.:** "Cutirreacciones con toxoplasmina en Tampico". **REV. MED. HOSP. GEN. (MEXICO)** 14:191, 1951.
- 57 — **Feldman, H.A., Miller, L.T.:** "Serological study of toxoplasmosis prevalence". **AMER. J. HYG.** 64:320, 1950.
- 58 — **Fernández, W.J., Barboza, W.:** "Toxoplasmosis em Goiás. Comparacao dos resultados da reacao de Sabin-Feldman em investigacao clinica e epidemiológica". **REV. PATOL. TROP.** 1:29, 1972.
- 59 — **Figallo, L., Maekelt, A. G.:** "Anticuerpos de toxoplasmosis en parturientas y recién nacidos en la Maternidad "Concepción Palacios" de Caracas, Venezuela". **ARCH. VEN. MED. TROP. PARASITOL. MED.** 4:288, 1962.
- 60 — **García Landa, J.:** "Investigación de toxoplasmosis, I. Resultados obtenidos en una encuesta realizada por la prueba intradérmica con toxoplasmina en el Hospital Psiquiátrico de la Habana". **REV. CUB. MED. TROP.** 19:201, 1967.
- 61 — **García Landa, J.:** "La Prueba de la toxoplasmina en grupos seleccionados de la población de la Provincia de la Habana". **REV. CUB. MED. TROP.** 19:55, 1967.
- 62 — **Gibson, C.L., Coleman, N.:** "The prevalence of toxoplasma antibodies in Guatemala and Costa Rica". **AMER. J. TROP. MED. HYG.** 7:334, 1958.
- 63 — **Gibson, C.L., Coleman, N.:** "Serological response of a rural negro population of the Sabin-Feldman cytoplasm modifying test for toxoplasmosis. **AMER. J. TROP. MED. HYG.** 5:772, 1956.
- 64 — **Maekelt, A.G., Gómez, Z.:** "Estado actual del estudio sobre la toxoplasmosis en Venezuela". **PROCEEDINGS 7TH INTERNAT. CONGRESS TROP. MED. MALARIA** 2:367, 1964.

- 65 — **Magaldi, C.**: "Epidemia de toxoplasmosis no Centro Técnico de Aeronáutica (Sao José dos Campos): observacoes clínicas, serológicas e epidemiológicas". REV. PAUL. MED. 70:256, 1967.
- 66 — **Magaldi, C.**: "Susto de toxoplasmosis en un seminário de Braganca Paulista (Estado de Sao Paulo). Aspectos clínicos, serológicos e epidemiológicos. REV. SAUDE PUBL. 1:141, 1967.
- 67 — **Muñoz Rivas, G.**: "Toxoplasmosis en Colombia". REV. INST. SALUD ENFERM. TROP. 19:1, 1959.
- 68 — **Roch, E. Varela, G.**: "Diversos aspectos de la investigación sobre toxoplasmosis en México. Resultados obtenidos en 29.883 reacciones de Sabin y Feldman". REV. INST. SALUD PUBLICA 1:31, 1966.
- 69 — **Schenne, H.**: "Estudio longitudinal de la infección toxoplasmósica en una población de elevada prevalencia inicial". BOL. CHIL. PARASITOL. 26:11, 1971
- 70 — **Maekelt, A., Barráez, S., Sánchez, Z., Barráez, T.**: "La prueba de la hemoaglutinación indirecta aplicada al diagnóstico de la toxoplasmosis" ARCHI. VEN. MED. TROP. PARASITOL. MED. 5:465, 1965.
- 71 — **Hult, G., Lagercrantz, R.**: "Incidence of toxoplasma antibodies in helathy children of Sundbyberg". ACTA PED. suppl. 140:99, 1962.
- 72 — **Remington, J.S., Efron, B., Cavanaugh, E., Simón, H. J., Trejos, A.**: Studies on toxoplasmosis in El Salvador. Prevalence and incidence of Toxoplasmosis as measured by the Sabin-Feldman dye test". TRANS. ROY. SOC. TROP. MED. HYG. 64:252, 1970.
- 73 — **Thiermann, E., Niedmann, G.**: "Estudio serológico sobre Toxoplasmosis y otras parasitemias en la Isla de Pascua". BOL. CHIL. PARASITOL. 16:82, 1961.
- 74 — **Areán, V.M.**: Toxoplasmosis en Puerto Rico". BOL. ASOC. MED. PUERTO RICO 49:127, 1957.
- 75 — **Desmonts, G.** "Epidemiology of toxoplasmosis". REV. HYG. MED. SOC. 10:201, 1962.
- 76 — **Viso, R.A., Zigelboim, I., Maekelt, G. A.**: "Evaluación de la intradermorreacción con toxoplasmina en gestantes". REV. OBST. GIN. VENEZUELA 25:535, 1965.
- 77 — **Feldmann, H.A.** "Nationwide serum survey of United States military recruits, 1962. VI. Toxoplasma antibodies". AMER. J. EPIDEMIOLOG. 81:285, 1965.
- 78 — **de Roever-Bonnet, H., Molenaar, J.C., Folkers, C. Terpstra, C.**: "Toxoplasmosis in West New Guinea". TROP. GEORGIA MED. 16:82, 1964.
- 79 — **Lamb, G.A., Feldman, H.A.**: "Nationwide serum survey in Brazilian military recruits, 1964. III. Toxoplasma dye test antibodies" AMER. J. EPIDEMIOLOG. 87:323, 1968.

- 80 — **Thacker, C.K.**: "Clinical and parasitological survey of Tristan da Cunha islanders". *TRANS. ROY. SOC. TROP. MED. & HYG.* 57:10, 1963.
- 81 — **Ruiz, A., Flores, M., Kotcher, E.**: Prevalence of *Toxoplasma* antibodies in Costa Rica postpartum women and their neonates. "*AMER. J. OBST. & GYNEC.* 95:817, 1966.
- 82 — **Fulton, J.D., Fleck, D.G., Payne, R.A.**: "Prevalence of toxoplasma antibodies in sera from Greece and Africa". *J. HYG.* 64:75, 1966.
- 83 — **Lunde, M.N., Jacobs, L.**: "Comparison of results of hemagglutination and dye test for toxoplasmosis in survey of Trinidad natives". *AMER. J. TROP. MED. & HYG.* 7:523, 1958.
- 84 — **Ludlan, G.B., Somers, K.**: "Incidence of toxoplasma antibodies in Ugandans with special reference to cardiomyopathy". *TRANS. ROY. SOC. TROP. MED. & HYG.* 60:621, 1966.
- 85 — **Warren, K.S., Dingle, J.H.**: "Study of illness in group of Cleveland families. XXII. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in 40 families observed for ten years. *N.E.J.M.* 174:993, 1966.
- 86 — **Wall, K. W., Kagan, I.G.**: "Studies on the prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii*. 2. Brazil". *AMER. J. EPIDEMIOLOG.* 86:305, 1967.
- 87 — **Goldsmith, R.S., Kagan, I.G., Reyes González, M.A., Cedeño Ferreira, J.**: Estudios seroepidemiológicos en Oaxaca, México". *BOL. OF. SANIT. PANAMER.* 6:39, 1972.
- 88 — **McCulloch, W.F., Braun, J.L., Heggen, D. W., Top, F.H.**: "Studies on medical and veterinary students skin tested for toxoplasmosis". *PUB. HLTH. REP.* 78:689, 1963.
- 89 — **Gibson, C.L., Eyles, D.E.**: "Toxoplasma infections in animals associated with a case of human congenital toxoplasmosis". *AMER. J. TROP. MED. HYG.* 6:990, 1957.
- 90 — **Jacobs, L.**: "The interrelation of toxoplasmosis in swine, cattle, dogs and man". *PUB. HLTH. REP.* 72:872, 1957.