

2ej' 126.

PRESENCIA DEL ANTIGENO B DEL CISTICERCO DE  
LA Taenia solium EN OTROS HELMINTOS

MARIA ANGELICA ALFONSINA OLIVO DIAZ

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE  
BIOLOGO

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

1983



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## INDICE

	Pág.
RESUMEN	6
1.0 INTRODÚCCION	7
2.0 MATERIALES Y METODOS	10
2.1 <u>Organismos empleados</u>	10
2.2 <u>Preparación de los extractos antigénicos</u>	11
2.3 <u>Obtención del antígeno B</u>	12
2.4 <u>Sueros hiperinmunes</u>	13
2.5 <u>Inmunolectroforesis</u>	13
2.6 <u>Doble inmunodifusión</u>	14
3.0 RESULTADOS	15
4.0 DISCUSION	17
5.0 BIBLIOGRAFIA	22

## R E S U M E N

En el presente trabajo se analizó la presencia del antígeno B de los cisticercos de la Taenia solium en otros helmintos, a saber: T. solium, T. saginata, T. crassiceps, T. hydatigena, T. pisiformis, T. taeniaeformis, Dipylidium caninum, Echinococcus granulosus, Fasciola hepatica, Dugesia sp., Ascaris lumbricoides, A. suum, Onchocerca volvulus, Parascaris equorum y Macracanthorhynchus hirudinaceus. Se prepararon extractos antigénicos y se probaron contra suero anti-B y contra suero anti-extracto de algunos de estos parásitos, usando la prueba de inmuno-electroforésis. Para evaluar la identidad antigénica con respecto al antígeno B, se utilizó la prueba de doble inmunodifusión.

En inmuno-electroforesis se encontró que todos los extractos de los céstodos y el de F. hepatica presentaron una banda de precipitación frente al suero anti-B, con la excepción del líquido del quiste de E. granulosus. Ningún extracto de nemátodos reaccionó con el suero anti-B, como tampoco M. hirudinaceus y Dugesia sp. En doble inmunodifusión se observó identidad de todos los extractos que precipitaron en inmuno-electroforesis cuando se probaron con antígeno B frente a suero anti-B.

Los resultados sugieren que el antígeno B es característico de los platelmintos y parecería que se encuentra restringido a platelmintos parásitos, ya que sólo se encontró en los céstodos y en F. hepatica pero no en el único platelminto de vida libre estudiado (Dugesia sp.), por lo cual podría pensarse que el antígeno B estuviese relacionado, de alguna manera, con el parasitismo.

## 1.0 INTRODUCCION

La cisticercosis es una enfermedad parasitaria que se distribuye ampliamente en la República Mexicana (1). La parasitosis es adquirida por la entrada al huésped de huevecillos de Taenia solium, cada huevecillo contiene un embrión hexacanto con tres pares de ganchos; al llegar al estómago la cápsula se digiere por acción ácida y enzimática, el embrión se activa por la acción de los jugos digestivos del intestino delgado (2), de aquí penetra a través de la pared del intestino y entra a las circulaciones sanguínea y linfática, por medio de las cuales puede llegar a alojarse en diversos órganos y tejidos donde se desarrolla hasta formar un cisticerco, que consiste en una bolsa cuyo diámetro puede alcanzar hasta dos centímetros, conteniendo el escolex invaginado rodeado de líquido vesicular. Cuando el hombre ingiere un cisticerco, éste se instala en el duodeno, desarrollándose hasta la forma adulta, permaneciendo ahí por largos períodos de tiempo y llega a medir varios metros de longitud. El adulto de la Taenia solium está formado por escolex, cuello y estróbilo, éste último dividido en segmentos llamados proglótidos, que pueden ser inmaduros, maduros y grávidos; en los proglótidos grávidos se encuentran huevecillos en grandes cantidades, los cuales son excretados en las heces fecales, siendo así liberados al medio ambiente, completándose de este modo el ciclo al ser ingeridos por un cerdo o un humano (Fig. 1).

Los estudios seroepidemiológicos realizados por Woodhouse y col. en población abierta, revelaron una frecuencia global del 1 % de cisticercosis en todo el país, con oscilaciones entre el 0.4 % y 7.6 % en el Estado de Chiapas (3) y de 0 % a 2.81 % en la República Mexicana (1,4). En estudios de autopsias se ha encontrado una prevalencia promedio de 2 % (5) con frecuencias que fluctúan entre el 1.4 % y el 3.6 % (6,7,8,9,10), llegando a alcanzar, según estudios más recientes, una frecuencia de 5.31 % (11). Dentro de las estadísticas de los procesos

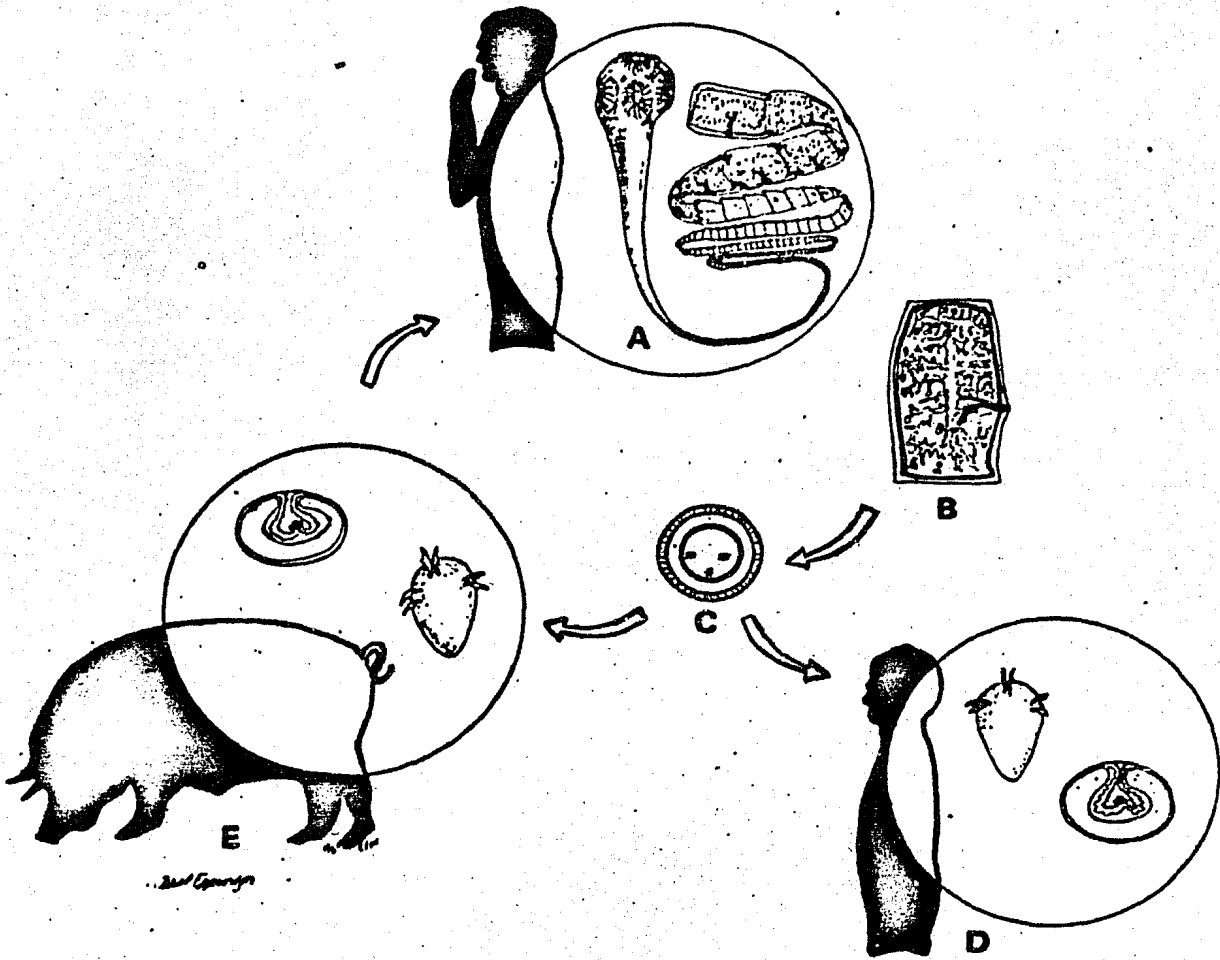


Figura 1 Ciclo de vida de la Taenia solium.  
 A, T. solium adulto; B, proglóti--  
 dos grãvidos; C, huevecillo de T.  
solium; D y E, embrión hexacantó y  
 cisticerco en humano y en cerdo -  
 respectivamente.

patológicos, la cisticercosis es considerada como novena causa de muerte (12).

El cisticerco, larva de la Taenia solium, parásito habitual del cerdo puede localizarse en el humano en el Sistema Nervioso Central (SNC), en el tejido subcutáneo, en el ojo, en el músculo esquelético o cardíaco y ocasionalmente en pulmón, hígado y riñones (13,14,15). La cisticercosis cerebral humana es de gran importancia desde el punto de vista médico, ya que generalmente es de mal pronóstico, siendo en ocasiones mortal; su manifestación clínica es muy variada y muchas veces puede cursar asintomática (8,16). En el inmunodiagnóstico de esta parasitosis se han montado varias pruebas (17,18,19), una de las cuales es la inmunolectroforesis, que ha permitido caracterizar la respuesta inmune humoral.

Utilizando la inmunolectroforesis se ha encontrado que, empleando el suero de animales hiperinmunes, el número de antígenos reconocidos en el escolex, la pared y el líquido vesicular del cisticerco de T. solium fue de 11, 9 y 5 respectivamente (19). Usando esta misma prueba en un análisis de 116 sueros de pacientes con cisticercosis cerebral comprobada se encontró que había por lo menos 8 proteínas antigénicas del cisticerco que eran reconocidas por el suero de los pacientes (20,21), lo que indicaba una gran heterogeneidad en la respuesta inmune humoral, siendo diferente el número y tipo de antígenos que la indujo. Los antígenos más frecuentemente reconocidos por el hombre fueron clasificados por su movilidad electroforética (Fig. 2), encontrándose que el antígeno designado como B es reconocido por el 84 % de los pacientes que tienen anticuerpos, detectados por inmunolectroforesis, contra cisticerco; siguiéndole en frecuencia el antígeno A (47 %) y el E (35 %). Se ha observado que los sueros de ratones hiperinmunizados con extractos totales de cisticercos de T. solium reconocen también más frecuentemente al antígeno B, 93 % (22) (Fig. 3).

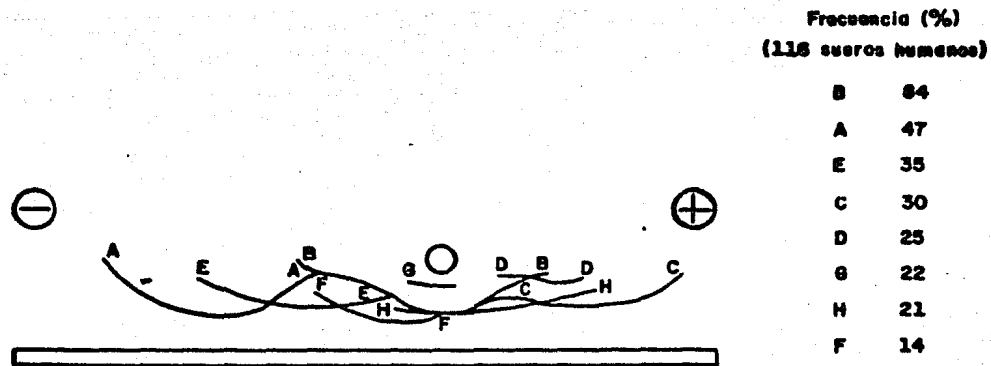


Figura 2 Diagrama de los antígenos reconocidos en inmunoelectroforesis por el suero de pacientes con cisticercosis confirmada, el antígeno B es reconocido por el 84 % de los pacientes (20).

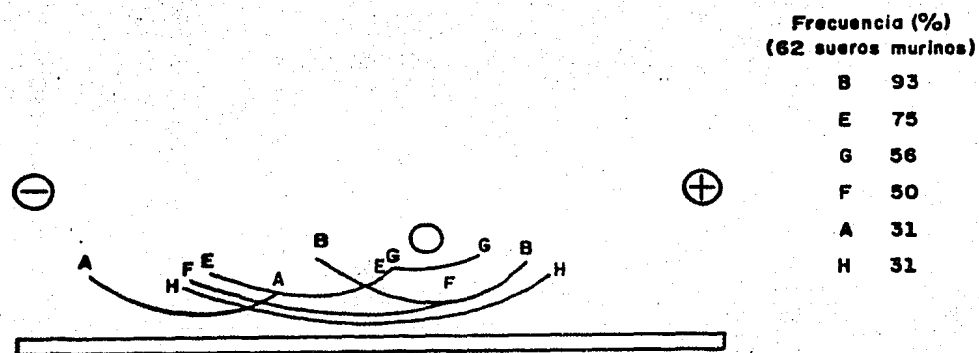


Figura 3 Antígenos reconocidos por el suero de ratones hiperinmunes, nuevamente el antígeno B es el que tiene mayor frecuencia, 93 % (22).



El antígeno B se identifica como una banda isoeléctrica a pH 8.6 en inmunolectroforesis, ha sido purificado a partir del escolex y la pared del cisticerco de T. solium (23, 24); en un gel de poliacrilamida-SDS al 7.5 % se observaron dos bandas de proteína con un peso molecular de 95,000 y 105,000; el análisis de aminoácidos reveló la existencia de un alto contenido de aminoácidos polares (52 %) (24); utilizando isoelectroenfoque se encontró que el punto isoeléctrico del antígeno B es de 5.0-5.3; es importante aclarar que el hecho de que este antígeno no migre en inmunolectroforesis a pH 8.6 puede deberse a que se formen agregados de diferentes tipos, que por su tamaño o por tener una superficie de carga neutra impidan su migración (24). Estudiando al antígeno B se observó que se comportaba como una fibronectina (25), presentando gran afinidad por la colágena, pudiendo identificarse una subpoblación de sitios de mayor afinidad y otra de menor afinidad relativa de unión a la colágena; se encontró también que tenía la capacidad de alinear fibroblastos transformados y de aglutinar eritrocitos de diversas especies de vertebrados; estas tres características son propiedades que competen a las fibronectinas y podrían tener gran importancia en la biología del parásito para su desarrollo y adaptación en el huésped. Con respecto a esto se sugiere que la actividad de fibronectina pudiera ayudar a organizar los componentes del huésped, impidiendo la llegada de las células inmunológicas y protegiendo de esta manera al parásito al crearle un nicho adecuado para vivir; por otro lado, se podría desviar la respuesta inmune hacia el tejido colagénico del huésped circundante al parásito.

Dada la importancia que parece tener el antígeno B del cisticerco de T. solium, tanto en la biología del cisticerco como en la relación huésped-parásito, se ha querido conocer si el antígeno B es una proteína exclusiva del cisticerco de T. solium. El objetivo de este trabajo es la detección, por métodos inmunológicos, de este antígeno en organismos de los Phyla PLATYHELMINTHES, NEMATODA y ACANTHOCEPHALA.

## 2.0 MATERIALES Y METODOS

### 2.1 Organismos empleados

Se utilizaron los siguientes parásitos:

#### PLATYHELMINTHES

Donado por:

##### Cestoda

Antígeno B del cisticerco de  
Taenia solium

Taenia solium

Cisticerco de T. solium

Líquido del cisticerco de

T. solium

T. saginata

Cisticerco de T. saginata

Cisticerco de T. hydatigena

Líquido del cisticerco de

T. hydatigena

Cisticerco de T. pisiformis

Líquido del cisticerco de

T. pisiformis

T. taeniaeformis

Líquido del quiste del

Echinococcus granulosus

Cisticerco de T. crassiceps

Dipylidium caninum

##### Trematoda

Fasciola hepatica

##### Turbellaria

Dugesia sp.

#### NEMATODA

Ascaris lumbricoides

Ascaris suum

Parascaris equorum

Onchocerca volvulus

#### ACANTHOCEPHALA

Macracanthorhynchus

hirudinaceus

Obtenido de cisticercos de  
cerdo

MVZ, Nicolás de Miguel (O.s.s.\*)

Obtenido de músculo esquelé-  
tico de cerdos parasitados

Obtenido de cisticercos de  
cerdo

Biol. Bertha Espinoza (Ec.\*\*)

Obtenido de musculo esquelé-  
tico de bovino parasitado

Dr. Antonio Acevedo (O.s.s.)

Dr. Michael Rickard (liofili-  
zado) y Dr. Antonio Acevedo

Dr. Michael Rickard (Ec. lio-  
filizado)

Obtenido de cisticercos de la  
cavidad abdominal de conejos

Dr. M.M.H. Sewell (Ec. liofi-  
lizado)

Dr. Michael Rickard (liofili-  
zado) y MVZ, Evangelina Romero

Dr. S. Geerts (Ec. liofiliza-  
do)

Biol. Velia Trejo (O.s.s.)

Obtenido de hígado de bovino  
parasitado

Colectado en el Jardín Botá-  
nico Exterior de la U.N.A.M.

Biol. Bertha Espinoza (Ec.)

MVZ, Evangelina Romero (O.s.s.)

Biol. Bertha Espinoza (Ec.)

Centro de Investigaciones  
Ecológicas del Sureste

MVZ, Evangelina Romero

\* Organismo en solución salina

\*\* Extracto crudo

## 2.2 Preparación de los extractos antigénicos

En la figura 4 se resume la metodología empleada. Los organismos obtenidos en solución salina fueron procesados como se describe a continuación.

Los parásitos se pesaron para obtener el rendimiento del método de extracción y se lavaron en una solución de NaCl - 0.15 M amortiguada con fosfatos de sodio 0.01 M, pH 7.2 (PBS), - que contenía: Sulfato de Kanamicina (Sigma), 25 ug/ml; Acido Ns- lidíxico (Sigma), 40 ug/ml; Cloranfenicol (Sigma), 25 ug/ml y - Estreptomina (Sigma), 25 ug/ml. La solución se agregó a los pa- rásitos en una relación 1:10 (p/v), dejándose con agitación len- ta durante 24 hrs. a 4°C. Lo anterior se hizo con el fin de eli- minar las bacterias existentes e inhibir su crecimiento. Se eli- minó la solución y se lavaron con PBS esteril 3 veces. Los orga- nismos fueron homogenizados en PBS conteniendo KCl 3 M e inhibi- dores enzimáticos: p-Hidroximercurio benzoato (PHMB, Sigma); - - 0.04 % y Fenil-metil-sulfonil fluoruro (PMSF, Sigma), 0.006 %; - así como Acido etilen-diamino-tetracético (EDTA, Sigma), 2.5 mM, en una relación 1:4 (p/v), utilizándose un homogenizador Poly--- tron (Brinkmann Instruments) a la velocidad máxima, de 4 a 5 ve- ces, durante un minuto cada vez, colocando el recipiente en un - baño de hielo entre cada homogenización.

Los extractos obtenidos se dejaron con agitación len- ta durante 24 hrs. a 4°C. Se centrifugaron a 3,000 rpm a 4°C du- rante 30 minutos. Los precipitados se eliminaron y los sobrena-- dantes fueron dializados exhaustivamente contra PBS a 4°C hasta que ya no se detectó KCl en la solución de diálisis por osmome-- tría. Se determinó la concentración de proteínas por el método - de Bio-Rad (Bio-Rad Protein Assay) (26,27,28). Los extractos se colocaron en una bolsa de diálisis y se concentraron con aire - hasta obtener alrededor de 10 mg/ml de proteína. Se dializaron - nuevamente contra PBS y se guardaron en alícuotas a -20°C, hasta su uso.

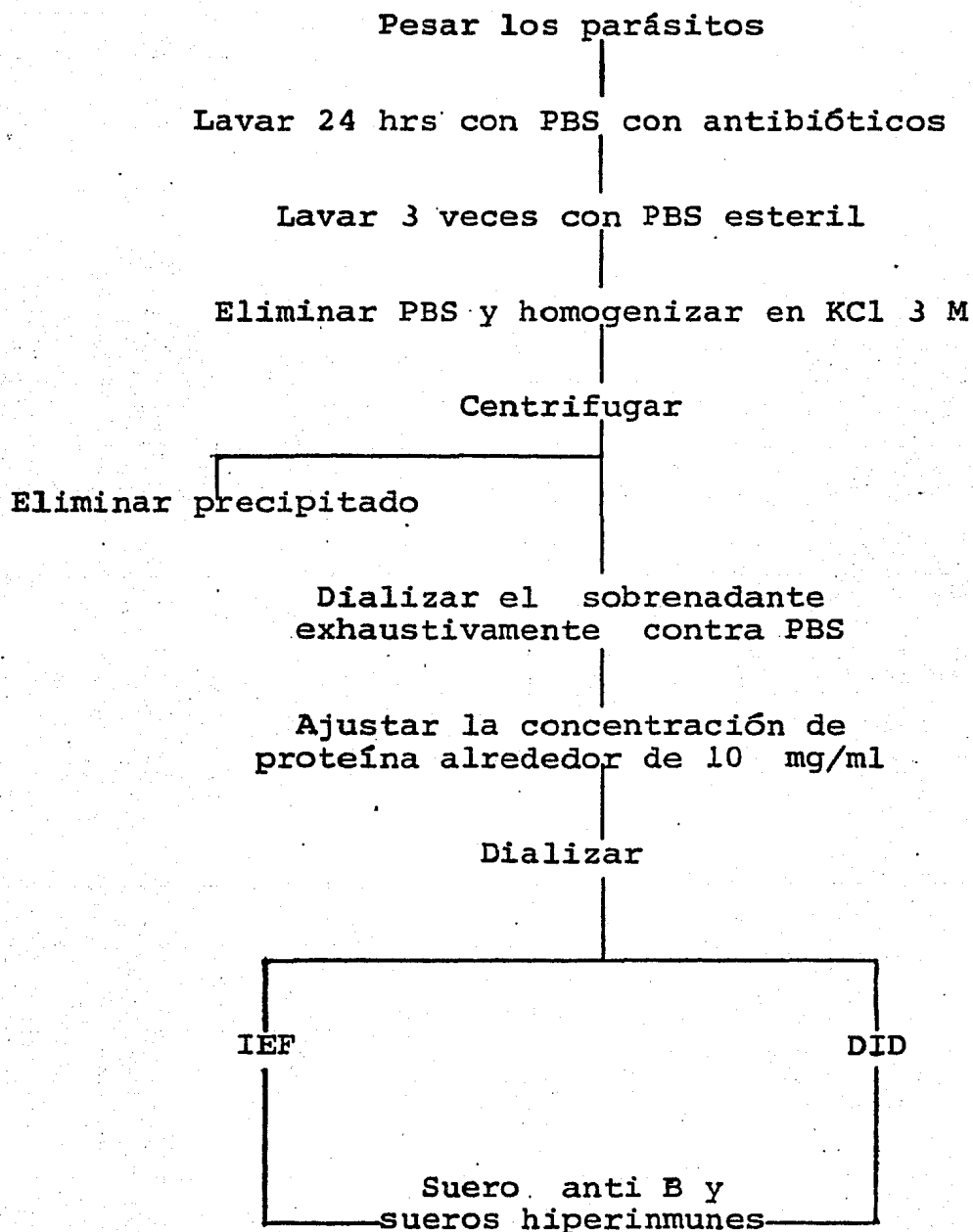


Figura 4 Diagrama de la metodología utilizada para la obtención de extractos antigénicos de diversos parásitos y para la evaluación del antígeno B en estos extractos.

Los extractos que estaban liofilizados fueron resuspendidos en PBS tratando de obtener una concentración de proteína de 10 mg/ml.

### 2.3 Obtención del Antígeno B

El antígeno B del cisticerco de la Taenia solium se obtuvo, como se muestra en la figura 5, de la siguiente manera: se disecaron cisticercos del músculo esquelético de cerdo, eliminándose el líquido vesicular y utilizando el escolex y la pared. Se lavaron con PBS (1:10 p/v) conteniendo los antibióticos e inhibidores enzimáticos descritos previamente y B-Mercaptoetanol (Bio-Rad) 0.02 M durante 18 hrs. con agitación lenta a 4°C. Después se decantaron y se homogenizaron en NaCl 0.45 M (5 ml/g de larva húmeda) conteniendo inhibidores enzimáticos, B-Mercaptoetanol y EDTA, con un homogenizador Polytron a la velocidad máxima, por 1-2 minutos a 4°C. El homogenado se centrifugó a 27,000 g por 60 minutos a 4°C.

El precipitado fue descartado y el sobrenadante fue dializado inmediatamente contra ácido acético 0.5 M, pH 2.5 a 4°C. La emulsión obtenida de la diálisis fue centrifugada a 27,000 g por 60 minutos a 4°C. Al sobrenadante se le cuantificaron proteínas por el método de Kjeldahl (29), se ajustó a una concentración de proteínas de 0.5 mg/ml utilizando ácido acético 0.5 M y se precipitaron con NaCl 5 M hasta obtener una concentración final de NaCl de 0.83 M. Esta muestra fue agitada durante 2 hrs a 4°C y centrifugada a 27,000 g por 60 minutos a 4°C. Se eliminó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en ácido acético 0.5 M, pH 2.4 y se dializó contra PBS. El antígeno B contenía las 2 bandas de proteína características y 4 a 5 contaminantes menores y se utilizó a una concentración de proteínas de 1 mg/ml para la prueba de doble inmunodifusión.

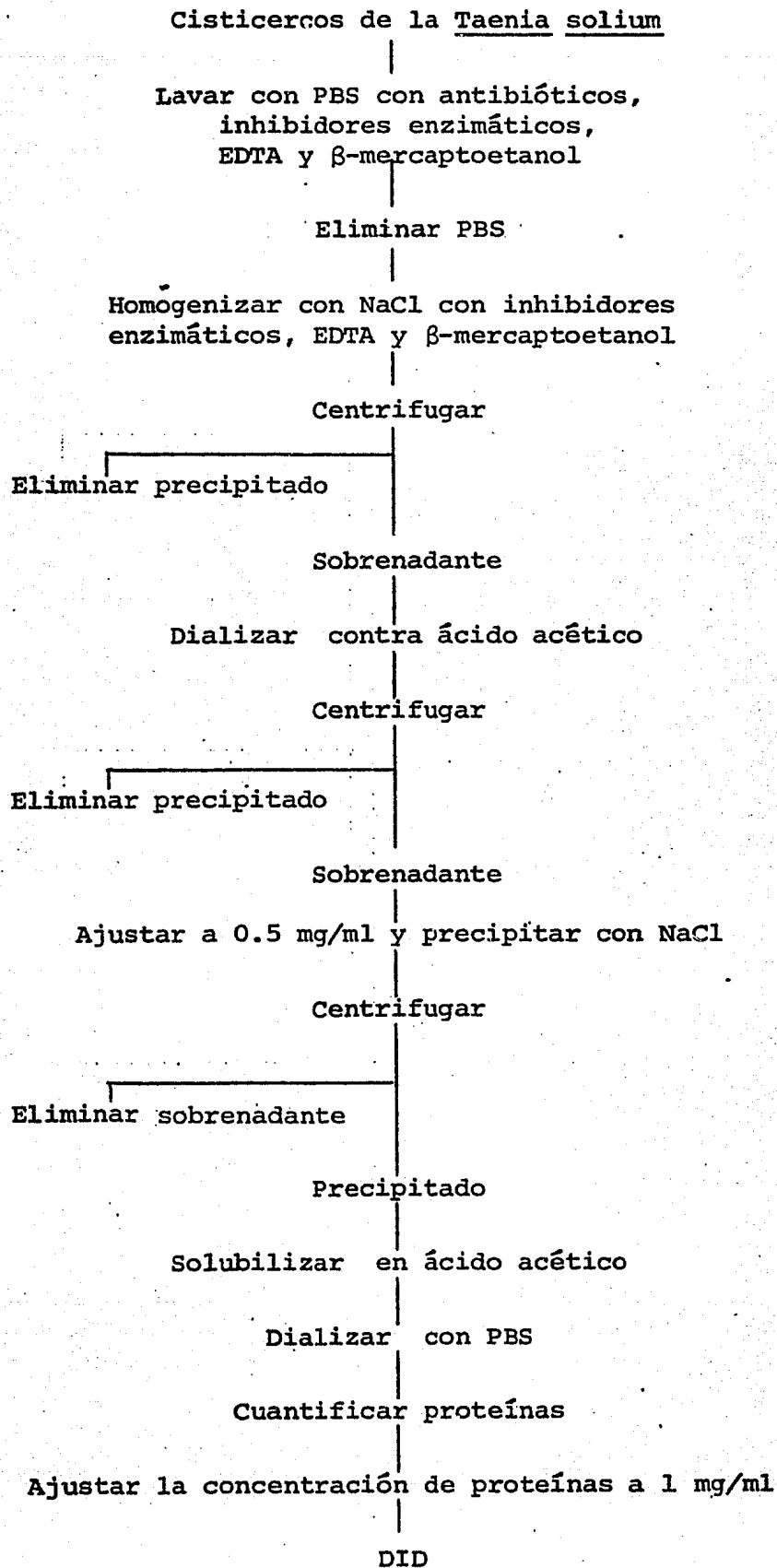


Figura 5 Diagrama del método de obtención del --  
antígeno B del cisticerco de la Taenia  
solium

## 2.4 Sueros hiperinmunes

Se usaron los siguientes sueros hiperinmunes:

	Donado por:
Suero anti-Antígeno B	MVZ Nicolás de Miguel
Suero anti-T. <u>saginata</u>	Biol. Bertha Espinoza
Suero anti-T. <u>crassiceps</u>	Dr. S. Geerts
Gammaglobulina anti-cisticerco de T. <u>solium</u>	M. en C. Agustín Plancarte
Suero anti-cisticerco de T. <u>saginata</u>	Dr. Kaare Lindkvist
Suero anti-un componente del cisticerco de T. <u>saginata</u>	Dr. Kaare Linkvist
Suero anti-líquido del cisticerco de T. <u>hydatigena</u>	Dr. Kaare Lindkvist
Suero anti-Fasciola <u>hepatica</u>	Biol. Bertha Espinoza
Suero anti-Ascaris <u>lumbricoides</u>	Biol. Bertha Espinoza
Suero anti-Parascaris <u>equorum</u>	Biol. Bertha Espinoza
Suero anti-Macracanthorhynchus <u>hirudinaceus</u>	Biol. Bertha Espinoza

## 2.5 Immunolectroforesis

Para investigar la presencia del antígeno B, así como las reacciones cruzadas entre los diferentes extractos antigénicos, se utilizó la prueba de inmunolectroforesis (IEF). Se colocaron 25 ml de agar-agar (Merck) al 1 % en solución amortiguadora de barbital 0.05 M, pH 8.6 con azida de sodio al 0.02 %, sobre cada inmunomarco que sostenía 6 portaobjetos; se dejó solidificar el agar a 4°C durante 24 hrs en cámara húmeda. Se perforó el agar siguiendo el patrón de Grabar (30) y se extrajo de los pozos en los que se depositaron 20 ul de extracto; los inmunomarcos se colocaron en una cámara de electroforesis que contenía la

misma solución amortiguadora de barbitol; se formó un puente de corriente con tiras de papel filtro y se aplicaron 10 mA por inunomarco durante 2 hrs. Una vez terminada la electroforesis de los antígenos, se extrajo el agar de los canales y se añadieron 200 ul de los antisueros, dejándose difundir 48 hrs a temperatura ambiente en cámara húmeda; los inmunomarcos fueron lavados con 6 cambios de solución salina 0.85 % a 4°C, utilizándose - - 1 lt por cada inmunomarco en cada cambio. Después se cubrió el agar con papel filtro, se secaron con aire, se quitó el papel y se tiñeron con amido negro al 0.1 % en ácido acético al 10 % durante 10 minutos; el exceso de colorante se eliminó con ácido acético al 10 % conteniendo glicerol al 1 %, durante 2 hrs. Se dejaron secar, se rotularon y se analizaron en un negatoscopio.

## 2.6 Doble inmunodifusión

Para analizar si había reacciones de identidad entre los diferentes extractos antigénicos y el antígeno B, se utilizó la técnica de doble inmunodifusión (DID). Se prepararon los inmunomarcos de la misma manera que para inmunolectroforesis, utilizando como solución amortiguadora PBS. Se perforó el agar siguiendo el patrón habitual (31), se extrajo el agar de los pozos, se colocaron 20 ul (1 mg/ml) de antígeno B del cisticerco de T. solium en los pozos superior e inferior de cada DID y los extractos antigénicos en los pozos laterales; en el pozo del centro se puso suero anti-B; se dejaron difundir 48 hrs a temperatura ambiente en cámara húmeda, siguiendo el resto de la técnica similar a la utilizada para IEF.



### 3.0 RESULTADOS

El rendimiento del método utilizado para la extracción de antígenos (KCl 3 M) (20,32), como se muestra en la Tabla I, fue de 10.8 a 36.6 mg de proteína por gramo de peso húmedo de los parásitos, no se tomó en cuenta el rendimiento obtenido con los cisticercos de T. saginata porque se encontraban en vías de degradación cuando fueron procesados, posiblemente debido al largo tiempo de almacenaje; así como tampoco el rendimiento del Dipylidium caninum, por haber sido procesado con PBS sin KCl.

Puede observarse en la Tabla I que hay variaciones en el rendimiento obtenido con los diversos parásitos, en los casos en los que se utilizó mayor peso húmedo de parásitos al procesar los, era de esperarse que el rendimiento fuera más alto que en los que se utilizó menor cantidad en peso húmedo, sin embargo, no hubo un aumento en el rendimiento.

Las concentraciones finales de los antígenos empleados en inmunolectroforesis y en doble inmunodifusión se muestran en la misma tabla. En los casos en los cuales la concentración de proteína fue baja, se debió a que no se obtuvo suficiente material para alcanzar una concentración alrededor de 10 mg/ml.

La calidad de los antígenos se probó por IEF frente a algunos antisueros homólogos, en la Tabla II y en la figura 6 se observa que los antígenos analizados forman entre 5 y 15 bandas de precipitación con sus sueros específicos y de 1 a 10 bandas de precipitación de reacción cruzada.

Cuando los antígenos fueron probados contra suero anti-B en IEF se observaron los siguientes resultados: todos los céstodos presentaron una banda de precipitación, con excepción del líquido del quiste del Echinococcus granulosus; el extracto de Fasciola hepatica dió una banda de precipitación; ninguno de

TABLA I

CONCENTRACION DE PROTEINAS DE LOS EXTRACTOS ANTIGENICOS Y RENDIMIENTO OBTENIDO

Antígenos de:	Peso húmedo (P.h.) (gr) de parásitos	Rendimiento (mg P/gr.P.h.) de proteínas	Concentración (mg/ml) de extractos
<b>PLATYHELMINTHES</b>			
<b>Cestoda</b>			
<u>Taenia solium</u>	2.7	30.0	8.0
Cisticerco de <u>T. solium</u>		N D	15.0
Líquido del cisticerco de <u>T. solium</u>		N D	11.0
<u>T. saginata</u>		E.c.	10.0
Cisticerco de <u>T. saginata</u>	3.7	5.1	12.0
Cisticerco de <u>T. hydatigena</u>	1.8	14.8	11.0
Líquido del cisticerco de <u>T. hydatigena</u>		N D	8.1
Cisticerco de <u>T. pisiformis</u>		E.c.1.	7.0
Líquido del cisticerco de <u>T. pisiformis</u>		N D	9.0
<u>T. taeniaeformis</u>		E.c.1.	5.0
Líquido del quiste de <u>Echinococcus granulosus</u>		N D	15.0
Cisticerco de <u>T. crassiceps</u>		E.c.1.	3.0
<u>Dipylidium caninum</u>	12.0	2.3*	3.4
<b>Trematoda</b>			
<u>Fasciola hepatica</u>		N D	7.5
<b>Turbellaria</b>			
<u>Dugesia sp.</u>	2.0	17.5	10.0
<b>NEMATODA</b>			
<u>Ascaris lumbricoides</u>	4.4	36.6	7.5
<u>A. suum</u>	83.6	10.8	12.0
<u>Parascaris equorum</u>		E.c.	15.0
<u>Onchocerca volvulus</u>		N D	6.5
<b>ACANTHOCEPHALA</b>			
<u>Macracanthorhynchus hirudinaceus</u>	44.5	25.8	20.0

\*Procesado con PBS sin KCl. N D= no determinado. E.c.= extracto crudo. E.c.1.= extracto crudo liofilizado.

TABLA II

NUMERO DE BANDAS DE PRECIPITACION OBTENIDAS  
EN INMUNOELECTROFORESIS

Antígenos	Antisueros									
	aE	aTsg	aTsgC	aTsgC"c"	aTcC	aThCl	aFh	aAl	aPeq	aMh
Tsol	1	4	ND*	ND	ND	5	ND	0	ND	ND
TsolC	15	8	10	3	ND	7	0	0	ND	ND
TsolCl	6	6	7	1	ND	7	ND	0	ND	ND
Tsg	7	15	8	3	ND	ND	ND	0	ND	ND
TsgC	1	3	5	1	ND	ND	ND	0	ND	ND
ThC	1	6	ND	ND	ND	6	ND	0	ND	ND
ThCl	7	2	ND	ND	ND	10	0	0	ND	ND
TpC	3	4	ND	ND	ND	ND	ND	0	ND	ND
TpCl	7	7	1	ND	1	1	0	0	ND	ND
Tt	6	6	6	ND	3	7	0	0	ND	ND
TcC	4	2	5	ND	7	ND	0	0	0	ND
Dc	2	4	ND	ND	ND	ND	1	0	0	ND
EgQl	2	2	ND	ND	ND	ND	0	0	0	ND
Fh	1	1	ND	ND	ND	ND	8	0	ND	ND
Dg	1	0	1	0	ND	1	0	0	ND	ND
Al	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	6	6	ND
As	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	8	6	ND
Peq	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	4	8	ND
Ov	0	0	ND	ND	ND	ND	0	1	2	ND
Mh	0	0	ND	ND	ND	ND	0	0	0	6

Tsol: Taenia solium  
 TsolC: Cisticerco de T. solium  
 TsolCl: Líquido del cisticerco de T. solium  
 Tsg: T. saginata  
 TsgC: Cisticerco de T. saginata  
 ThC: Cisticerco de T. hydatigena  
 ThCl: Líquido del C. de T. hydatigena  
 TpC: Cisticerco de T. pisiformis  
 TpCl: Líquido del C. de T. pisiformis  
 Tt: T. taeniaeformis  
 TcC: Cisticerco de T. crassiceps  
 Dc: Dipylidium caninum  
 EgQl: Líquido del quiste de Echinococcus granulosus  
 Fh: Fasciola hepatica  
 Dg: Dugesia sp.  
 Al: Ascaris lumbricoides  
 As: Ascaris suum  
 Peq: Parascaris equorum  
 Ov: Onchocerca volvulus  
 Mh: Macracanthorhynchus hirudinaceus

aE: Gammaglobulina anti-extracto de cisticerco de T. solium  
 aTsg: Suero anti-T. saginata  
 aTsgC: Suero anti-cisticerco de T. saginata  
 aTsgC"c": Suero anti-un componente del cisticerco de T. saginata  
 aTcC: Suero anti-cisticerco de T. crassiceps  
 aThCl: Suero anti-líquido del cisticerco de T. hydatigena  
 aFh: Suero anti-Fasciola hepatica  
 aAl: Suero anti-Ascaris lumbricoides  
 aPeq: Suero anti-Parascaris equorum  
 aMh: Suero anti-Macracanthorhynchus hirudinaceus  
 \*ND No determinado

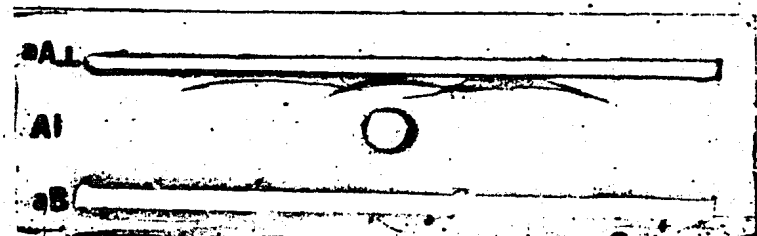
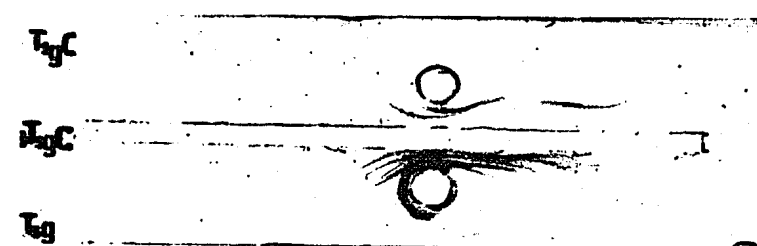
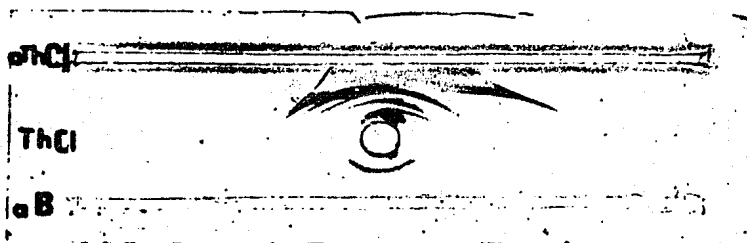
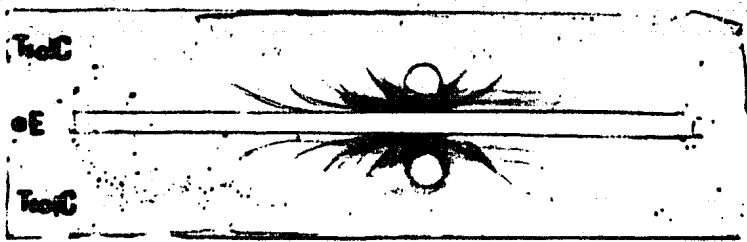


Figura 6 Immunolectroforesis de algunos de los extractos frente a sueros homólogos.  
 TsoC: cisticerco de T. solium; Tsg: T. saginata;  
 TcC: cisticerco de T. crassiceps; TsgC: cisticerco de T. saginata; ThCl: líquido del cisticerco de T. hydatigena; Fh: Fasciola hepatica; Mh: Macracanthorhynchus hirudinaceus; Al: Ascaris lumbricoides; Peg: Parascaris equorum.  
 aE: gammaglobulina anti-cisticerco de T. solium.

los nemátodos reaccionó frente a suero anti-B, así como tampoco el antígeno de Dugesia sp., ni el de Macracanthorhynchus -- -- hirudinaceus. Estos resultados se ilustran en la figura 7 y se resumen en la Tabla III.

Para probar la identidad antigénica de las proteínas reconocidas por el suero anti-B en los diferentes extractos antigénicos, se utilizó la DID colocando dichos extractos junto al antígeno B para demostrar la presencia de bandas de identidad. Como se muestra en la figura 8, se encontró identidad entre el antígeno B y todos los antígenos de céstodos que formaron la banda isoeléctrica en IEF: adulto, larva y líquido vesicular, siendo identidad parcial en el caso del cisticerco de T. hydatigena. El antígeno de F. hepatica también presentó identidad con el antígeno B. En cuanto a los antígenos de nemátodos, de Dugesia sp. y de M. hirudinaceus, ninguno presentó banda de precipitación.

La identidad del antígeno B en diferentes parásitos también se analizó de manera indirecta por IEF usando como antígeno los diferentes extractos, los que reaccionaron con suero anti-B y sueros anti-extractos heterólogos. Ejemplos de estos son los que se ilustran en las primeras 4 laminillas de la figura 7.

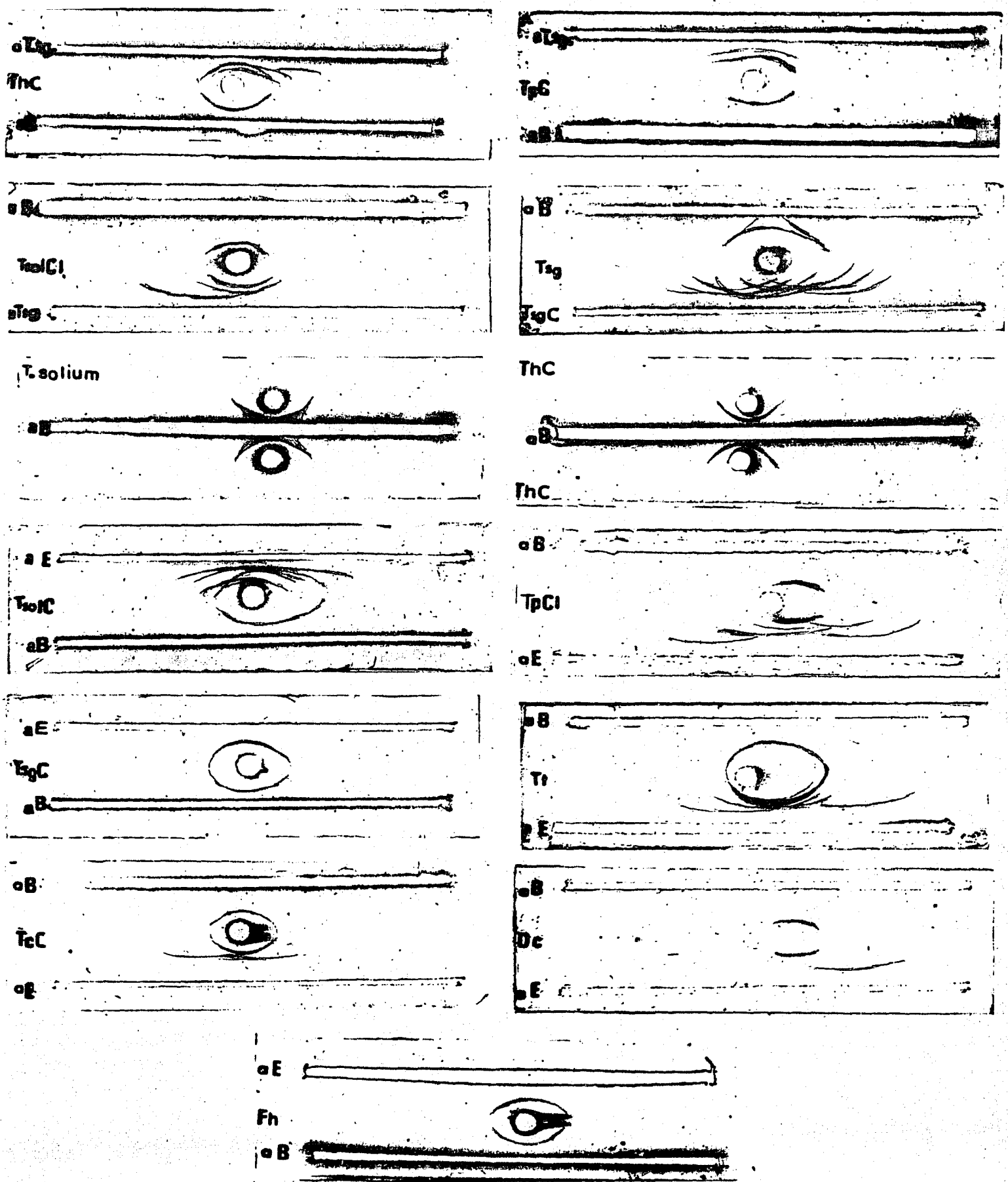
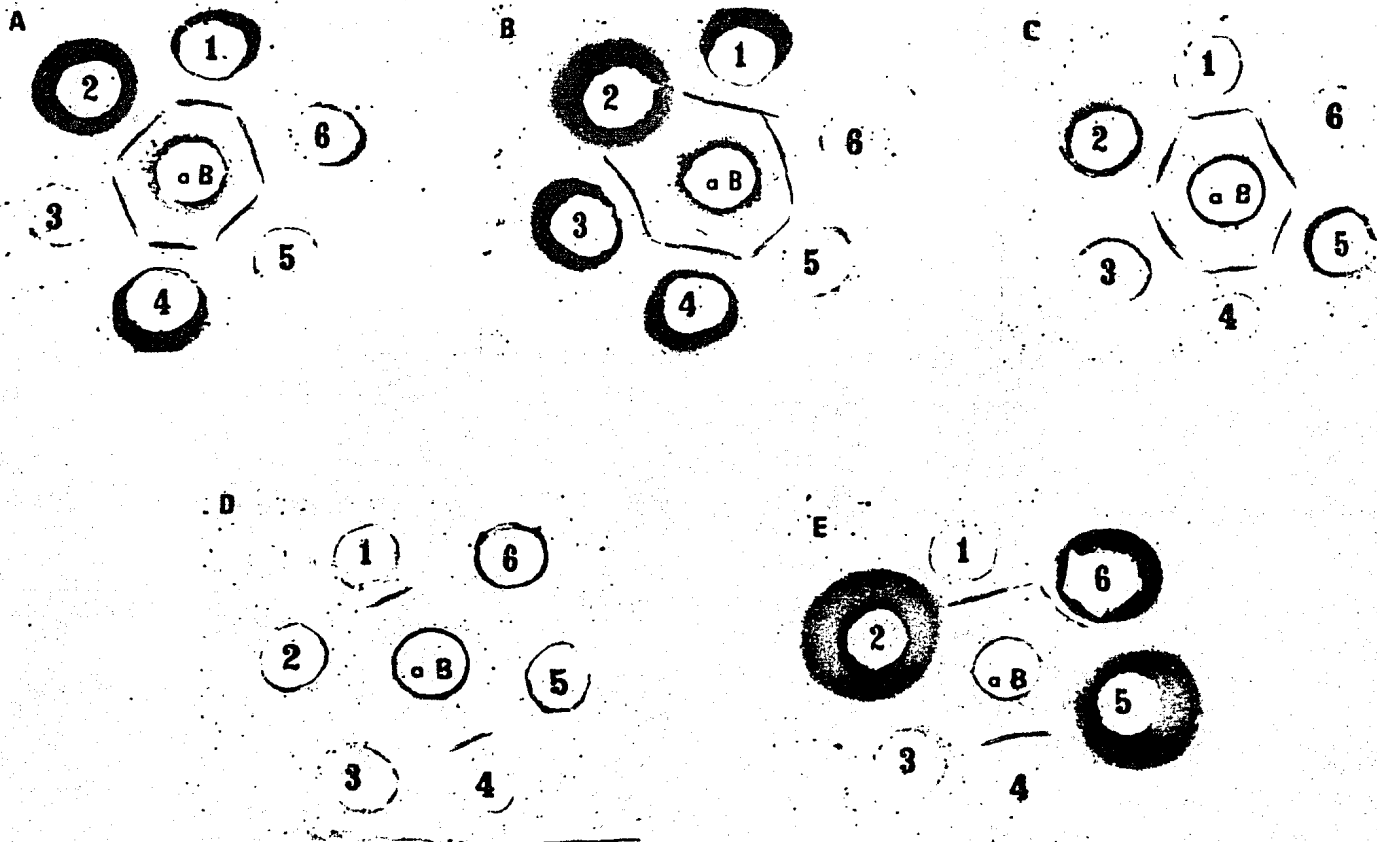


Figura 7 Extractos antigénicos que reaccionaron frente al suero anti-B por inmunoelectroforesis. Las abreviaturas son las usadas en la Tabla II.

TABLA III

PRESENCIA DE LA BANDA DE PRECIPITACION CORRESPONDIENTE  
AL ANTIGENO B EN LAS IEF DE LOS DIVERSOS EXTRACTOS

Antígenos	Suero anti-antígeno B
Tsol: <u>Taenia solium</u>	+
TsolC: Cisticerco de <u>T. solium</u>	+
TsolCl: Líquido del cisticerco de <u>T. solium</u>	+
Tsg: <u>T. saginata</u>	+
TsgC: Cisticerco de <u>T. saginata</u>	+
ThC: Cisticerco de <u>T. hydatigena</u>	+
ThCl: Líquido del C. de <u>T. hydatigena</u>	+
TpC: Cisticerco de <u>T. pisiformis</u>	+
TpCl: Líquido del C. de <u>T. pisiformis</u>	+
Tt: <u>T. taeniaeformis</u>	+
TcC: Cisticerco de <u>T. crassiceps</u>	+
Dc: <u>Dipylidium caninum</u>	+
EgQ1: Líquido del quiste de <u>Echinococcus granulosus</u>	-
Fh: <u>Fasciola hepatica</u>	+
Dg: <u>Dugesia</u> sp.	-
Al: <u>Ascaris lumbricoides</u>	-
As: <u>Ascaris suum</u>	-
Peq: <u>Parascaris equorum</u>	-
Ov: <u>Onchocerca volvulus</u>	-
Mh: <u>Macracanthorhynchus hirudinaceus</u>	-



A	B	C	D	E
1 Ag B	1 Ag B	1 Ag B	1 Ag B	1 Ag B
2 Tsg	2 Dg	2 TsolCl	2 Peq	2 EgQl
3 TsgC	3 TcC	3 Dc	3 Ov	3 Dg
4 Ag B	4 Ag B	4 Ag B	4 Ag B	4 Ag B
5 TsolC	5 TpC	5 Fh	5 Al	5 Mh
6 Tsol	6 ThC	6 ThCl	6 As	6 Tt

Figura 8 Reacciones de identidad en doble inmunodifusión de los extractos antigénicos contra suero anti-B. El significado de las abreviaturas puede verse en la Tabla II.



#### 4.0 DISCUSION

Los extractos antigénicos obtenidos con KCl 3 M, cuyo método se describe en la figura 4, en general, presentan un rendimiento alto que va desde 10.8 hasta 36.6 mg de proteína por gramo de peso húmedo del parásito, exceptuando el caso del cisticerco de T. saginata en el que el rendimiento fue de 5.1 mg de proteína por gramo de peso húmedo; este abatimiento en el rendimiento pudo deberse a que los cisticercos con los que se hizo el extracto antigénico no se veían en muy buenas condiciones ya que presentaban cierto grado de degradación, sin embargo, no se excluyeron del análisis por la dificultad de su obtención, ya que en México no es muy frecuente encontrar carne de bovino parasitada, por lo menos aparentemente (33). En cuanto al rendimiento del extracto antigénico de D. caninum debe aclararse que el método de obtención fue diferente: se utilizó únicamente PBS para su homogenización, resultando un rendimiento menor con respecto al obtenido por el método de KCl 3 M: 2.3 mg de proteínas por gramo de peso húmedo. El método utilizado para la obtención de la mayoría de los extractos antigénicos parece ser bueno para las condiciones de un laboratorio, según se ha reportado (32), pero no se puede extrapolar a otros niveles.

Las variaciones obtenidas en el rendimiento en los distintos organismos, parece sugerir que al usar mayores cantidades de peso húmedo de organismos, este disminuye, lo cual podría deberse a pérdidas de proteínas durante el procesamiento de mayores volúmenes: en la homogenización, por no solubilizar toda la proteína existente, o bien porque haya proteínas insolubles con este método cuyo peso húmedo sea considerable; en la centrifugación, por precipitación de proteínas agregadas o insolubles; o en la diálisis, por pérdida de proteínas de bajo peso molecular. Por otro lado, debe tomarse en cuenta que los organismos estudiados tienen características morfológicas y fisiológicas diferentes y por lo tanto estas variaciones en el rendimiento no pueden ser comparativas.

Cuando los antígenos se probaron con los antisueros homólogos se observó el mayor número de bandas de precipitación, como se ha reportado previamente (34,35,36,37), o cuando menos un número no menor al encontrado entre sistemas no homólogos, salvo en el caso del cisticerco de T. saginata en el que nuevamente se mostró que el extracto obtenido tuvo un bajo contenido de proteínas antigénicas. El suero anti-cisticerco de T. saginata estaba en buenas condiciones porque se observó mayor número de bandas cuando reaccionó con otros sistemas, por ejemplo, contra cisticerco de T. solium en donde se obtuvieron 10 bandas de precipitación, es decir, el doble que en el sistema homólogo (Tabla II). Otro sistema homólogo que presentó un menor número de bandas con respecto a los de reacción cruzada fue el sistema A. lumbricoides-anti-A. lumbricoides. En este caso pudo haber pérdida de proteínas antigénicas en el proceso de obtención del parásito, ya que generalmente se obtiene del humano por administración de Mebendazol, que es una droga antihelmíntica que causa daño al parásito (38). Esto no sucedió con los Ascaris de cerdo (A. suum) porque fueron obtenidos directamente del intestino después de la matanza, por ello podría explicarse el mayor número de bandas entre A. suum y suero anti A. lumbricoides.

Las reacciones cruzadas entre los diferentes antígenos probados con distintos antisueros por IEF, mostraron la existencia de una gran cantidad de antígenos compartidos entre organismos filogenéticamente cercanos. Todos los platelmintos presentaron antígenos de reacción cruzada entre sí, siendo mayor el número de antígenos compartidos entre los céstodos; en los nemátodos también se encontraron antígenos de reacción cruzada en el sistema nemátodo- anti-nemátodo, pero no dieron bandas de precipitación con los sueros anti-céstodos ni con el suero anti-F. hepatica. El antígeno de F. hepatica mostró únicamente una banda de precipitación cuando fue probado contra el suero anti-T. saginata y contra la gammaglobulina anti-cisticerco de T. solium, mientras que con su antisuero homólogo mostró 8 bandas de precipitación, lo que indica una menor reactividad cruzada que la encontrada entre céstodos. Por otro lado, Dugesia sp. presenta una

banda de precipitación en IEF frente a la gammaglobulina anti-cisticerco de T. solium, así como frente al suero anti-cisticerco de T. saginata y suero anti-líquido del cisticerco de T. hydatigena (Fig. 9); aunque esta banda no corresponde al antígeno B, apoya la teoría de que los turbelarios están muy relacionados con los céstodos (39). El extracto antigénico de M. hirudinaceus no presentó ninguna reacción al probarse con algunos de los antisueros utilizados, pero sí con su antisuero homólogo; este dato fue encontrado también por Oliver González, utilizando la prueba de hemaglutinación indirecta (40).

Los resultados muestran que el antígeno B se encuentra en casi todos los platelmintos probados, ya que se identificó en los extractos de los céstodos, salvo en el caso del líquido del quiste de E. granulosus, en el que no se detectó antígeno B por los métodos utilizados, sin embargo, esto no es concluyente, ya que no se utilizó la membrana, o los escólices del quiste, ni el estado adulto del parásito; y, el antígeno B se encontró también en el único tremátodo probado, F. hepatica.

Los resultados de doble inmunodifusión muestran identidad entre los diferentes extractos, en lo que a antígeno B se refiere, sugiriendo que se trata de la misma proteína, o que antigénicamente es muy parecida, excepto en el caso del cisticerco de T. hydatigena en el que el parecido es menor, pues la banda que se formó es de identidad parcial; sin embargo, en IEF inversa, se observó una banda de identidad total (Fig. 7); esto puede deberse a que en DID se compararon directamente a los antígenos y en IEF inversa se usaron los antisueros.

Considerando que únicamente los platelmintos tienen antígeno B, pudiera ser que su distribución esté relacionada con su hábitat parasitario, ya que no se encontró en Dugesia sp. que es un platelminto de vida libre. Este hallazgo sugiere que el antígeno B podría tener implicaciones en la relación Huésped-Parásito. Esta hipótesis se apoya en los resultados obtenidos por -

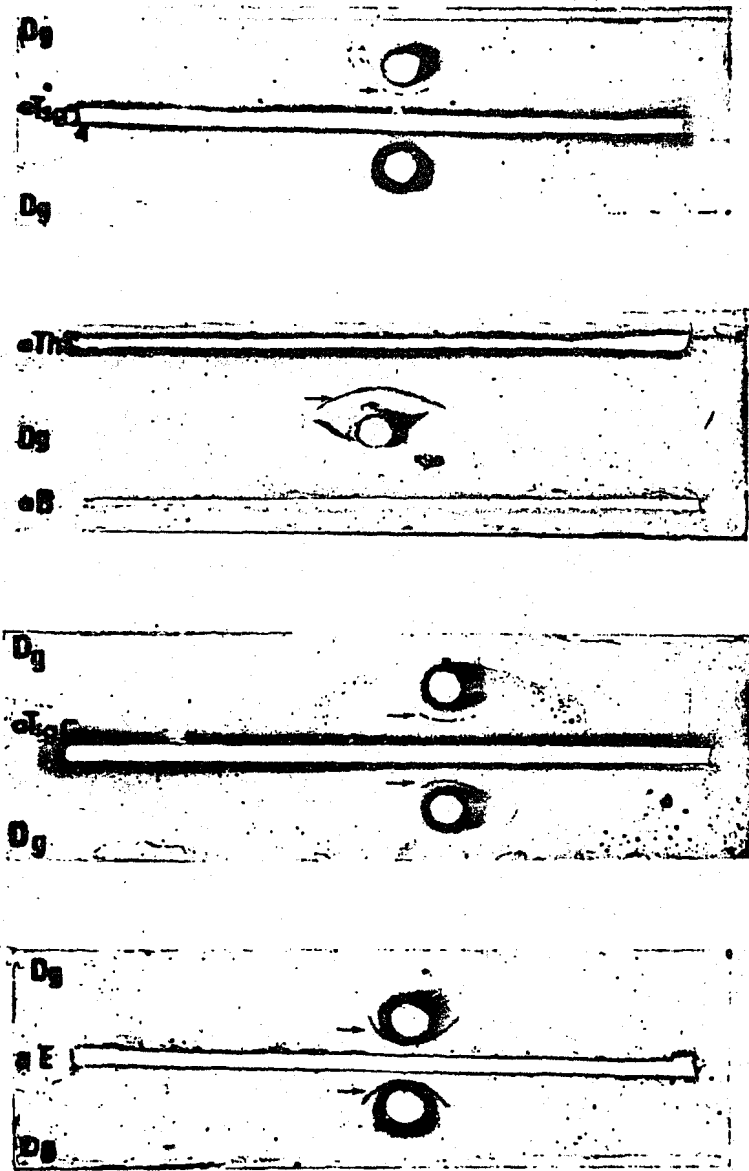


Figura 9 IEF del antígeno de Dugesia sp. (Dg) frente a los sueros con los que presentó una banda de precipitación. aTsg: suero anti-Taenia saginata; aThC: suero anti-cisticerco de T. hydatigena; aTsgC: suero anti-cisticerco de T. saginata; aE: gammaglobulina anti-cisticerco de T. solium.

Plancarte (25) que demuestran que el antígeno B tiene función de fibronectina, la cual podría ser importante para el mantenimiento del cisticerco dentro de un huésped inmunológicamente reactivo.

Los datos obtenidos en este trabajo, apoyan que las diferentes especies de platelmintos son organismos que se encuentran relacionados entre sí; sin embargo, aunque sus relaciones filogenéticas no son muy claras, y existe gran controversia en las hipótesis que se postulan sobre el platelminto ancestral y la posible diversificación y radiación adaptativa del Phylum, en general se está de acuerdo con su estrecho parentesco, y en la posibilidad de evolución de unos a partir de otros, aunque no se ha dilucidado el camino de dicha evolución (41,52,43,44,45,46).

Los turbelarios son considerados como la clase más primitiva, cuya evolución hacia el parasitismo involucra adaptaciones importantes en su estructura y fisiología, que se traducen en cambios hacia la complejidad (47). Se propone que los céstodos, que son todos parásitos, han evolucionado a partir de turbelarios comensales o parásitos (39); no obstante, también se postula que evolucionaron a partir de monogeneos, que a su vez derivaron de turbelarios (46,48). Los pasos de la evolución de los platelmintos parásitos son aún inciertos, para esclarecerlos se considera necesario tomar en cuenta a los parásitos en la perspectiva total de sus huéspedes definitivos, huéspedes intermediarios, morfología, histología, citología y evolución de su ciclo de vida, para poder evaluar relaciones sistemáticas y evolutivas, haciendo énfasis en la evolución de la relación Huésped-Parásito y en las adaptaciones que involucran a ambos organismos (37,45,46).

De los datos obtenidos en este estudio, consideramos que se puede postular que el antígeno B es representativo y exclusivo de platelmintos, sin embargo, para poder concluir que este antígeno es característico de los organismos parásitos de este Phylum, es necesario analizar un mayor número de especies de

turbelarios de vida libre, comensales y parásitos; así como especies de tremátodos y céstodos pertenecientes a otros Ordenes y a otras Familias. Si se logra demostrar esta hipótesis, entonces será aún más interesante el dilucidar la participación del antígeno B en la relación Huésped-Parásito.

## 5.0 BIBLIOGRAFIA

1. WOODHOUSE, E., FLISSER, A. and LARRALDE, C. Seroepidemiology of Human Cysticercosis in Mexico. En: Cysticercosis, Present Stage of Knowledge and Perspectives. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltran, F. Eds. Academic Press Inc. New York. 11-23, - 1982.
2. HEATH, D.D. The Migration of Oncospheres of Taenia pisiformis, T. serialis and Echinococcus granulosus - - within the intermediate Host. Int. J. Parasitol. 1: 145-152, 1971.
3. FLISSER?a., BULNES, I., DIAZ, M.L., LUNA, R., WOODHOUSE, E., BELTRAN, F., MARTINEZ, B.I. y LARRALDE, C. Estudio Seropidemiológico de la Cisticercosis Humana en Poblaciones Predominantemente Indígenas y Rurales del Estado de Chiapas. Arch. Invest. Med. 7: 107-113, 1976.
4. WOODHOUSE, E. Seroepidemiología de la Cisticercosis Humana en la República Mexicana. Tesis de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. 1979.
5. FLISSER, A. Immunology of Human Cysticercosis. En: Molecules, Cells, and Parasites in Immunology. Larralde, Willms, Ortíz and Sela Eds. Academic Press Inc. New York, 125-144, 1980.
6. VILLASEÑOR, C. Algunos Datos para la Histopatología de la Cisticercosis del Encéfalo. Bol. Lab. Estud. Med. Biol. - Mex. 1: 89-93, 1942.
7. COSTERO, I. Tratado de Anatomía y Patología. Atlante, S.A. p 1495, 1946.
8. BRICEÑO, C.E., BIAGI, F. y MARTINEZ, B. Cisticercosis. Observaciones Sobre 97 Casos de Autopsia. Prensa Médica - Mexicana. 26: 193-197, 1961.
9. BIAGI, F., NAVARRETE, F, PIÑA, A., SANTIAGO, A.M. y TAPIA, L. Estudio de tres Reacciones Serológicas en el Diagnóstico de la Cisticercosis. Rev. Med. Hosp. Gral. 25: 501-508, 1961.
10. FLORES-BARROETA, F., AGUIRRE, J., FERNANDEZ, J., JURADO, J. y VELASCO, F. La Utilidad de los Estudios Postmortem. Patología. 13: 17-35, 1975.

11. HERNANDEZ, M.F. Cisticercosis del Sistema Nervioso Central. Tesis. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, 1975.
12. PEREZ-TAMAYO, R. y FLORES-BARROETA, F. Datos Generales de 2,202 Autópsias. Prensa Médica Mexicana 24: 117-118, 1959.
13. MACIAS, R., RODRIGUEZ, F. y ORDOÑEZ, S. Cisticercosis Cerebral: Anatomía Patológica y Correlación Anatomoclínica. - Neurología. Neurocirujía. Psiquiatría. 11 (4): 271-286, -- 1970.
14. FLORES-BARROETA, F. y VELASCO, A.F. Hallazgos en el Hospital General, Centro Médico Nacional. Gac. Med. Mexicana. 102: 208-215, 1971.
15. RABIELA, M.T., LOMBARDO-RIVERA, L. y FLORES-BARROETA, F. - Cisticercosis Cerebral: Estudio de 68 Casos de Autópsia. - Patología. 10: 27-37, 1972.
16. Zenteno, G. Sintomatología de la Cisticercosis Humana. Rev. Fac. Med. Mex. 11: 41-44, 1968.
17. NIETO, D. Cysticercosis of the Nervous System. Diagnosis by Means of the Spinal Fluid Complement Fixation Test. Neurology. 6: 725-738, 1956.
18. GONZALEZ-BARRANCO, D., SANDOVAL-ISLAS, M.E. y TRUJILLO-VALDEZ, V.M. Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta en Cisticercosis. Arch. Invest. Med. (Mex) 9: 51-58, 1978.
19. FLISSER, A., TARRAB, R., WILLMS, K. y LARRALDE, C. Inmuno-electroforesis y Dobleinmunodifusión en el Diagnóstico de la Cisticercosis Cerebral Humana. Arch. Invest. Med. 6: 1-12, 1975.
20. FLISSER, A., WOODHPUSE, E. and LARRALDE, C. Human Cysticercosis: Antigens, Antibodies and Non-Responders. Clin. Exp. Immunol. 39: 27-37, 1980.
21. FLISSER, A., RIVERA, L., TRUEBA, J., ESPINOZA, B., YAKOLEFF-GREENHOUSE, V., SIERRA, A. and LARRALDE, C. Immunology of Human Neurocysticercosis. En: Cysticercosis, Present Stage of Knowledge and Perspectives. Flisser, A., Willms, K., - - Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltran, F. Eds. Academic Press Inc. New York. 549-563, 1982.
22. YAKOLEFF-GREENHOUSE, V., FLISSER, A., SIERRA, A. and LARRALDE, C. Analysis of Antigenic Variation in Cysticerci Of Taenia solium. J. Parasitol. 68 (1): 39-47, 1982.



23. GUERRA, G., CAÑEDO, L. and RÓDJKIND, M. Proteins of - - - Cysticercus celulosae. En: Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships. H. Van den Bossche Ed. Elsevier/North, Holland Biomedical Press, Amsterdam. 109-115, 1976.
24. GUERRA, G., FLISSER, A., CAÑEDO, L. and LACLETTE, J.P. - Biochemical and Immunological Characterization of Antigen B Purified from Cysticerci of Taenia solium. En: Cysticercosis, Present Stage of Knowledge and Perspectives. - - - Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. Eds. Academic Press Inc. New York. 437-451, 1982.
25. PLANCARTE, A., FLISSER, A. and LARRALDE, C. Fibronectin--like Properties of Antigen B from Cysticerci of Taenia solium. En: Cysticercosis, Present Stage of Knowledge and Perspectives. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. Eds. Academic - - Press Inc, New York. 453-463, 1982.
26. LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N.J., FARR, A.L. and RANDALL, R. J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275, 1951.
27. REISNER, A.H., NEMES, P. and BUCHOLTZ, C. The Use of - - Coomassie Brilliant Blue G250 Perchloric Acid Solution for Staining in Electrophoresis and Isoelectric Focusing on Polyacrylamide Gels. Anal. Biochem. 64: 509-516, 1975.
28. BRADFORD, M.A. Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgrammes Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem. 72: 248-254, 1976.
29. WILLIAMS, C.A. and CHASE, M.W. (Eds) Methods in Immunology and Immunochemistry. Vol. II, Academic Press Inc. New York. 257-283, 1968.
30. GRABAR, P. and WILLIAMS, C.A. Méthode Immunoelectrophorétique d'analyse de melanges de sustancias antigeniques. - Biochem. Biophys. Acta. 17: 67-74, 1955.
31. OUCHTERLONY, O. Handboock of Immunodiffusion and Immunoelectrophoresis. Ann. Arbor. Sci. Publ. Inc. an Arbor M.I. 1968.
32. KAHAN, B.D. and REISFELD, R.A. Water Soluble Human Transplantation Antigen. Proc. Nat. Acad. Sci. 51: 897-904, - 1969.
33. SANCHEZ CARDENAS, F.J. Revisión Bibliográfica de la Cisticercosis Bovina y Porcina: Cysticercus bovis, Cysticercus celulosae, Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. 1976.

34. BIGUET, J., CAPRON, A. et TRAN VAN KY, P. Les Antigenes de Fasciola hepatica, Etude Electrophoretique, Identification des Fracciones et Comparaison avec les Antigenes Correspondant a sept autres Helminthes. Ann. de Parasitol. Hum. - Comp. 37: 220-231, 1962.
35. BIGUET, J., D'HAUSSY, R., CAPRON, A., TRAN VAN KY, P. et AUBY, M. Les Antigenes de Onchocerca volvulus. Bull. Soc. Pathol. Exotique 55: 845-855, 1962.
36. CAPRON, A., BIGUET, J., VERNES, A. et AFCHAIN, D. Estructu re Antigénique del Helminthes. Aspects Immunologiques des Relations Hote-Parasite. Pathol. Biol. 16: 121-138, 1968.
37. ESPINOZA, B. Antígenos Específicos y de Reacción Cruzada - de Helminthos Parásitos. Tesis de Biólogo. Facultad de Cien cias, Universidad Nacional Autónoma de México. 1980.
38. LACLETTE, J.P., GUERRA, G. and ZETINA, C. Inhibition of - Tubulin Polymerization by Mebendazole. Biochem. Biophys. - Res. Communications. 92 (2): 417-423, 1980.
39. LOGACHEV, E.D. Voprosy Zool. Sibiri, Tomskogo Univ., Tomsk. 81-91, 1979.
40. OLIVER GONZALEZ, J. Immunological Relationships among Poly sacharides from various Infectious Organisms. J. Infect. - Dis. 79: 221-225, 1946.
41. DODSON, E.O. Evolución, Proceso y Resultado. Ediciones Ome ga, S.A., España, 171-176, 1963.
42. BARNES, R.D. Zoología de los Invertebrados. Interamericana, México. 1977.
43. VIK, R. Evolution in Cestodes. Parasitology. 82: 63-64, - 1981.
44. MORRIS, S.C. Parasites and the Fossil Record. Parasitology. 82: 489-509, 1981.
45. MACKIEWICZ, J.S. Parasitic Platyhelminth Evolution and - Systematics: Perspectives and Advances Since ICOPA IV, - 1978. En: Parasites-Their World and Ours. D.F. Mettrick and S.S. Desser Eds. Elsevier Biomedical Press. 179- 188, 1982.
46. BROOKS, D.R. Higher Level Classification of Parasitic Pla tyhelminthes and Fundamentals of Cestode Classification. - En: Parasites-Their World and Ours. D.F. Mettrick and S.S. Desser Eds. Elsevier Biomedical Press. 189-193, 1982.

47. BURT, M.D.B. and FLEMING, L.C. Phylogenetic Clues in the Ultrastructure of Turbellaria and Cestoda Tegument. - - Parasitology. 77: xxx-xxxii, 1978.
48. MALMBERG, G. Neoteny or Not in the Cercomeromorphans? - Parasitology. 82: 64-65, 1981.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco la amable donación de Antígenos y Anti-sue-  
ros a las siguientes personas:

Dr. Michael Rickard, Department of Paraclinical Sciences,  
University of Melbourne, Veterinary Clinical Center, Australia.

Dr. M.M.H. Sewell, Centre for Tropical Medicine, Univer-  
sity of Edinburgh, Scotland.

Dr. S. Geerts, Institut de Médecine Tropicale Prince -  
Léopold a Anvers, Belgique.

Dr. Kaare Lindkvist, Department of Public Health, Kenya.

MVZ Nicolás de Miguel, Facultad de Medicina Veterinaria  
y Zootecnia, Universidad Veracruzana, México.

MVZ Evangelina Romero, Facultad de Medicina Veterinaria  
y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Dr. Antonio Acevedo, Facultad de Medicina Veterinaria y  
Zootecnia, U.N.A.M., México.

M. en C. Agustín Plancarte, Instituto de Investigaciones  
Biomédicas, U.N.A.M. México.

Biol. Bertha Espinoza, I.I.B.M., U.N.A.M., México.

Biol. Velia Trejo, I.I.B.M., U.N.A.M., México.