

Bioquimia

Volumen 28
Volume

Número 2
Number

Junio 2003
June

Artículo:

Estudio de reactividad a *Toxoplasma gondii* en embarazadas de las provincias Ciudad de la Habana y Pinar del Río, Cuba.

Derechos reservados, Copyright © 2003:
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

*Others sections in
this web site:*

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)

PARASITOLOGÍA

Estudio de reactividad a *Toxoplasma gondii* en embarazadas de las provincias Ciudad de la Habana y Pinar del Río, Cuba

Aramís Sánchez-Gutiérrez ^{1*}, Ivonne Martín-Hernández ¹,
Susana Marietta García-Izquierdo ³

¹ Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, Centro de Inmunoensayo. ³ TecnoSUMA Internacional, Centro de Inmunoensayo.
*Sobretiros: Centro de Inmunoensayo, Calle 134 y Ave 25, Reparto Cubanacán, Miramar, Apartado 6653, Ciudad de la Habana, Cuba.
e-mail: iqtorch@cie.sld.cu
Recibido: 06/09/2002 Aceptado: 26/05/03

Resumen

La toxoplasmosis congénita se desarrolla debido a una infección primaria materna durante el embarazo, la cual puede dejar graves secuelas en el recién nacido. Como la toxoplasmosis en adultos es usualmente asintomática, la realización de un pesquiasaje serológico en las mujeres embarazadas constituye la única forma de detectar aquellas que presentan riesgo de contraer una toxoplasmosis aguda. Se realizó un estudio de prevalencia de anticuerpos de tipo IgG a *Toxoplasma gondii* en 1 210 gestantes cubanas de las provincias de Ciudad de la Habana y Pinar del Río con el objetivo de determinar el porcentaje de reactividad a *Toxoplasma gondii* en cada provincia, si dichos porcentajes varían en dependencia del área geográfica estudiada y si existe un incremento en la reactividad a este parásito a medida que aumenta la edad. Para este estudio se utilizó el estuche de diagnóstico UMELISA Toxoplasma®, obteniéndose un 61.82 % de reactividad a *Toxoplasma gondii*. El 36.86 % de las embarazadas en Ciudad de la Habana y el 33.49 % en Pinar del Río presentaron concentraciones de anticuerpos superiores a 125 U/mL. Se encontró además, que la reactividad a *Toxoplasma gondii* en esta población no aumenta con la edad y que los niveles de reactividad a anticuerpos de tipo IgG anti-*Toxoplasma gondii* en la provincia de Pinar del Río (71 %) son superiores a los encontrados en Ciudad de la Habana (52.35 %).

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, embarazo, anticuerpos.

Abstract

Congenital toxoplasmosis may develop due to a maternal primary infection during pregnancy, which could cause serious sequelae to the newborn. Since toxoplasmosis in adults is usually asymptomatic, the only way to find pregnancies at risk of acute toxoplasmosis is to perform a serological screening of pregnant women. A prevalence study of anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in 1 210 Cuban pregnant women from Havana City and Pinar del Río, was carried out in order to determine the reactivity percents in each province, whether these percents vary depending on the geographical area studied, and if there is an increment in the reactivity to this parasite as the age increases. For this study the UMELISA Toxoplasma® assay was used and 61.82 % of reactivity to *Toxoplasma gondii* was found. 36.86% of the pregnant women from Havana City and 33.49% Pinar del Río presented antibody concentrations upper than 125 U/mL. Besides, reactivity to *Toxoplasma gondii* in this population does not increase with age and the reactivity levels to anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in Pinar del Río (71%) were superior than in Havana City (52.35 %).

Keywords: *Toxoplasma gondii*, pregnancy, antibodies.

Introducción

La toxoplasmosis es una zoonosis extendida por todo el mundo, causada por el parásito intracelular obligado *Toxoplasma gondii* ¹, la frecuencia de esta infección humana varía mucho según las zonas geográficas y los hábitos alimenticios. ²

Las características del medio influyen en la prevalencia, siendo mayor en regiones cálidas y húmedas, y más baja en

climas secos y fríos. También hay diferencias en las tasas de positividad con relación a la altitud y las más altas corresponden a las áreas de mayor elevación sobre el nivel del mar. ³ Los factores económicos y sociales no tienen relación especial con el parásito, pero los factores culturales sí, pues la costumbre de comer carne cruda o semicocida y la de tener gatos en los hogares aumentan la probabilidad de infección. ^{4,5,6}

La prevalencia también aumenta con la edad como resultado de la exposición continua al riesgo de infección por el consumo de carne cruda ⁷ o la ingestión de ooquistes introducidos en el ambiente por las deyecciones de los gatos. ^{8,9,10}

Las mujeres embarazadas constituyen el grupo de la población en el cual la adquisición de la toxoplasmosis repercute en forma más notoria, debido al riesgo de transmisión para el hijo.¹¹ La incidencia más alta (93 %) y una seroconversión entre el 3-5 % ha sido señalada en las mujeres parisinas que prefieren la carne cruda o poco cocida, lo cual justifica que al menos el 50 % de sus hijos estén infectados.^{12,13} La incidencia de infección primaria con *T. gondii* en gestantes suecas es $>1/1000$ ¹⁴, mientras que cada año aparecen 4900 nuevos casos entre las gestantes francesas.¹⁰ En Estados Unidos se calcula que cada año nacen al menos 3000 niños con toxoplasmosis adquirida congénitamente, y que la toxoplasmosis existe en forma asintomática crónica aproximadamente en la mitad de la población¹²; en Gran Bretaña ocurrieron sólo 37 casos en cinco años (1976-1980) que corresponderían a una incidencia de 12.2 casos congénitos por cada millón de nacimientos.¹⁵

En la toxoplasmosis congénita el riesgo de transmisión del parásito de la madre al feto, es del 15 % si la infección ocurre en el primer trimestre del embarazo, siendo mayor (60 %) en el tercer trimestre.^{1,16,17} Según la literatura, el feto puede contaminarse en el momento del parto,¹⁸ sin embargo, las secuelas más severas, como ceguera y retardo mental son mayores y más frecuentes cuando la infección ocurre tempranamente en el embarazo.^{19,20}

En gestantes cubanas la infección por *Toxoplasma gondii* es frecuente y a juzgar por el número de informes la presencia de anticuerpos específicos varía entre un 50-70 % en dependencia del área geográfica analizada y especialmente del inmunodiagnóstico empleado.^{21,22,23,24}

La presencia de anticuerpos IgG específicos es útil para reconocer aquellas personas con respuesta inmune a este parásito y permite confirmar una infección reciente cuando se observa un aumento sucesivo en los títulos de dos muestras extraídas generalmente con un intervalo de tres semanas.¹⁹

Los anticuerpos IgG específicos a *Toxoplasma gondii* se desarrollan usualmente durante las cuatro semanas post-infección.²⁵ Los títulos de IgG ascienden durante 2 o 3 meses, hasta llegar o pasar de 1000 UI/mL, los cuales persisten durante 6 a 12 meses, para después ir disminuyendo lentamente.

En reacciones mayores y prolongadas están presentes títulos muy elevados de IgG (>1000 UI/mL) durante años, acompañados o no de IgM. En reacciones mínimas, observadas frecuentemente cuando se aplica un tratamiento precoz, aparecen IgM más o menos fuertemente positivas y un ascenso lento y de débil amplitud de las IgG, hasta un máximo de 100 UI/mL.²⁶

Aunque la cantidad de anticuerpos medido en una muestra única de suero no da una indicación clara de cuando ocurrió la infección²⁵ si permite predecir que la persona ha estado en contacto con el parásito en algún momento de su vida ya que los anticuerpos de tipo IgG específicos a *Toxoplasma gondii* declinan lentamente hasta niveles basales que persisten durante toda la vida.²⁷

Por la importancia del tema se decidió realizar un estudio de la prevalencia de anticuerpos de tipo IgG anti-*Toxoplasma gondii* en gestantes residentes en las provincias Ciudad de la Habana y Pinar del Río, empleando para ello el ensayo UMELISA-Toxoplasma® producido en el Centro de Inmunoensayo.

Materiales y Métodos

Universo de trabajo: A finales del año 2001 se colectaron un total de 1 210 muestras de suero procedentes de una población de mujeres gestantes sanas, comprendidas entre los 13 y los 44 años de edad, embarazadas que en el marco del programa nacional de prevención y detección de malformaciones congénitas en las gestantes acudieron al control prenatal a los Hospitales “Materno de 10 de Octubre” y Pediátrico “Pepe Portilla” situados en las provincias Ciudad Habana y Pinar del Río respectivamente, tenían entre 15 y 19 semanas de edad gestacional, ya que es en este período que a todas las embarazadas cubanas se les hace la toma de muestras para determinar las concentraciones de alfa-fetoproteína en suero. Con el objetivo de evitar una segunda punción venosa de las gestantes, se decidió emplear la misma muestra para las determinaciones de alfa-fetoproteína y anticuerpos anti-toxoplasma.

La toma de muestras se realizó mediante punción venosa, luego se obtuvo el suero previa centrifugación. Las muestras se almacenaron a -20°C hasta su posterior evaluación.

El personal de salud de ambos hospitales maternos y todas las embarazadas fueron informadas del estudio que se llevaría a cabo, obteniéndose los permisos por escrito, administrativos y éticos de las autoridades municipales y médicas. La participación fue voluntaria.

Instrumentos y reactivos: En nuestro trabajo se emplearon los reactivos del estuche de diagnóstico UMELISA Toxoplasma® el cual es producido en el Centro de Inmunoensayo y comercializado por la empresa TecnoSuma Internacional S.A, Cuba.

Se utilizaron además una incubadora MEMMERT a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y los equipos y accesorios del Sistema Ultramicroanalítico (SUMA) como el lavador automático MAS 201, lector de placas fluorímetro-fotómetro PR 521 y multipipeta ERIZO 201.

Este estuche comercial ha sido validado por el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK, Centro colaborador de la OMS y de la OPS) para lo cual se empleó la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IPK) y el estuche comercial Toxonostika IgG II (Organón Teknika) como técnicas de referencia, obteniéndose 100% de sensibilidad y 100% de especificidad (Observaciones inéditas).

En validación interna realizada en nuestro centro se obtuvo 100% de sensibilidad y 100% de especificidad al ser comparado con las técnicas de referencia IFI (IPK), Toxonostika IgG II (Organón Teknika) y AUBIO (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba) (Observaciones inéditas). También mostró un 100% de concordancia frente a la técnica de Dye-Test de Sabin-Feldman.²⁸

El UMELISA Toxoplasma® ha sido ampliamente utilizado en nuestro país. También se ha empleado exitosamente en Brasil (Cepa Biotecnología LTD y la Universidad Federal de Minas Gerais), Colombia (ICOSAN Internacional LTD.) y Rusia (MEDBIOSCRIN LTD.)

Procedimiento: El UMELISA-Toxoplasma es un ensayo inmunoenzimático heterogéneo de tipo indirecto que permite detectar hasta 1000 UI/mL de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en muestras de suero y que utiliza como fase sólida tiras de poliestireno (Greiner Labortechnik), revestidas previamente con antígeno de *Toxoplasma gondii* (Trofozoitos sonificados) suministrados por el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

En los pocillos de las tiras de reacción se incuban las muestras diluidas 1:101 y los anticuerpos IgG anti-*T. gondii* presentes en las mismas se fijan al antígeno de recubrimiento. Un lavado posterior elimina los componentes no fijados y en el pocillo permanece el complejo antígeno-anticuerpo.

Posteriormente se añade un conjugado anti-IgG humana/ Fosfatasa Alcalina, el cual se une a los anticuerpos fijados en la reacción anterior. Un nuevo lavado de las tiras elimina el conjugado en exceso. Al añadirle el sustrato fluorogénico, 4-metilumbeliferil fosfato, éste se hidroliza por acción de la enzima y la intensidad de la fluorescencia emitida es proporcional a la concentración de anticuerpos en la muestra.

La cuantificación se realiza empleando calibradores con concentraciones conocidas de IgG específica. Los valores de fluorescencia de las muestras se interpolan en un gráfico de fluorescencia contra el logaritmo de la concentración de IgG, obteniendo los valores de concentración en UI/mL. El cálculo e informe de los resultados son realizados automáticamente por el lector SUMA mediante un programa diseñado al efecto.³¹ El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el empleo de la prueba χ^2 cuadrada²⁹ a través del programa de computación TonyStat fabricado en la Facultad de Biología de la Universidad de la Habana.³⁰

Resultados

Los niveles de alfa-fetoproteína de todos los gestantes estuvieron dentro de rangos de referencia. Con respecto a los anticuerpos anti-toxoplasma en el cuadro 1 pone de manifiesto que de los 614 sueros evaluados pertenecientes al Hospital Pediátrico de Pinar del Río, el 71 % fueron positivos.

En el cuadro 2 se muestra que de los 596 sueros evaluados pertenecientes al Hospital Materno de 10 de Octubre, el 52.35 % presentó anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*. Del total de las gestantes estudiadas de la provincia Pinar del Río, el 77.52 % (476/614) se encuentra entre los 18 y 31 años de edad, mientras que de las gestantes de Ciudad de la Habana

Cuadro 1. Presencia de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* en los diferentes rangos de edades en la población de gestantes de Pinar del Río.

Rango de Edad (Años)	No. Indiv. (%)	No. React. (%)	UI/mL de anticuerpos IgG anti- <i>T. gondii</i> .					No. React. (%)
			>12.5 <125	≥125 <250	≥250 <500	≥500 <1000	≥1000	
13-19	72 (11.7)	15 (20.8)	31	15	8	3	0	57 (79.2)
20-24	196 (31.9)	63 (32.1)	91	33	8	0	1	133 (67.8)
25-29	191 (31.1)	54 (28.3)	96	29	10	2	0	137 (71.7)
30-34	102 (16.6)	33 (32.4)	48	15	6	0	0	69 (67.7)
35-39	47 (7.6)	12 (25.5)	22	8	5	0	0	35 (74.5)
40-44	6 (0.98)	1 (16.7)	2	2	1	0	0	5 (83.3)
Total	614 (100)	178 (28.9)	290 (66.5)	102 (23.4)	38 (8.7)	5 (1.2)	1 (0.2)	436 (71.0)

Cuadro 2. Presencia de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* en los diferentes rangos de edades en la población de gestantes de la Habana.

Rango de Edad (Años)	No. Indiv. (%)	No. React. (%)	UI/mL de anticuerpos IgG anti- <i>T. gondii</i> .					No. React. (%)
			>12.5 <125	≥125 <250	≥250 <500	≥500 <1000	≥1000	
13-19	70 (11.7)	40 (57.1)	18	8	4	0	0	30 (42.9)
20-24	133 (22.3)	62 (46.6)	44	19	6	2	0	71 (53.4)
25-29	200 (33.6)	91 (45.5)	70	30	7	2	0	109 (54.5)
30-34	129 (21.6)	63 (48.8)	46	12	7	1	0	66 (51.2)
35-39	56 (9.4)	26 (46.4)	16	9	5	0	0	30 (53.6)
40-44	8 (1.3)	2 (25)	3	3	0	0	0	6 (75)
Total	596 (100)	284 (47.7)	197 (63.1)	81 (25.9)	29 (9.3)	5 (1.6)	0 (0)	312 (52.35)

el 72.48 % (432/596) se encuentra en el mismo rango de edades; estos datos sugieren que la mayoría de los nacimientos ocurren en madres jóvenes en plenitud de desarrollo sexual.

Del total de gestantes de las provincias Ciudad de la Habana y Pinar del Río se determinó el porcentaje de los sueros no reactivos, 47.7 % (284/596) y 28.9 % (178/614) respectivamente.

El 66.51 % de las gestantes reactivas de Pinar del Río y el 63.14 % de las de Ciudad de la Habana tienen concentraciones de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* entre 12.5 y 125 UI/mL.

Entre las gestantes reactivas de Pinar del Río y Ciudad de la Habana, el 33.49 % y el 36.86 % respectivamente presenta concentraciones de anticuerpos específicos superiores a 125 UI/mL.

Al someter los resultados a un análisis estadístico (Prueba χ^2), se obtuvo diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2=44.62$, $p<0.001$) en cuanto a presencia de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* entre las gestantes de Ciudad de la Habana y Pinar del Río.

El análisis estadístico para determinar si existían diferencias entre los grupos de edades de las dos provincias mostró además, diferencias estadísticamente significativas en cuanto a porcentaje de reactividad en los rangos 13-19 años y 25-29 años ($\chi^2=19.72$ y 12.43 , $p<0.001$ respectivamente); mientras que en el grupo de 20-24 años las diferencias fueron muy significativas ($\chi^2=7.05$ $p<0.01$). En los grupos 30-34 años y 35-39 años se encontraron diferencias significativas ($\chi^2=6.37$ y 4.73 , $p<0.05$ respectivamente). Sin embargo en el grupo 40-44 años no se observaron diferencias significativas ($p>0.05$) lo cual puede deberse al pequeño número de muestras.

Los porcentajes de reactividad entre los diferentes grupos etáreos en cada una de las provincias, no difieren significativamente entre sí ($p>0.05$) (Cuadros 1 y 2).

Discusión

En los reportes de la literatura se menciona que al aumentar la edad el tiempo probable de exposición a *T. gondii* también aumenta y con ello las oportunidades de seroconversión para los sujetos negativos.^{32, 33, 34, 35} En nuestro estudio no se evidenció esta tendencia, aunque se coincide con otros resultados reportados, lo que puede estar relacionado con la cantidad de muestras utilizadas para cada edad gestacional.⁶

Los porcentajes detectados de sueros no reactivos son indicativos de que una cifra considerable de gestantes en su segundo trimestre de embarazo en este universo de estudio, son susceptibles de contraer una infección primaria con *T. gondii*, existiendo también el riesgo de infección congénita entre el 20-70 % de los fetos.^{1, 16}

Las concentraciones de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* entre 12.5 y 125 UI/mL sugieren que en estas gestantes la infección por *T. gondii* ha tenido lugar meses e incluso años antes de la toma de muestras de sangre y no se esperan cambios en sus tasas de anticuerpos anti-*T. gondii*, o se encuentran en una fase de primoinfección donde la respuesta de anticuerpos de tipo IgG es generalmente baja.²⁷

Las elevadas concentraciones de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* (>125 UI/mL) pueden interpretarse como concentraciones de valores medios, siendo representativos de una probable infección aguda.²⁷ Esta situación constituye una preocupación si tenemos en cuenta que el porcentaje de

gestantes enmarcadas en esta fase 33.5% (146/436) para Pinar del Río y 36.8% de Ciudad de la Habana, representan casi la tercera parte de las mujeres con muestras reactivas a *T. gondii* del universo de estudio.

La distribución de gestantes reactivas y no reactivas para las dos provincias no fue homogénea. El aumento del porcentaje de reactividad encontrado en la provincia Pinar del Río puede deberse a que a este hospital asiste un número elevado de gestantes que residen en zonas rurales y que por tanto tienen mayores probabilidades de ponerse en contacto con el parásito, lo que se corresponde con lo reportado en la literatura.^{16,36}

La seroprevalencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en la población de gestantes estudiada (61.82 %), concuerda con los resultados reportados en la literatura, donde Blanco y cols. (1988) encontraron un 62.10 % de reactividad en sueros de mujeres en el momento del parto; posteriormente en 1990 González y cols., empleando un ELISA indirecto reportaron un 70.9 % de reactividad en embarazadas. Un estudio realizado por López y cols. en 1993 refleja un 50.59 % de reactividad y otro por Acosta, Pérez y García en este mismo año manifiesta un 60.3 % de reactividad a *T. gondii*.^{21, 22, 23, 24}

La seroprevalencia en nuestro país se ha mantenido alta y con poca variación desde la década de 80's lo cual contrasta con la baja prevalencia reportada en algunos países europeos^{16,19} sin embargo, dicha estabilidad concuerda con la prevalencia en embarazadas de Noruega, que aunque es mucho más baja que la de nuestro país, también ha permanecido casi constante desde mediados de la década de 70's.¹⁶

La prevalencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en niños entre 1 y 15 años en Cuba es 15.35 %.³⁷

Teniendo en cuenta que el gasto económico promedio durante la vida de un niño con toxoplasmosis congénita se encuentra alrededor de los 100 mil dólares,³⁸ y que los datos ofrecidos en este trabajo son representativos de los elevados porcentajes de reactividad en gestantes procedentes de Ciudad de la Habana y Pinar del Río, es necesario entonces que esta entidad parasitaria sea valorada nacionalmente por el Sistema de Salud, mediante la determinación temprana de anticuerpos específicos a *Toxoplasma gondii*, IgM e IgG (muestras pareadas), durante el período de gestación. Se debe prestar especial atención a las gestantes con pruebas serológicas negativas y que por tanto corren riesgo de contraer una infección primaria, motivo por el cual deben someterse a un seguimiento mensual que permita identificar una posible seroconversión durante el transcurso del embarazo, y sobre todo determinar el momento de la infección tan precisamente como sea posible en relación con el inicio del embarazo. En aquellas en que se detecte

seroconversión se debe aplicar tratamiento y el hijo debe ser examinado, seguido serológicamente y por evidencias clínicas, al menos durante el primer año de vida, aunque no presente signos ni síntomas adjudicables a una toxoplasmosis congénita, lo cual contribuiría definitivamente a la reducción de los efectos dañinos de esta antroponosis.

Referencias

1. Kasper LH. Toxoplasma infection and toxoplasmosis. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. 14th ed. Singapore: McGraw-Hill. Inc Book Company; 1994.p. 903-908.
2. Bobic B, Jevremovic I, Marinkovic J, Sibalic D, Djurkovic-Djakovic O. Risk factors for Toxoplasma infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia. Eur J Epidemiol 1998; 14 (6): 605-610.
3. Nicolle C, Manceaux R. Coccidia Microsporidia y Pneumocystis. En: Parasitología Clínica. Clifton, CR y EC Wayne: Eds. Barcelona Salvat; 1986.p. 165-191.
4. Botero D, Restrepo M. Toxoplasmosis. En: Parasitosis Humana. 2da ed. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas; 1992.p. 231-248.
5. Benenson A. Toxoplasmosis congénita. En: El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 15th ed. USA: Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de la Salud Pública. Organización Panamericana de la Salud; 1992.p. 520-523.
6. Jenum PA, Kapperud G, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Prevalence of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway. Epidemiol Infect 1998; 120: 87-92.
7. Dubey JP. Isolation of *Toxoplasma gondii* from naturally infected beef cow. J Parasitol 1992; 78 (1): 151-153.
8. Dorny P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in goats in Sri Lanka. Ann Trop Med Parasitol 1992; 86 (1): 83-85.
9. Lebech M, Larsen SO, Petersen E. Prevalence, incidence and geographical distribution of *Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women in Denmark. Scand J Dis 1993; 25: 751-753.
10. Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard-Fleury V, Carme B. Risk factors for toxoplasma infection in pregnancy: A case control study in France. Scand J Infect Dis 1999; 31(3): 305-309.
11. Pelloux H, Fricker-Hidalgo H, Brochier G, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Intravenous immunoglobulin therapy: Confounding effects on serological screening for toxoplasmosis during pregnancy. J Clin Microbiol 1999; 37 (10): 3423-3424.
12. Markell EK, Voge M, John DT. Otros protozoos de la sangre y los tejidos. En: Parasitología médica. 6a ed. Madrid: Interamericana; 1990.p. 104-151.
13. Robert-Gangneux F, Commere V, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J. Performance of a Western blot assay to compare mother and newborn anti-Toxoplasma antibodies for the early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999; 18 (9): 648-654.
14. Evengard B, Lilja G, Capraru T, Malm G, Kussofsky E, Oman H, et al. A retrospective study of seroconversion against *Toxoplasma gondii* during 3,000 pregnancies in Stockholm. Scand J Infect Dis 1999; 31 (2): 127-129.

15. Acha PN, Szyfres B. Toxoplasmosis. En: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 2da ed. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud; 1989.p. 646-658.
16. Jennum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Kapperud G, Whitelaw A, Eskild A, et al. Incidence of *Toxoplasma gondii* infection in 35 940 pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. J Clin Microbiol 1998; 36(10): 2900-2906.
17. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckhman C, Gilbert R. Mother to child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. Lancet 1999; 353 (9167): 1829-1833.
18. Remington JS, Desmonts G. Toxoplasmosis. En: Infectious diseases of the fetus and newborn infants. 2nd ed. Philadelphia: J.S. Remington and J.O. Klein, eds. W.B. Saunders Company; 1990.p. 89-105.
19. Allain JP, Palmer CR, Pearson G. Epidemiological study of latent and recent infection by *Toxoplasma gondii* in pregnant women from a regional population in the U.K. J Infect 1998; 36: 189-196.
20. Gire C, Nicaise C, Minodier P, Palix C, Boubli L, Garnier JM. Congenital toxoplasmosis with brain lesions despite antenatal treatment. Presse Medicale 1999; 28 (13): 686-688.
21. Acosta C, Pérez X, García R. Presencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en embarazadas residentes en Ciudad de la Habana. Rev Biomed 2001; 12: 250-254.
22. Blanco R, Malberty A, López R. Estudio de la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en sueros de madres y recién nacidos en el momento del parto. Congreso 50. Aniversario del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí 1988; Resumen T-319: 137.
23. González T, Bacallao J, García C, Molina JR. Prevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en una población de mujeres embarazadas en Cuba. Gac Méd Méx 1990; 131 (5-6): 499-503.
24. López R, Pérez X, Guerra E, Herrera R, Acosta C. Toxoplasmosis entre mujeres embarazadas en Ciudad de la Habana. Rev Biomed 1993; 13 (4): 173-178.
25. Jennum PA, Stray-Pedersen B. Development of specific immunoglobulins G, M and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. J Clin Microbiol 1998; 36(10): 2907-2913.
26. Thulliez Ph, Hohlfeld P, Dalfos F, Costa JM, Forestier F, Sole Y, et al. Nouvelle approche du diagnostic prénatal de la toxoplasmose congénitale. Journal de Pédiatrie et de Puériculture 1993; 6: 341-346.
27. Kasper LH. Toxoplasma infection. In: Harrinson's Principles of Internal Medicine-14th ed. CD-ROM 1998.
28. Bahia-Oliveira LMG, Jones IL, Azevedo-Silva J, Alves CCF, Oréfice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. Emerg Infect Dis [serial online] 2003 Jan [date cited]; 8.
29. Sigarroa A. Biometría y Diseño Experimental. 1ª ed. Cuba: Ed. Pueblo y Educación; 1985
30. Sigarroa A. Manual de Clases Prácticas de Biometría y Diseño Experimental. 1ª ed. Cuba: Ed. Pueblo y Educación; 1987.
31. Fernández JL. Screening Technology Development-The Cuban Experience. 8th International Symposium on Neonatal Screening and Inaurl Meeting of the International Society for Neonatal Sreening. Sidney, Australia: Abstracts Book; 1991.
32. Chatterton JM. Pregnancy. In: Human Toxoplasmosis. eds. Oxford Medical Publications; 1992.p.144-183.
33. Ho-Yen D, Chatterton JW. Congenital toxoplasmosis why and how to screen. Rev Med Microbiol 1990; 1: 229-235.
34. Logar J, Novak-Antolic Z, Zore A, Cerar V, Likar M. Incidence of the congenital toxoplasmosis in the Republic of Slovenia. Scand J Infect Dis 1992; 24: 105-108.
35. Remington JS, McLeod R, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Infectious diseases of the fetus and newborn infants. 2nd ed. USA: J.S. Remington and J.O. Klein, eds. W.B. Saunders Company; 1995.p. 140-267.
36. Martínez R, Machín R, Suárez M, Fachado A. Aspectos seroepidemiológicos de la toxoplasmosis en dos municipios de la provincia de Ciego de Avila. Rev Cub Med Trop 1989; 41 (2): 214-225.
37. López R, Pérez X, Collazo JE, Acosta C. Anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en niños cubanos. Rev Biomed 1993; 13(4): 183-6.
38. Frenkel JK. Congenital toxoplasmosis. Prevention pallation. Am J Obst Gyn 1981; 141: 359.

