

23
90

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**DETERMINACION DE ANTICUERPOS SERICOS POR IN-
MUNOELECTROFORESIS EN CERDOS INFECTADOS CON
Cysticercus cellulosae.**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

RICARDO LUIS GUTIERREZ ORNELAS

ASESORES: DRA. KAETHE WILLMS
M.V.Z. ALINE S. DE ALUJA

CIUDAD UNIVERSITARIA, D. F.

8260 1979



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.

CONTENIDO

	Pág.
I. - RESUMEN.....	1
II. - INTRODUCCION.....	2
III. - MATERIAL Y METODOS.....	7
IV. - RESULTADOS.....	10
V. - DISCUSION.....	14
VI. - BIBLIOGRAFIA.....	18

I. - RESUMEN

Se evaluó el potencial diagnóstico de la prueba de inmunolectroforesis para la detección de cisticercosis porcina, en 84 cerdos con infecciones naturales masivas y 50 cerdos normales, provenientes de granjas tipo, - - - "Mínimo de enfermedades"*, como control. No se encontró ningún suero positivo en el grupo control y solo 11-17 % de los animales infectados tuvieron anticuerpos precipitantes, indicando que la prueba serológica no es útil para el diagnóstico de animales con infecciones masivas. La inmunosupresión y la fijación de anticuerpos en la superficie de la larva, son discutidos como mecanismos posibles para explicar los resultados negativos.

* Criados en sistema Camborough.

II. - INTRODUCCION

La cisticercosis del cerdo es una de las zoonosis parasitarias más importantes en México. La enfermedad es producida por Cysticercus cellulosa, la fase larvaria de la Taenia solium, que parasita principalmente al cerdo, hombre, perro y raramente a otros animales, como caballo, vaca, gato y rata (14).

El ciclo biológico de la Teniasis, empieza cuando el hombre ingiere carne de cerdo con Cysticercus cellulosa. Hasta donde sabemos, el hombre es el huésped definitivo del cestodo adulto, de manera que es la única fuente de infección de la cisticercosis (5). Los animales y el hombre la adquieren por la ingestión de alimentos o agua contaminada con materia fecal humana, que contiene proglótidos y/o huevecillos libres de Taenia solium, los que al llegar al aparato digestivo del huésped intermediario (cerdo, hombre, perro, etc.), liberan al embrión hexacanto que atraviesan la pared intestinal y migran, por el torrente sanguíneo, a los tejidos, principalmente: músculo estriado, miocardio y sistema nervioso central en donde se desarrolla la fase larvaria que es el cisticerco (14, 18).

En el cerdo, la cisticercosis es la principal causa de decomiso de canales en rastros donde se realiza inspección sanitaria, por lo que constituye un problema económico y de salud pública importante (16, 25, 34).

El número de humanos afectados por esta enfermedad es considerable y son particularmente serios los cuadros clínicos con sintomatología del Sistema Nervioso Central. En la Unidad de Neurocirugía del Hospital Gene-

ral de México de la Secretaría de Salubridad y Asistencia, en el año de 1972 se publicó una revisión de dos años en la que se reportó que en el 33% de las craneotomías se confirmó cisticercosis cerebral (34) y que el 11% de todos los pacientes internados en esa Unidad de 1953 a 1959, padecían cisticercosis (5). Por medio de autopsias realizadas en este mismo Hospital, se diagnosticaron 1.9% de defunciones causadas por esta enfermedad en un periodo de seis años (5, 6). En el Hospital Juárez, se efectuaron 7,914 autopsias, entre los años 1953 a 1967, en 107 (1.3%) de ellas se diagnosticó cisticercosis como causa de muerte.

Los métodos de diagnóstico con los que se dispone actualmente en -- Medicina Veterinaria, para este padecimiento son:

1. - Diagnóstico clínico, que da una confiabilidad del 5 al 10% (9); -- consiste en la inspección y palpación de lengua, músculos maseteros y anco neo, en ojo por oftalmoscopia.

2. - Diagnóstico postmortem, en la inspección sanitaria de rutina en los rastros da una confiabilidad del 98.9%, cuando ésta se realiza de mane- ra correcta (35).

Aún cuando los métodos de inspección sanitaria han mejorado en los rastros, así como en los centros de producción porcina, un importante nú- mero de canales con reducida cantidad de larvas, no es decomisado, por no detectarse el parásito a la inspección macroscópica (35).

La enfermedad es importante desde el punto de vista económico, de- bido a las pérdidas que sufren los poricultores, a causa del decomiso. Re- sendiz refiere, que en el año de 1957 se perdieron \$ 1'509,815.40 en el ras- tro de Ferrería (25).

Reyna, en 1962, encuentra en el rastro general del D. F., un total de 1,316 canales cisticercosas, en 36,869 cerdos inspeccionados, dando -- una frecuencia de 3.6% (26).

Estudios realizados en el año de 1970 (35), en el rastro de Cd. Netzahualcoyotl, Edo. de México, indicaron que en mil canales de cerdo, que habfan pasado como sanas en la inspección de rutina, se encontraron 11 positivas a Cysticercus cellulosae a la reinspección minuciosa (disección de músculos maseteros, lengua y diafragma). Esto significa que hubo 1.1% -- de error en la primera inspección. Si consideramos que la frecuencia de -- cisticercosis que se reportó en el mismo rastro durante los años de 1967 -- y 1968 fué de 3.36% y 4.6% respectivamente, con una matanza de 58,538 -- cerdos para 1967 y 49,971 para 1968, puede asumirse que 1,189 canales -- cisticercosas fueron autorizadas para consumo humano (35).

En el periodo comprendido entre enero y mayo de 1973, se decomisaron 3,919 canales de cerdo cisticercosas en 9 rastros del Edo. de México, lo que representó una pérdida de \$3'834,408.50 y constituyó el 74.73% del total del decomiso; el resto del decomiso ó sea 1,156 canales (25.27%) correspondió a otras causas (16).

Martell y Hernández, en 1970 encontraron que de 661 cerebros de -- perros sospechosos de rabia, 6 tenfan Cysticercus cellulosae, estos últimos presentaron signos de excitación, salivación, anorexia, nistagmus, incoordinación, parálisis posterior y muerte. Concluyen que la cisticercosis es -- un problema serio en México en la especie canina (17).

3. - Métodos inmunológicos, que no son de uso rutinario, entre los que se encuentran: fijación de complemento, hemaglutinación indirecta, -- precipitación en agar y reacciones cutáneas. Todas ellas se han empleado desde hace más de medio siglo, no solo en cisticercosis, sino en diversas enfermedades parasitarias, sin embargo, no se ha llegado a una confiabilidad aceptable, mucho menos al éxito que éstas mismas han alcanzado en bacteriología y virología. Pruebas realizadas en 1969 por Rodríguez (31) - con inmunodifusión en gel de agar, dieron resultados negativos, por lo que esta prueba parecía carente de sensibilidad. El mismo autor reporta estudios en precipitación capilar, con el resultado siguiente: 77.8% de positividad en casos de cisticercosis comprobada, contra 22.8% de falsos positivos, en testigos sanos comprobados, demostrando que ésta prueba tenía poca -- sensibilidad y especificidad.

En la cisticercosis humana, se han realizado numerosas pruebas de laboratorio para la detección de anticuerpos anticisticerco, tanto en líquido cefaloraquídeo como en suero, entre ellas las más importantes son: precipitación en tubo y en agar (2, 21), hemaglutinación (3, 21), fijación de -- complemento (2, 12, 20, 34, 39) y transformación blastogénica de linfocitos in vitro (13). No se han obtenido buenos resultados con ninguna de ellas, en vista de que las pruebas no discriminan satisfactoriamente entre la población de cisticercosos y los no cisticercosos.

La razón de esta variabilidad de resultados, se debe posiblemente a que se emplean diferentes métodos para la extracción de antígenos y las técnicas implican diferente sensibilidad en cuanto a la concentración de an-

ntígenos y anticuerpos requerida, lo que ha dificultado una comparación y estandarización adecuada (3, 4, 12, 13). Es la fijación de complemento la prueba que se emplea con mayor frecuencia en Medicina Humana, descrita por Nieto (19, 20). Esta se realiza en líquido cefaloraquídeo y su ejecución ofrece dificultades de índole técnico, motivo por el cual algunos laboratorios han fracasado en montarla.

En vista que hasta la fecha no se dispone de una prueba serológica confiable en la especie porcina, el diagnóstico de la cisticercosis sigue siendo un problema en Medicina Veterinaria. El objetivo de este trabajo fue el de desarrollar una prueba serológica que permitiera detectar a los cerdos cisticercosos, con miras a facilitar un diagnóstico precoz del padecimiento, evitando el consumo de canales enfermas, además de que los porcícultores podrían ahorrar considerables sumas de dinero, al eliminar los animales afectados antes de iniciar la engorda.

III. - MATERIAL Y METODOS.

1). - Sueros de cerdo. - Se analizaron 134 sueros de cerdo para detectar anticuerpos contra Cysticercus cellulosae:

a). - Primer grupo control: Constató en 50 sueros de cerdos normales, provenientes de una granja tipo, "Mínimo de enfermedades". La sangre se obtuvo durante el sacrificio a partir de la vena yugular, se transportó a 4°C y se separó el suero en el laboratorio por los métodos convencionales. Los sueros se almacenaron a -20°C hasta su uso.

b). - Segundo grupo experimental: constató en 84 sueros de cerdos cisticercosos, todos con infección masiva, los cuales estaban destinados a paila. Se obtuvieron de diferentes rastros periféricos al D.F., la sangre se extrajo de corazón y venas pulmonares inmediatamente después de la evisceración; una vez que se comprobó que eran positivos a Cysticercus cellulosae, por el método de inspección sanitaria de rutina, se transportó la sangre a 4°C, se separó el suero y se almacenó de la misma manera que el grupo control. En el grupo experimental hubo 27 sueros hemolizados, por lo cual se estimó conveniente precipitar las inmunoglobulinas con sulfato de amonio, siguiendo la técnica de Reif (24).

2). - Los antígenos se obtuvieron de acuerdo al método descrito por Flisser y col. (10). La técnica consistió en disecar cisticercos de carne de cerdo parasitada. Los cisticercos lavados varias veces en solución salina amortiguada (S.S.A.) con fosfatos 0.015 M (pH 7.4) y posteriormente se separaron la pared, el escolex y el líquido. La pared y el escolex se homo-

genizaron por separado en una licuadora con una solución de KCl 3M, amortiguada con solución de fosfatos a pH 7.4. Los homogenados así obtenidos se agitaron lentamente durante 16 Hrs. a 4°C para promover una mejor extracción de los antígenos. Los extractos se centrifugaron a 1,500 g durante 30 min. a 4°C para eliminar el precipitado grueso, y se dializaron durante 3 a 4 días contra 40 volúmenes de solución salina fosfato a pH 7.4, conteniendo 0.001 M de etilen-diamino-tetra-acético. Finalmente se centrifugaron los antígenos a 100,000 g por 60 min. a 4°C para eliminar todo el precipitado y decantar la capa de lípidos que se forma en la superficie del tubo de centrifugación. Los extractos antigénicos se almacenaron en alícuotas de 0.5 ml. a -20°C y se descongelaron una sola vez para uso en la inmunoelectroforesis.

3). - Inmunoelectroforesis (IEF). Se utilizó la técnica descrita por Fli^u sser y col. (10), que está basada en las técnicas habituales de IEF (11). Las placas se prepararon con agarosa al 0.8% (Sigma Chemical) en un amortiguador de barbiturato de sodio 0,05 M a pH 8.8 para separación electroforética. Se colocaron 20 μ l de antígeno de escolax (18.5 mg/ml de proteína) en el pozo superior. En el pozo inferior se colocó 20 μ l de un antisuero de escolax (vida infra). La separación electroforética se llevó a cabo durante 60 min a 3mA por laminilla. Al final de la electroforesis, se retiraron los canales centrales preperforados y se colocaron los sueros problema sin diluir. Las placas se incubaron en medio húmedo durante 24 a 48 Hrs. para permitir la difusión de los reactantes y la inmunoprecipitación. Finalmente se lavaron las placas en una solución salina al 1% con dos cambios diarios-

durante tres días para eliminar toda la proteína no precipitada en el gel de agarosa; a las placas se les colocó una tira de papel filtro y fueron secadas a temperatura ambiente, de manera que la agarosa quedó adherida como película a las laminillas de vidrio. Las laminillas se tñieron durante 10 min. con una solución de Rojo Ponceau al 0,2% en ácido acético al 1%; posteriormente se lavaron en ácido acético al 1% para eliminar todo el colorante que no se fijó a las bandas de precipitación. Las laminillas secas se leyeron en un negatoscopio y se cuantificó el número de laminillas positivas, o sea aquellas que presentaron una ó más bandas de precipitación, contra el número de laminillas negativas.

En un lote de 18 sueros obtenidos de animales cisticercosos, se utilizó en el pozo inferior un suero de conejo con anti-inmunoglobulina de cerdo, para asegurar que los sueros obtenidos en los rastros, tengan concentraciones adecuadas de inmunoglobulina.

4). - Obtención de antisueros de conejo. Se inmunizaron conejos con antígeno de escolax y con inmunoglobulina de cerdo (previamente purificada en el laboratorio), por inyección subcutánea en el dorso de los animales de 0.5 mg. de proteína emulsionada en 1 ml. de S.S.A. y 1 ml de adyuvante completo de Freund (Difco). A la tercera y quinta semana se inmunizaron con 1 mg. de proteína* por la misma vfa. Los animales se sangraron una semana después de la última inmunización, y el suero se almacenó en alícuotas a -20°C hasta su uso.

* Según el Método de Lowry (15)

IV. - RESULTADOS

En la tabla Núm. 1 se muestran los resultados encontrados en diferentes tipos de sueros. Los sueros controles (A) fueron uniformemente negativos y significativamente diferentes de los tres conjuntos de sueros - - (B, C, D) obtenidos de animales infectados. Se observa en el grupo B, que únicamente el 17.5% de los sueros mostró una banda de precipitación, (Ver figura 1a). En el grupo C en el que se utilizaron fracciones de IgG de cerdo de sueros infectados, un 11.1% mostraron banda de precipitación (figura 1b); el conjunto de todos los sueros y fracciones de IgG de cerdo, de animales infectados (grupo D), presenta únicamente un 15.4% de reacciones positivas.

Todos los sueros analizados para la presencia de gama-globulina de cerdo, con suero de conejo anti IgG, mostraron una banda de precipitación (figura 2).

Los controles internos de la inmunoelectroforesis, en los cuales se corrieron los antígenos contra un suero de conejo inmunizado con éstos antígenos, fueron uniformemente positivos, mostrando varias bandas de precipitación (figura 3), indicando que la técnica de IEF fué adecuada en todos los lotes de sueros analizados.

El análisis estadístico de la comparación de los sueros infectados - - frente a los controles, mostró diferencias significativas.

TABLA 1

PORCENTAJE DE SUEROS POSITIVOS POR IEF.

Grupos de Sueros	No. de Sueros Positivos/totales	% Pos.	P
A) Control	0/50	0	
B) Infeccionados (suero completo)	10/57	17.5	$<.01$
C) Infeccionados Fracccion $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	3/27	11.1	$<.02$
D) Infeccionados (B + C)	13/84	15.4	$<.01$

El valor de P se obtuvo por analisis de χ^2 del grupo infeccionado versus el control (38).

FIGURA 1 Patrón inmunoelectroforético de algunos sueros de cerdos infectados (canal) contra el extracto antigénico de Cysticercus cellulosae (pozo).

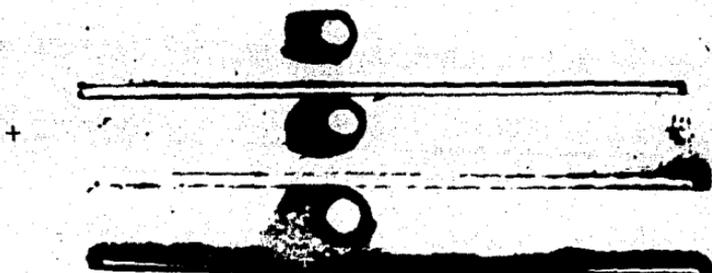


Figura 1-a) Suero completo.

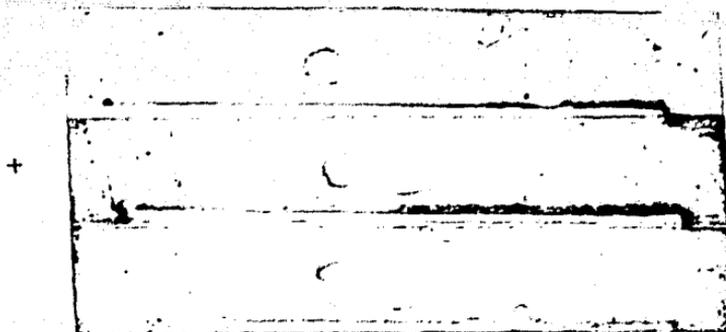


Figura 1-b) Fracción γ -globulina.

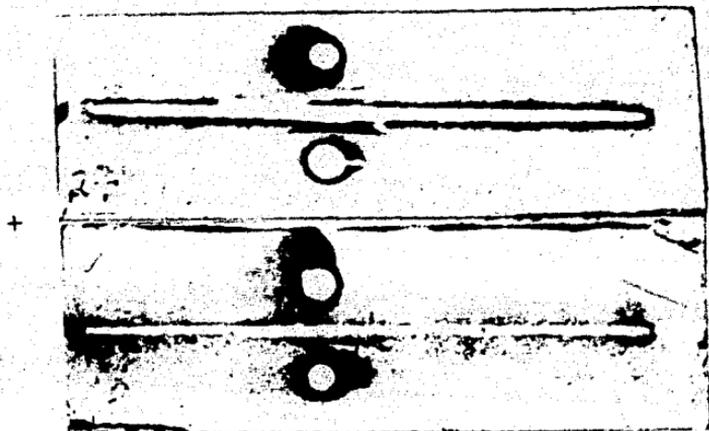


FIGURA 2 Patrón inmunolectroforético de suero de cerdo infectado (canal central) contra el extracto antigénico de Cysticercus cellulosae (pozo superior) y anti γ -globulina de cerdo (pozo inferior); -- aunque no todos los sueros precipitaron con el antígeno, todos ellos reaccionaron con la anti γ -globulina de cerdo.



FIGURA 3 Patrón inmunolectroforético de extracto antigénico de Cysticercus cellulosae frente a γ -globulina anticisticercos (conejo hiperinmune).

V. - DISCUSION.

Este trabajo se realizó con el objetivo principal de buscar una prueba serológica diagnóstica, confiable, barata y práctica, que permitiera detectar a los animales infectados antes de ser sacrificados en el rastro, evitando por un lado las pérdidas económicas (16, 25) que representa mantener animales que serían decomisados, y por el otro, contribuir a métodos más efectivos para interrumpir el ciclo biológico.

Una de las dificultades principales en la inspección sanitaria, es la detección de animales con infecciones mínimas, que no son identificadas por los métodos rutinarios (35).

Otro de los objetivos de éste análisis, fue la búsqueda de una prueba que permitiera realizar análisis seroepidemiológicos en diferentes localidades del país, ya que a la fecha no se tiene información certera sobre la extensión de la infección en cerdos.

La prueba inmunoelectroforética que hemos utilizado, discrimina entre animales sanos y animales masivamente infectados (0 contra 15%) y esta diferencia es estadísticamente significativa (Tabla 1). Sin embargo no detecta anticuerpos precipitantes en un 85% de infecciones graves y por lo tanto no es útil para el serodiagnóstico de cisticercosis porcina. Resultados preliminares obtenidos por Romero, Inclán, Flisser, Acevedo y Larralde (en preparación), en cerdos sacrificados en un rastro de la Ciudad de México, indicaron que el 46.5% de 202 sueros precipitaron en IEF contra el antígeno de la larva y solo el 0.3% de esos cerdos fueron decomisados por cisticercosis en la inspección de rutina; esto sugiere que los anticuerpos séricos

pueden detectarse en animales con infecciones medianas o en animales inmunes.

En todo caso, las infecciones masivas son facilmente detectadas en animales vivos por inspección clinica de la lengua o por inspección sanitaria de rutina en la carne; probablemente estos animales no exceden del 1% como puede verse en la tabla 1 y será necesario analizar la conveniencia de usar la IEF u otra prueba serológica para el diagnóstico de infecciones medianas o leves, las cuales pueden ser mucho mas frecuentes de lo que se habia estimado hasta ahora.

Sin embargo, los resultados en los animales masivamente infectados, fueron inesperados y se consideran algunas posibles explicaciones: Willms y Col. han demostrado previamente, que las larvas de Taenia solium, tienen un determinante antigénico de superficie que fija anti IgG de cerdo (36).

Es posible que animales masivamente infectados fijen grandes cantidades de anticuerpos circulantes en la superficie de la larva, y que esto se refleje en los bajos titulos de anticuerpos séricos. A la luz de las observaciones recientes de Willms y Merchant (37), también debe considerarse la posibilidad de que la síntesis de anticuerpos en contra del parásito se lleve a cabo en la reacción inflamatoria que rodea al cisticerco. Esta reacción, con características de un granuloma crónico con infiltración eosinofílica, contiene también una gran cantidad de células plasmáticas, que son responsables de la síntesis de anticuerpos en el aparato inmunológico (11, 33). Por otra parte, hay evidencia experimental que algunas parasitosis masivas como la tripanosomiasis africana, la malaria, la babesiosis y otras, indu-

cen inmunosupresión en el huésped (1, 7, 23). El mecanismo íntimo de la - inmunosupresión, probablemente se deba a la estimulación de células timo-dependientes supresoras, que liberan factores capaces de inhibir la síntesis de anticuerpos por linfocitos B (células plasmáticas) (32).

También se ha descrito en la literatura, la liberación de antígenos - de secreción y excreción por algunos parásitos (5). El antígeno que nosotros utilizamos para detectar anticuerpos en los cerdos infectados, es un antígeno somático que contiene fundamentalmente moléculas del tegumento y el es colex del parásito. Valdría la pena en un futuro hacer un estudio serológico en cerdos infectados, utilizando antígenos solubles liberados por el parásito. La obtención de éstos antígenos de secreción y excreción, tiene dificultades técnicas, ya que hasta ahora la manera de obtenerlos ha sido de sobrenadantes de cultivo y no se puede excluir que durante el período de incubación los parásitos se rompan y liberen antígenos de líquido vesicular o somáticos. Es posible también, que los cerdos cisticercosos con parásitos - viables sintetizen preferentemente anticuerpos contra antígenos solubles y - que existan en los tejidos y/o en la circulación del animal infectado, complejos antígenos-anticuerpo solubles, que requieren de otras metodologías para ser detectados (36).

La prueba de IEF que hemos utilizado, detecta fundamentalmente antígenos precipitantes del tipo de la IgG. Sin embargo, sabemos por reportes recientes en la literatura (33), que en otras parasitosis es muy frecuente la producción de IgE, un tipo de anticuerpo que es el responsable de fenómenos alérgicos. A la fecha no hay información sobre la naturaleza y concentración

de IgE en cerdos, que pudiera ser por otra parte la principal inmunoglobulina involucrada en la cisticercosis por Taenia solium.

Para estudiar esto será necesario purificar IgE de cerdo y montar -- los métodos adecuados para detectarla.

En conclusión, para realizar estudios seroepidemiológicos o para di señar una prueba serológica que detecte las infecciones leves en cerdos, se rá necesario profundizar alguno de los aspectos señalados arriba; los anima les con infección moderada o masiva son detectados en la inspección sanita- ria de rutina; es indispensable realizar pruebas serológicas en grupos de -- cerdos con infecciones leves, para ver si éstos se correlacionan con una ma yor concentración de anticuerpos séricos. Aparentemente, el método más -- fácil para determinar esto, será montar un modelo experimental con cerdos infectados con huevecillos de Taenia solium en concentraciones y condicio- nes controladas, probablemente utilizando lechones al destete, que ya son - competentes desde el punto de vista inmunológico (33) y en los que la búsque da sistemática de parásitos se visualiza más razonable.

Junto con la inspección cuidadosa, esta prueba serológica permitiría establecer grupos de animales infectados de manera que se pudieran discr minar entre infecciones masivas, moderadas y leves, y correlacionar el -- grado de infección con el título de anticuerpos séricos.

El modelo experimental también podría servir para ensayar la efica- cia de una vacuna contra esta infección. En otras teniasis y cestodiasis co- mo Taenia ovis y Taenia saginata, se ha demostrado que la inmunización con huevecillos de Taenia o sobrenadantes de cultivo de éstos, previene la infec- ción (Rickard 27, 28, 29).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bash J. A., Durkin G., and Waksman B. H.: *Suppressor and Helper Effects of Sensitized T-cell subpopulations in immune recognition.* - Academic Press, Inc. 829, 830 (1975).
- 2.- Biagi, F. F., Navarrete, F., Piña, A., Santiago A. M. y Tapia, L.: *Estudio de tres reacciones serológicas en el diagnóstico de la cisticercosis.* Rev. Méd. Hosp. Gral. 25: 501-503 (1961).
- 3.- Biagi, F. F., Piña, A. y Suárez, A.: *Eosinofilia elevada con manifestaciones viscerales. III. Estudios serológicos con extractos de antígenos de helmintos.* Prensa Méd. Méx. 26: 244-246. (1961).
- 4.- Biagi, F. F., y Tay, J. A.: *Precipitation reaction for the diagnosis of cysticercosis.* Amer. J. Trop. Med. Hyg. 7: 63-65 (1958).
- 5.- Biagi, F. F. and Willms, K.: *Immunologic problems in the diagnosis of human Cysticercosis.* Annales de Parasitologie humaine et comparée. 49: 510-512. (1974).
- 6.- Cienega, R. R.: *Incidencia de Cysticercus cellulosae en cerdos sacrificados en el rastro de León, Gto.* Tesis Prof. E.N.M.V.Z. México (1969).
- 7.- Clinton, B.: *Trypanosoma cruzi early immune responses in infected-mice: Experimental Parasitology* 37: 417-425 (1975).
- 8.- De la Loza S. A., Cura V. J., y Sarabia M. A.: *La mortalidad por enfermedades infecciosas y parasitarias en México y sus proyecciones futuras.* Sal. Públ. Méx. XVII. 6, 757, (1975).
- 9.- Euzéby, J.: *Maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidence sur la pathologie humaine. Maladies dues aux Plathelminthes; Fascicule premier: Cestodes.* Vigot Frère Ed. Paris: II 68-74 y 413-482 (1964).
- 10.- Flisser, A., Tarrab, R., Willms, K., y Larralde, C.: *Inmunolectroforesis y doble inmunodifusión en el diagnóstico de la cisticercosis cerebral humana.* Arch. Invest., Med. Méx. 6: 1-12 (1975).
- 11.- Garvey, J. S. Cremer, N. E. and Sussdorf, D.H.: *Methods in immunology.* Ed. Benjamin W. A., Ind. 3th ed. 37: 328-329 (1977).

12. - Hernández, S.; Ramos, M. C. y Téllez Girón, E.: Investigación de la cisticercosis porcina en San Luis Potosí, México. Bol. Of. Sanit. Panam. 61: 430-431 (1966).
13. - Kretschmer, R., López O. M. y Mateos, J. H.: Nuevas perspectivas en el diagnóstico de la cisticercosis. Gac. Méd. Méx. 103: - - 242-244 (1972).
14. - Lapege, G.: Veterinary Parasitology, Ed. Oliver and Boyd, 291-292 (1976).
15. - Lowry, O. H. Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. Protein Measurement With the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193: 265-275 (1951).
16. - Luna, V. S.: La cisticercosis porcina como principal causa de decomiso en 9 rastros del Estado de México. Tesis, profesional E.N. M.V.Z. México. (1976).
17. - Martell, D. M. y Hernández, H.: *Cysticercus cellulosae* in the - - brains of dogs submitted for rabies diagnosis. Ver. Bul. 41 2: 1019 (1971).
18. - Muñoz, G. M.: Localización anatómica del *Cysticercus cellulosae* - en el cerdo. Tesis profesional E.N.M.V.Z. México (1970).
19. - Nieto, D.: Diagnóstico de la cisticercosis del sistema nervioso. Rev. Pren. Med. Méx. 13: 226 (1948).
20. - Nieto, D.: Cysticercosis of the nervous system. Diagnosis by means of the spinal fluid complement fixation test. Neurology 6: 725 (1956).
21. - Proctor, E.M. y Elson D. R.: Serological test in porcine cysticercosis. S. African J. 62: 264 (1966).
22. - Ramos, C.: *Trypanosoma cruzi*: Immunosuppressed response to different antigens in the infect mouse. Experimental parasitology 45: - 190-192 (1978).
23. - Reed, S.: Chagas disease immunosuppression. Journal of the Reticulo-endothelial Society N.J. 20: 51 (1976).
24. - Reif, A. E.: Batch preparation of rabbit G-globulin with DEAE cellulose. Immunochemistry 6: 723-731 (1969).
25. - Resendiz, M. G.: Cuantificación de las pérdidas económicas por decomiso de carne de cerdo cisticercoso en el rastro de Ferrería. Tesis profesional E.N.M.V.Z. México (1964).

25. - Resendiz, M. G.: Cuantificación de las pérdidas económicas por decomiso de carne de cerdo cisticercoso en el rastro de Ferrería. -- Tesis profesional E. N. M. V. Z. México (1964).
26. - Reyna, R. R.: Contribución al estudio de la cisticercosis porcina. - Sugerencias para su control. Incidencia general en el rastro de la - Cd. de México. Tesis profesional E. N. M. V. Z. México (1962).
27. - Rickard, M. D. and Adolph, A. J.: Vaccination of lambs against -- infection with Taenia ovis using antigen collected during short---- term in vitro incubation of activated T. ovis oncospheres. Parasitology 75 : 183-188 (1977).
28. - Rickard, M. D. and Adolph, A. J., and Arundel J. H.: Vaccination of calves against Taenia saginata infection using antigens collected during in vitro cultivation of larval: passive protection via colostrum from vaccinated cows and vaccination of calves protected by maternal Antibody Res. Vet. Sec. 23 : 365-367 (1977).
29. - Rickard, M. D. and Katiyar, J. C.: Partial purification of antigens - collected during in vitro cultivation of the larval stages of Taenia -- pisiformis. Parasitology 72: 269-279 (1976).
30. - Robbins, S. L.: Patología Estructural y funcional. Interamericana -- . 450 (1975).
31. - Rodríguez, E. R.: Estudio de dos reacciones serológicas para el --- diagnóstico de la cisticercosis porcina por Cysticercus cellulosae. - Tesis profesional. E. N. M. V. Z. México (1969).
32. - Tada, T.: Antigen-specific enhancing and suppressive T cell factors - in the regulation of antibody response. Immune Recognition. Academic Press, Inc. 771-773 (1975).
33. - Tizard Ian R.: An Introduction to Veterinary Immunology W. B. Saunders Company. 237-242 (1977).
34. - Torres, M. A.: Control de enfermedades transmisibles. Secretaría de Salubridad y Asistencia. Pub. Tec. 1: 23-25 (1972).
35. - Vergara, D. J.: Selectividad tisular de Cysticercus cellulosae. Tesis profesional E. N. M. V. Z. México (1970).
36. - Willms K. and Arcos L.: Taenia solium: Host serum proteins on -- the cysticercus surface identified by an ultrastructural immune enzyme technique. Experimental Parasitology 43: 396-406 (1977).

- 37.- Willms, K. and Merchant, M. T. : The inflammatory reaction surrounding Taenia solium larvae in pig muscle: ultrastructural and light - microscopic observations (manuscrito en preparación) (1979).
- 38.- Zar, J. H. : Biostatistical analysis. Prentice- Hall incorporated - - - Englewood Cliffs, N. J. 60-69 (1974).
- 39.- Zenteno, G. : Observaciones sobre claticercosis humana. Rev. Med. Fac. México. 1 : 617-633 (1961).