



201
330

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“DETECCION DE ANTIGENOS DE Cysticercus cellosae,
EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO, MEDIANTE IgG
ACOPLADA A LATEX”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O**

P R E S E N T A :

LAURA ROCIO GASTAÑON OLIVARES

México, D. F.

1986



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

C O N T E N I D O

	Página
I. INTRODUCCION	
1.1 Etiología	2
1.2 Ciclo de vida	3
1.3 Antecedentes y epideiología.	5
1.4 Repercusión económica	11
1.5 Sintomatología	13
1.6 Tratamiento	13
1.7 Inmunología	15
1.8 Diagnóstico	20
2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	26
3. ORGANIZACION DEL TRABAJO	27
4. MATERIAL Y METODOS	28
5. GLOSARIO	41
6. RESULTADOS	42
7. COMENTARIOS	52
8. CONCLUSIONES	54
9. BIBLIOGRAFIA	56

I N T R O D U C C I O N

La vida del hombre está constantemente amenazada por factores ambientales que, en gran parte, determinan su estado de salud; estos factores pueden alterar dicho estado si no comprendemos la trascendencia que tiene la aplicación adecuada de las normas sanitarias.

Existen un sinnúmero de enfermedades infecciosas en todos los medios socioeconómicos, que están íntimamente relacionadas con las condiciones higiénicas practicadas por la sociedad y por el individuo mismo.

Una enfermedad parasitaria, de gran relevancia en muchos países subdesarrollados, es la cisticercosis.

La cisticercosis cerebral es un padecimiento frecuente, desgracia que comparten los países en donde existe miseria (37). En México, es hasta - - 1942, cuando se inician estudios significativos que indican la incidencia de esta enfermedad. En 1944 se registra la cisticercosis como un padecimiento con índices altos de frecuencia (41) y presentando graves manifestaciones clínicas, que en ocasiones llegan a causar la muerte. En 1961 esta enfermedad llegó a ocupar el 9o. lugar como principal causa de muerte en la República Mexicana (8).

Se han hecho diversos estudios para tratar de conocer la frecuencia -- global de la enfermedad en el país; sin embargo, los datos no muestran uniformidad pues los porcentajes oscilan entre el 1.0% (21) y el 28.3% (37) depen-

djendo del tipo de población estudiada y de las técnicas empleadas (3).

El conocimiento real de la frecuencia de esta enfermedad es uno de los requisitos fundamentales para planear la prevención; sin embargo, en nuestro medio, a pesar de que la cisticercosis es un problema de salud pública, este aspecto no ha sido estudiado adecuadamente por las dificultades que presenta su diagnóstico (16).

Etiología

El agente etiológico de la cisticercosis es la fase larvaria (cisticerco) del cestodo Taenia solium.

Al descubrirse por primera vez al parásito, se desconocía la relación que pudiera tener con el gusano adulto, y por tanto se le asignó nombres genérico y específico propios. Es por ésto, que al cisticerco de T. solium se le llamó Cysticercus cellulosae, nombre que, aunque actualmente se considera sin validez taxonómica, sigue siendo usado por algunos autores (40).

Esta larva infecta tanto al cerdo como al hombre, alojándose en cualquier órgano o tejido, pero principalmente en músculo y sistema nervioso central (64).

El cisticerco o larva de T. solium puede ser redondo u ovoide de 3.0 a 18.0 mm de diámetro y está constituido por una membrana delgada, que circunscribe una cavidad llena de líquido. Aproximadamente en la parte media del

parásito, esta membrana se encuentra plegada hacia el interior dando origen al cuello, el que a su vez se continua con el escólex que posee 4 ventosas y una doble corona de 24 a 32 ganchos, alternándose pequeños y grandes. Los pequeños miden de 110.0 a 140.0 μ de longitud y los grandes, de 160.0 a 180.0 μ . Estas estructuras se observan con facilidad al microscopio compuesto, en una preparación en fresco, comprimiendo el parásito entre dos portaobjetos (7) - (Fotos 1 y 2).

Ciclo de vida.

La cisticercosis es una enfermedad que se adquiere por la ingestión de huevos de T. solium, los cuales salen del proglótido grávido llegando al exterior junto con la materia fecal, y por diferentes mecanismos contaminan agua y alimentos (5). Al ser ingeridos por el cerdo o por el hombre los huevos - llegan al yeyuno donde, sus paredes son disueltas, provocándose la liberación de la oncosfera o embrión hexacanto, el cual se fija a la mucosa intestinal, por medio de sus ganchos. Posiblemente por la secreción de sustancias liticas penetra a la mucosa y llega a venas mesentéricas para de ahí, pasar al sistema porta y posteriormente a la circulación general, deteniéndose en pequeños capilares tisulares donde se desarrolla (39); puede llegar a lugares como ojo o conductos cerebrales (ventrículos y cisternas basales aracnoideas), evolucionando en un lapso de 60 a 70 días para dar lugar a la forma larvaria característica (63, 40). No se ha establecido con precisión, cuánto tiempo vive el parásito en esta fase larvaria.



Foto 1. Cisticerco de *Taenia solium*. Obsérvese la parte anterior del cuello, continuándose con el escólex con cuatro ventosas y ganchos.

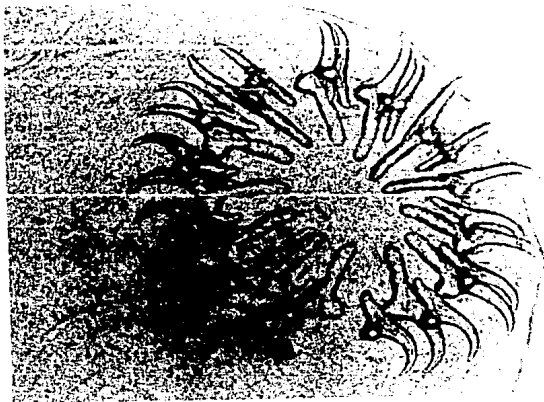


Foto 2. Escólex de cisticerco, mostrando el rostellum armado por

Ya que la etapa larvaria se aloja tanto en el hombre como en el cerdo, ambos fungen como hospederos intermediarios de T. solium. Sin embargo, el hombre es hasta ahora, el único hospedero definitivo ya que en él, se desarrolla la etapa adulta (5). Cuando el humano come carne de cerdo infectada -- con cisticercos, la larva libera su escólex evaginándolo, por acción de los jugos gástricos que actúan sobre la vesícula, y a nivel de yeyuno o íleon, se fija a la mucosa intestinal desarrollando una cadena estrobilar integrada por proglótidos inmaduros, maduros y grávidos. Los proglótidos grávidos -- contienen huevos que miden, aproximadamente, 35.0 μ de diámetro. Estos huevos, como anteriormente se mencionó, salen junto con la materia fecal del -- hospedero, continuándose de esta forma, el ciclo de vida (5).

Antecedentes y Epidemiología

Infeccción del cerdo:

Se han hecho diferentes encuestas, así por ejemplo Mazzoti (1954) realizó un estudio en 17 ciudades de la República Mexicana y reportó que de -- 73 386 cerdos examinados en 17 rastros diferentes, el porcentaje general de -- infeccción fué de 4.6 % (42).

De acuerdo a la información recopilada en 1981 por la Secretaría de -- Salubridad y Asistencia (S.S.A.) y por la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (S.A.R.H.), en un estudio llevado a cabo en 72 rastros de 20 estados del país, se encontró que la frecuencia global de cisticercosis porcina para 1980-1981 fué de 1.52% (Cuadro 1) (29).

C U A D R O 1

FRECUENCIA DE CISTICERCOSIS EN ALGUNOS RASTROS DE LA
 REPUBLICA MEXICANA
 1980 - 1981.

<u>R A S T R O</u>		<u>PORCEN TAJE</u>
Aguascalientes, Ags.		0.52
Chihuahua, Chih.	TIF	0.49
Chihuahua, Chih.	Munic.	3.32
Edo. de Colima	(4)'	2.4
Torreón, Coah.		2.37
Distrito Federal		0.14
Durango, Dgo.		2.21
Ocampo, Gto.		10.0
San Felipe, Gto.		3.0
Guadalajara, Jal.		0.005
Edo. de México	(39)	0.09 - 7.9
La Piedad, Mich.		10.0
Edo. de Morelos	(5)	1.14
Monterrey, N.L.		0.016
Querétaro, Qro.		0.74
San Luis Potosí, S.L.P.		0.67
Hermosillo, Son.		0.07
Cd. Victoria, Tamps.		0.37
Tlaxcala, Tlax.		1.0
Apizaco, Tlax.		3.3
Edo. de Veracruz	(3)	0.97
Mérida, Yuc.		0.04
Edo. de Zacatecas	(3)	1.37

TIF = Rastro tipo Inspección Federal, donde se procesa carne para exportación.

'() = Número de Rastros.

FUENTE: Tecnificación de la Porcicultura. Dir. Gral. de Avicultura y Especies Menores. S.A.R.H., 1981 (29).

Aun cuando las cifras dadas a conocer por la S.A.R.H., de la S.S.A. o por municipios, no dan una idea clara de la situación real, podemos apreciar que existe una pérdida de ganado porcino y, por consiguiente, las implicaciones económicas son muy importantes.

Por otro lado, se han efectuado numerosos estudios en ganado porcino, con el fin de encontrar una solución que permita el diagnóstico y la prevención de la enfermedad en este tipo de ganado. Dentro de estos estudios, cabe mencionar los realizados por Proctor (1966) (50), Morris (1968) (45), Atienza (4) y Gómez (25,26) (1969) y Flisser (1979) (22); quienes se han ocupado de -- comparar y tratar de estandarizar diversas técnicas, con el fin de resolver -- el problema de los resultados heterogéneos.

Infección del hombre:

Estudios Anatomopatológicos.

Mendiola (1944) en el Hospital Civil de Guadalajara, detectó 13 casos -- de cisticercosis (0.52%) en 2 500 autopsias (43).

Costero (1946) de 3 000 autopsias, encontró 108 casos (3.6%) en el Hospital General de México D.F. S.S.A. (15).

Briseño (1961) señaló que el 3.5% de las defunciones del Hospital General de la S.S.A., fueron debidas a cisticercosis del sistema nervioso central (10).

Albores (1970) reportó que de 9 412 autopsias, 119 casos (1.3%) tuvieron como causa de muerte la cisticercosis cerebral (37).

Rabiela (1979) del Centro Médico Nacional del I.M.S.S., reportó una frecuencia de cisticercosis cerebral de 0.61% en 4 250 autopsias practicadas (37).

Estudios Quirúrgicos.

Robles (1944) hizo un estudio de 100 casos con supuesto tumor intracranial, encontrando en 25 de ellos (25.0%) la presencia de cisticercos (53).

Lombardo (1961) encontró esta parasitosis en el 35.0% de la población de enfermos neurológicos del Hospital General de la S.S.A. (36).

Ramos Murguía (1962) en el Hospital Infantil, detectó un 33.0% de cisticercosis en tumores cerebrales (52).

Lombardo (1980) estudió 516 casos del Hospital General del C.M.N., encontrando una frecuencia del 28.3% (37).

En la Unidad de Cirugía del Hospital General de México de la S.S.A., se publicó una revisión de las craneotomías efectuadas de enero de 1976 a diciembre de 1980, encontrando que de 1 463 intervenciones quirúrgicas, el 35.2% fueron casos confirmados de cisticercosis cerebral (37).

Estudios Inmunológicos.

Nieto (1956) usando la reacción de fijación del complemento (RFC), estudió 12 200 sueros de pacientes que ingresaron al manicomio de Tepexpan, encontrando el 14.8% positivos (47).

Flisser (1975) estudió 17 471 sueros de individuos provenientes de varios estados de la República Mexicana, con la técnica de inmunoelectroforesis (IEF), y encontró que el 1.0% tenía anticuerpos anti-cisticercos (20).

Estudios Tomográficos.

Mateos (1982) reportó que en el Servicio de Neurología del Hospital General del C.M.N., de 5 292 casos con tomografía axial computada encontró, que 1 288 (20.45%) presentaban lesiones producidas por cisticercos (37).

Los resultados anteriores son variados y aparentemente dependen del tipo de población en que fué hecho el estudio, así como la técnica empleada, lo que denota una falta de uniformidad de criterio para el estudio de esta problemática.

Desde 1979, la cisticercosis cerebral es una enfermedad de notificación obligatoria. La Dirección General de Epidemiología es notificada por los Servicios Coordinados en los Estados por medio del Informe Semanal de Casos Nuevos de Enfermedades. Al analizar de 1975 a 1980, se han notificado oficialmente 8, 7, 4, 9, 33 y 15 casos (Cuadro 2). Sin embargo, también se incorporaron los casos citados por el I.M.S.S. en su Boletín Epidemiológico Anual (16).

Estas estadísticas no permiten conocer en realidad la magnitud del problema, ya que hay un elevado sub-registro debido a que en México más del 80.0% de las consultas de atención médica son de primer contacto y a nivel primario, no se cuenta con las técnicas de laboratorio adecuadas para el diagnóstico, -

C U A D R O 2
CASOS DE CISTICERCOSIS EN LA REPUBLICA MEXICANA.
1975 - 1980

<u>E N T I D A D .</u>	<u>1975</u>		<u>1976</u>		<u>1977</u>		<u>1978</u>		<u>1979</u>		<u>1980</u>	
	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
Aguascalientes												
Baja California Norte												
Baja California Sur	1	0.58										
Campeche												
Cochuila	1	0.08	1	0.07					1	0.01	2	0.01
Colima												
Chiapas			1	0.05			1	0.05				
Chihuahua	1	0.05									1	0.05
Distrito Federal												
Durango												
Guanajuato					1	0.03						
Hidalgo			1	0.02			1	0.07			1	0.07
Jalisco			1	0.02								
México			1	0.02	1	0.01						
Nichoacán									17	1.70		
Morelos							1	0.13				
Nayarit							1	0.04	4	0.20		
Nuevo León									2	0.10	3	0.10
Oaxaca									1	0.03		
Puebla												
Querétaro												
Quintana Roo												
San Luis Potosí	5	0.34	1	0.07	1	0.06	2	0.13	3	0.20	1	0.06
Sinaloa			1	0.06			1	0.05	4	0.20	6	0.03
Sonora												
Tabasco					1	0.09						
Tlaxcala									1	0.20		
Veracruz			1	0.02							1	0.02
Yucatán												
Zacatecas							2	0.18				
S. S. A.	8	0.01	7	0.01	4	0.01	9	0.01	33	0.01	15	0.02
I. M. S. S.	113	0.7	123	0.7	118	0.7	133	0.7	189	0.9	286	1.3
T O T A L	121	0.2	130	0.2	122	0.2	142	0.2	222	0.3	301	0.4

¹ Por 100 derechohabientes.
² Por 100 000 habitantes.
FUENTE: Informe Semanal de Casos Nuevos de Enfermedades.
EPI - 1 - 65 y EPI - 1 - 79, S.S.A. (16).

* C = Casos
T = Tasa

por otro lado, en los niveles secundario y terciario, que es en donde se está en condiciones técnicas y científicas para hacer los diagnósticos, no se notifica en forma adecuada (16).

Con respecto a la mortalidad, la Secretaría de Programación y Presupuestos tabuló las defunciones por cisticercosis sólo hasta 1974 (Cuadro 3) (16). Al analizar estos datos, podemos observar que el padecimiento es más frecuente en el sexo masculino y entre los 15 a 44 años de edad. Sin embargo, hacemos notar, que los rangos de edades tabulados no son homogéneos y en especial, el grupo de edad más afectado, está integrado por un intervalo muy amplio de edades.

Repercusión Económica.

La trascendencia económica de esta enfermedad es muy importante. Zenteno (1961) reportó en un estudio hecho en 87 enfermos con cisticercosis - del sistema nervioso central, que el promedio de internamiento para cada paciente es de 56 días. Este promedio es bastante elevado si tomamos en cuenta los gastos que por concepto de internamiento, alimentación y tratamiento - se eroga en un paciente por día (70).

En el I.N.N., se calculó que la atención médico-quirúrgica de un enfermo con cisticercosis que estuviese internado 23 días tendría un costo de - - \$ 47 316.00, de acuerdo al costo hospitalario, quirúrgico y salario de 1977 (19).

C U A D R O 3

DEFUNCIONES POR CISTICERCOSIS, ESTADOS UNIDOS MEXICANOS 1971 - 1974.

GRUPOS DE EDAD (AÑOS)	1 9 7 1			1 9 7 2			1 9 7 3			1 9 7 4		
	MASC.	FEM.	TOT.	MASC.	FEM.	TOT.	MASC.	FEM.	TOT.	MASC.	FEM.	TOT.
Menos de 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
De 1 a 4	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
De 5 a 14	1	2	3	1	1	2	2	1	3	3	5	8
De 15 a 44	34	18	52	18	29	47	29	26	55	30	24	54
De 45 a 64	11	13	24	14	5	19	14	1	15	19	6	25
De 65 y más	2	-	2	4	-	4	1	2	3	1	1	2
Ignorados	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>T O T A L</u>	<u>48</u>	<u>35</u>	<u>83</u>	<u>37</u>	<u>35</u>	<u>72</u>	<u>46</u>	<u>30</u>	<u>76</u>	<u>53</u>	<u>36</u>	<u>89</u>

FUENTE: Estadísticas Vitales. S.P.P. (16).

Nota: Se tabuló la mortalidad sólo hasta el año de 1974.

Sintomatología

El cisticerco de T. solium puede localizarse en cualquier órgano o tejido dependiendo del sitio de implantación será la sintomatología que presente el paciente. Así por ejemplo, cuando la infección ocurre en mucosa o subcutánea, puede producir la aparición de uno o múltiples nódulos (3). Se presentan síntomas y signos neurológicos en un 72.0% aproximadamente de los casos - parasitados en el sistema nervioso central, siendo la hipertensión intracraneal el síndrome más frecuente (71, 61).

Numerosos autores han intentado clasificaciones sindrómicas, clínicas, - patológicas, anatómicas y anatomoclínicas, pero no han logrado sintetizar en cuadros nosológicos definidos la variada sintomatología de la cisticercosis -- (71). Ya que la enfermedad se manifiesta de tantas maneras, se ha considerado a la cisticercosis cerebral como un padecimiento caleidoscópico capaz de - imitar cualquier síndrome neurológico (2) y que en más del 90.0% de los casos, la infección tiene un curso crónico (71).

Tratamiento

Desde que la cisticercosis empezó a ser motivo de atención, por su incidencia alta en nuestro país se ha intentado tratar este padecimiento con diversas medidas terapéuticas.

Los primeros intentos terapéuticos a base de calcio, yóduros, vitamina D y otros medicamentos fueron siempre infructuosos y se vió a la cirugía como una posibilidad prometedora. La observación de numerosos casos operados de-

mostró la poca efectividad de estos esfuerzos (24).

Hasta 1980 no se había logrado mucho en el campo de la terapéutica y esto se debe a que las lesiones causadas por el parásito son múltiples, generalizadas y bilaterales y, a que los medicamentos que matan a la tenia en el intestino, se absorben difícilmente y no pasan la barrera hemato-encefálica.

El tratamiento de la cisticercosis es un verdadero problema pues pocos enfermos curan y generalmente, los que mejoran quedan con alteraciones graves o secuelas neurológicas definitivas (54).

Actualmente, en los diversos tratamientos usados para la cisticercosis, se debe de tomar en cuenta el tipo de daño que el parásito está causando; este daño puede ser de dos tipos:

- i) Por efecto mecánico (compresivo u obstructivo).
- ii) Por una reacción inflamatoria, producida en un intento del huésped por destruir al parásito.

Se han ensayado diferentes tipos de tratamiento para esta parasitosis. Entre los más utilizados están:

- Metrifonato (compuesto órgano-fosforado). En 1972, Salazar Mallen -- hizo ensayos con este fármaco, llegando a demostrar que es capaz de matar al cisticerco e incluso de mejorar a ciertos enfermos; desgraciadamente, este medicamento produce reacciones colinérgicas indeseables (54).

- Anticuerpos anti-cisticerco marcados con material radioactivo. Este tipo de anticuerpos específicos pueden adherirse a la larva y de esta manera destruirla; el inconveniente es que en este tratamiento no se toma en cuenta la barrera hemato-encefálica y además, teóricamente, se requiere de una gran cantidad de anticuerpos para destruir al parásito (37).

- Prazicuantel (isoquinolina-piracina sintética). Existen estudios, - entre los que se encuentran los efectuados en México por Chavarría (1980) (54), Robles (1981) (55) y Botero (1981) (9) en Colombia, que han demostrado la utilidad de este fármaco en cisticercosis. No se han comunicado efectos tóxicos o daño de importancia a otros aparatos y sistemas. Sin embargo, en el protocolo de investigación de los Laboratorios Merck, en relación al tratamiento de la neurocisticercosis con prazicuantel, se concluye: "Aunque se han informado en la literatura mejorías dramáticas en días o semanas después del tratamiento, es necesario un examen cuidadoso y una larga observación antes de que el prazicuantel sea evaluado definitivamente" (37).

- Los tratamientos quirúrgico, anticonvulsivante y anti-inflamatorio continúan, pero generalmente no son definitivos (37).

Inmunología

En esta enfermedad se presenta una relación huésped-parásito compleja, en la cual la participación de la respuesta inmune puede ser decisiva para el hospedero (21).

La respuesta inmune inducida en contra de los antígenos producidos por el cisticerco, da lugar a un mosaico muy grande de anticuerpos, debido a que los antígenos producidos a partir de estos helmintos, son numerosos y variados estructural y bioquímicamente.

Como el cisticerco es un parásito de residencia tisular, puede generar dos tipos de antígenos: endógenos (componentes somáticos estructurales) y exógenos (materiales excretados y/o secretados) (17).

El huevo de T. solium, que es ingerido por el hospedero, libera al embrión hexacanto, que atraviesa la mucosa intestinal y entonces los macrófagos, los linfocitos T, B así como los eosinófilos, establecen contacto con los antígenos del cisticerco, iniciándose así la respuesta inmune. Es importante considerar, que la simple reacción inflamatoria del hospedero, puede ser capaz de destruir algunos embriones cuando penetran el intestino, durante su viaje por la circulación sanguínea o al tratar de establecerse en órganos o tejidos (31). Los cisticercos localizados en el tejido muscular originan una reacción inflamatoria perivascular de intensidad variable, caracterizada por leucocitos polimorfonucleares y vasculitis (17).

Las localizaciones más frecuentemente reportadas son: globo ocular, -- parénquima cerebral y/o cavidades ventriculares; cuando el cisticerco se ha alojado en alguno de éstos sitios, la reacción inmune iniciada por los linfocitos y eosinófilos, muy difícilmente llega a destruir al parásito, esto hace que sean este tipo de localizaciones, las de mayor trascendencia clínica (17).

Se han realizado estudios acerca de la inmunidad en la cisticercosis -- animal y humana, los que parecen confirmar que por razón de su volumen un cis ticerco, no puede ser fagocitado; sin embargo el sistema inmune reacciona con tra los componentes somáticos del parásito, incluso, cuando éste ha muerto y entrado en involución (31).

También se ha observado, que en general cuando el parásito está vivo, - las molestias son mínimas y, en la mayoría de los casos, éstas se presentan - cuando el parásito actúa mecánicamente sobre pares craneales, zonas importantes del parénquima cerebral o bien cuando obstruye el flujo de algunos fluidos. Por el contrario, cuando el parásito ha muerto y se encuentra en desintegración, el cuadro clínico siempre es más severo debido a que la muerte del pará sito induce graves reacciones hísticas caracterizadas principalmente por la presencia de un fenómeno de Arthus Blanco, que da lugar a una vasculitis, que conduce a una meningitis basal de tipo crónica (17).

Los procesos inmunológicos que participan en esta enfermedad, son tanto celulares como humorales.

La inmunidad celular, en la cisticercosis, es poco conocida, pero se -- sabe que los fenómenos de hipersensibilidad celular se pueden presentar, aunque lo habitual es que aparezcan fenómenos inmunopatológicos mediados por - - inmunoglobulinas (23). En 1971, Soulé describió la presencia de eosinofilia, la que persiste durante la evolución del cisticerco en el hospedero (31).

Lo más común en este tipo de inmunidad, es observar fenómenos de anafi-

laxia subcutánea local tipo Arthus, urticaria generalizada e incluso, en algunos casos, choque anafiláctico (17).

El análisis histológico de la reacción frente al cisticerco en tejido, indica la presencia de un proceso inflamatorio. Cuando el cisticerco está vivo, se encuentra rodeado de un infiltrado celular formado por algunos linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y eosinófilos; mientras que en la periferia de los cisticercos muertos, se observa un gran número de linfocitos, células plasmáticas, células gigantes multinucleadas, leucocitos polimorfonucleares y eosinófilos, indicando con esto, la presencia de un infiltrado celular-inflamatorio agudo. En ambos casos el infiltrado celular se encuentra rodeado por tejido conectivo fibroso (granuloma) (23).

La inmunidad humoral está representada por la producción de anticuerpos en el hospedero infectado, lo que implica la posibilidad de diagnosticar la enfermedad al detectarlos e incluso cuantificarlos en el suero o en el líquido cefalorraquídeo por diferentes métodos serológicos. Sin embargo, su ausencia no significa que el individuo se encuentre libre del parásito, pues la respuesta inmune humoral pudo haber sido fugaz o de baja magnitud (21).

Parece ser que la cantidad de anticuerpos presentes depende de la cantidad de huevos ingeridos, por lo tanto, a mayor grado de infección, los anticuerpos aparecerán en mayor proporción. En esta respuesta humoral participan todas las inmunoglobulinas con diferente porcentaje de frecuencia cada una de ellas, siendo la más importante la IgG con 100.0% de frecuencia, le siguen IgM con 80.0%, IgE con 55.0%, IgA con 39.0% y por último IgD con 35.0%. Esto ha sido determinado, usando inmunofluorescencia e inmunolectroforesis,

en un sistema formado por antígeno de cisticerco de T. solium y suero de diferentes pacientes (21).

La inmunidad humoral, puede constituir un mecanismo de evasión del parásito, debiéndose a alguna de las siguientes tres causas:

I) Los cisticercos se recubren con IgG (que pudiera ser específica). Esto se ha observado en la cisticercosis porcina, usando sueros anti-IgG de cerdo (17).

II) La presencia del antígeno B, que por sus funciones de fibronectina, desvía a los anticuerpos anti-B dirigidos hacia el parásito (49).

III) No hay producción de anticuerpos específicos contra la larva, pues cada uno de los parásitos, cuando están dentro del huésped, están en una fase o etapa de desarrollo diferente y, en consecuencia, hay diferencias antigénicas (59).

En cualquiera de los casos, se ha postulado que el desarrollo de estas inmunoglobulinas, no constituyen mas que anticuerpos bloqueadores (17), los cuales impiden la detección de anticuerpos anti-cisticerco presentes en el huésped.

En resumen, son varios los factores biológicos que deben ser considerados para comprender la respuesta inmune de esta parasitosis. La localización del parásito, las fases de desarrollo que presenta, la complejidad antigénica, la existencia de reacciones cruzadas, el enmascaramiento del parásito con proteínas bloqueadoras, la ineficacia de los mecanismos de fagocitosis,-

la falta de sensibilización, la tolerancia, etc., son parámetros que pueden ayudarnos a entender porqué, en algunos casos, la respuesta es escasa o nula, o porqué los mecanismos de defensa pierden eficacia (17).

Diagnóstico

La cisticercosis cerebral, es una enfermedad que como en otras infecciones causadas por helmintos, puede cursar asintomática por largos periodos (51). En consecuencia, el diagnóstico de este padecimiento adquiere un papel muy importante, pues son bien conocidas las serias complicaciones que resultan de esta infección. Desgraciadamente, el mayor problema que presenta la neurocisticercosis humana, al igual que en la cisticercosis porcina, es el no contar con una técnica de laboratorio apropiada para su diagnóstico.

El diagnóstico de esta parasitosis es difícil, sobre todo cuando se toman en cuenta la gran variedad de alteraciones anatomopatológicas (36). Los métodos más frecuentemente usados para establecer el diagnóstico son:

I) Clínicos.- El grado de infección, el número de parásitos, su localización, el tamaño, la viabilidad y la relación que se establece entre el hospedero y el parásito (como por ejemplo, la reacción de las estructuras cerebrales ante la presencia del parásito) son factores que solos o combinados son los responsables de la gran variedad de cuadros clínicos, por lo cual, es difícil establecer un diagnóstico clínico con certeza (36).

II) Análisis Citoquímicos.- El estudio del líquido cefalorraquídeo en la cisticercosis del sistema nervioso central, muestra cambios inflamato-

rios inespecíficos. La existencia de algunas alteraciones es sugestiva para su diagnóstico pero no son exclusivas de esta enfermedad, ya que pueden ocurrir en otros padecimientos (72).

III) Procedimientos Radiológicos. - En las radiografías simples de cráneo, los cambios que se observan son el aumento de la presión endocraneana y las calcificaciones anormales; sin embargo, ambos signos hacen sospechar el diagnóstico pero no permiten afirmarlo en forma categórica, ya que existen -- otros agentes etiológicos que producen alteraciones similares (37).

IV) Tomografía Axial Computada. - Este tipo de estudio hace posible - establecer el diagnóstico con mayor índice de seguridad, ya que permite visualizar las lesiones con sus características y localización (37). Su inconveniente es el elevado costo del equipo, lo cual hace que quede fuera del alcance de los laboratorios de campo e inclusive del consultorio médico (31).

V) Gammagrafía Cerebral. - En opinión unánime de los especialistas - en medicina nuclear, se concuerda que el uso de esta técnica (tanto la estática como la dinámica) para el uso de diagnóstico de la neurocisticercosis, es poco útil pues no define bien las lesiones que produce el parásito. Esto se debe a que la imagen obtenida no es característica del parásito (37).

VI) Estudios Inmunoquímicos del líquido cefalorraquídeo (LCR) y sangre. Cuando los parásitos están bien adaptados y viven en relativa armonía con sus hospederos, producen pequeñas evidencias de su presencia por mucho tiempo e - incluso durante toda la vida. En tales circunstancias la demostración de antígenos circulantes ofrece un método para su detección (51).

Con el propósito de facilitar el diagnóstico de la cisticercosis humana se han diseñado numerosas pruebas de laboratorio en búsqueda de anticuerpos anti-cisticerco en suero y en líquido cefalorraquídeo (LCR) (20). Sin embargo, los resultados varían según los autores, el tipo de antígeno usado, las técnicas empleadas y la naturaleza del producto biológico a probar (48). El principal problema en los estudios inmunoserológicos radica en que la mayoría de las pruebas, han utilizado como antígeno extractos crudos de cisticerco. Se han reportado varios métodos de extracción de antígenos de cisticerco, con los cuales se obtiene una mezcla de componentes que incluyen proteínas, carbohidratos y, probablemente, también ácidos nucleicos. Esta crudeza en los antígenos, dificulta hasta cierto grado la detección del parásito por medio de reacciones serológicas, por lo que se requiere de materiales antigénicos más puros y específicos que permitan realizar el diagnóstico con mayor seguridad (27, 21).

Nieto (1948) reportó que la única posibilidad de diagnóstico en la cisticercosis del sistema nervioso central, consiste en un examen del LCR utilizando la reacción de fijación de complemento (RFC) con el antígeno específico (46).

Biagi y Tay (1958), prueban una reacción de precipitación y reportan -- que ésta es una técnica sensible y específica, pero concluyen que sería útil seguir con la evaluación, pues la muestra estudiada (9 líquidos espinales) fue poco representativa (6).

Biagi et al (1961), probaron la sensibilidad y especificidad de tres técnicas serológicas: RFC, reacción de precipitación (RP) y hemaglutinación indi-

recta (HIA), en LCR y suero; observando que para LCR la RFC es la mejor, mientras que en el suero la HIA ofrece mayor grado de sensibilidad. Sin embargo concluyen que estas pruebas no deben considerarse definitivas para el diagnóstico de la cisticercosis por el número de positivas falsas que obtuvieron (8).

Proctor et al (1966), comparan HIA y la doble inmunodifusión (DID) y reportan que la HIA es una técnica superior en sensibilidad sobre la DID (51).

Petithory et al (1971), reportan que la DID e inmunoelectroforesis (IEF) dan buenos resultados en el 80.0% de los casos, pero también dan reacciones cruzadas con otras parasitosis; es decir, que estas pruebas son inespecíficas (48).

Rydzewski (1975), hace una comparación con tres pruebas serológicas probando siete antígenos diferentes. Las pruebas empleadas fueron: HIA, RP e inmunofluorescencia indirecta (IFI); el inconveniente encontrado fué, que en las tres pruebas, el antígeno de cisticerco cruza con anticuerpos anti-Echino-coccus granulosus (56).

Flisser et al (1975), tratan de demostrar la utilidad diagnóstica de -- dos pruebas: IEF y DID, probando tres antígenos diferentes de cisticerco (pared, líquido y escólex). El máximo poder discriminatorio entre enfermos y -- no enfermos lo encontró con la IEF utilizando las fracciones de escólex y pared; la probabilidad de falsos positivos varió de 0 a 5.0% y la de falsos negativos de 40.0 a 50.0%, es decir, que sólo la mitad de los casos problema -- que tengan cisticercosis podrán ser identificados por éste método. Concluyen,

que el uso de la IEF es recomendable en el diagnóstico de la neurocisticercosis humana, por la facilidad de ejecución y el bajo número de falsos positivos (20).

Villanueva y González (1980), aplicaron la prueba de HIA para estudiar el suero de 527 pacientes. Los resultados obtenidos fueron favorables e indican que ésta es una técnica sensible; pero recomiendan su utilidad, más que -- para diagnóstico, para cuantificar la respuesta inmune. Concluyen que la HIA es un método seriológico cuantitativo eficaz para obtener información sobre la evolución de los pacientes (66).

Schantz et al (1980), probaron el suero de pacientes con hidatidosis y cisticercosis confirmadas, con HIA y observaron reacciones cruzadas (57).

En la actualidad se han desarrollado técnicas como el radio-inmunoensayo (RIA) y el enzima-inmunoensayo (ELISA), pero a pesar de ser muy sensibles, son poco específicos; además, otra desventaja, es el elevado costo del material, el equipo y los reactivos que se utilizan (1).

Como se puede apreciar, las pruebas inmunológicas que se han diseñado para la neurocisticercosis, distan mucho de tener un grado aceptable de certeza. Su positividad puede sugerir, más no afirmar el diagnóstico en forma categórica y la negatividad de las mismas no lo descarta. A pesar de lo que aseguran los autores acerca de la utilidad de algunos métodos inmunológicos, se puede afirmar que no existe un método diagnóstico inmunoserológico adecuado e infalible (37).

Singer y Plotz (1956), emplearon por primera vez la técnica de aglutinación con partículas de látex, para el diagnóstico de la artritis reumatoide, este tipo de partículas han sido ampliamente empleadas para fines diagnósticos.

Kimura (1980), gracias a este método detectó gonadotropina coriónica -- humana e insulina (33), Levinsky (1977), Ciccicarelli (1979) y Singer (1980) - refuerzan la efectividad de la prueba en búsqueda del factor reumatoide (13,- 35, 62). Este método ha sido empleado también para detectar infecciones causadas por estreptococos del grupo B por Bromberger y Kumar (1980) (11,34). Morris (1971) y Scott (1980) utilizaron esta técnica para detectar Cryptococcus neoformans (44,59) y Scheifele (1981) la utilizó para la detección de Haemophilus influenzae (58).

En parasitología, el uso de partículas inertes ha dado resultados satisfactorios en el diagnóstico de: triquinosis, tal y como lo reportan Inella -- (1959) (25) y Cabrera (1977) (12); en hidatidosis y en fasciolosis (25); en toxoplasmosis como lo reporta Seamon (1977) (60) y Gómez-Maganda (1978) (28) la utilizó para el diagnóstico de absceso hepático amibiano.

Guzmán y Romero (1980) del Laboratorio de Inmunoparasitología de la -- Facultad de Medicina, U.N.A.M. (31) y Velasco et al (1983) del I.S.E.T. (65) desarrollaron una técnica para la determinación de antígenos solubles de C. cellulosa mediante pruebas de aglutinación con partículas inertes (API) utilizando poliacrilamida y látex. Los resultados que obtuvieron fueron favorables pues al comparar esta técnica con inmunofluorescencia (IF) y HIA - se observó que la API ofrece una reactividad mucho mayor, especialmente si se realiza con látex. La efectividad de la técnica usada se demostró en la --

ausencia de resultados negativos falsos. En cuanto a los resultados positivos falsos, éstos fueron mucho menores que los encontrados con la HIA e idénticos a los de IF (31) (65).

H I P O T E S I S

- Si el paquete completo de gamma-globulinas acopladas a partículas inertes, da resultados confiables, entonces al usar la inmunoglobulina purificada -IgG-, y estandarizando debidamente esta técnica, contaremos con una prueba diagnóstica sensible, específica, sencilla, rápida y económica.

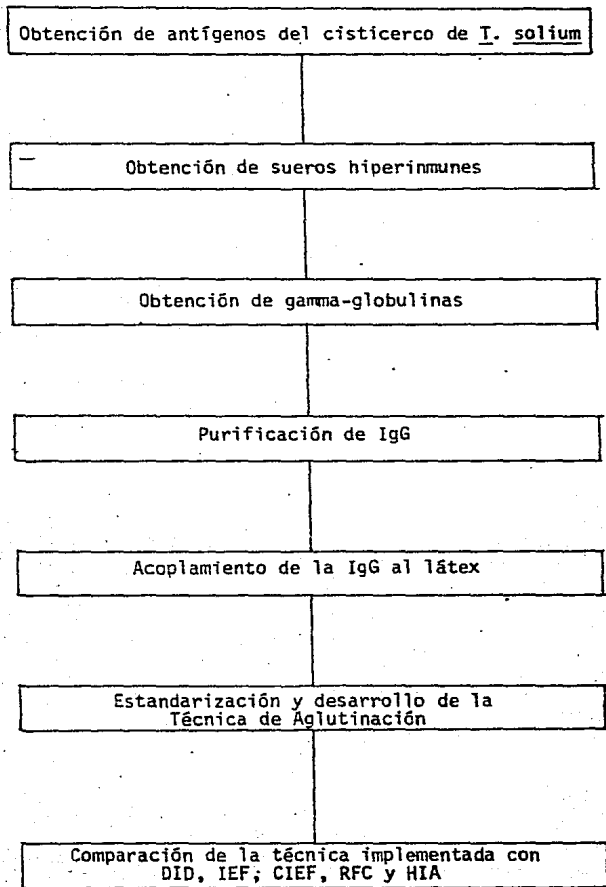
O B J E T I V O S

- Acoplar la inmunoglobulina específica (IgG) a partículas inertes de látex y, desarrollar la prueba de aglutinación, para detectar antígeno (s) en líquido cefalorraquídeo.

- Estandarizar la técnica de aglutinación de partículas en busca de antígenos solubles del cisticerco de I. solium y determinar su reactividad (sensibilidad).

- Determinar cualquier concentración mínima de antígeno (s) de cisticerco difundido (s) en líquido cefalorraquídeo, por medio de la técnica de aglutinación de látex.

ORGANIZACION DEL TRABAJO



MATERIAL Y METODOS

Obtención de Antígenos

Para la preparación de los antígenos, se utilizaron cisticercos, aislados de carne de cerdo proporcionada por el Rastro ABC de los Reyes, Estado de México.

Procedimiento:

- Los parásitos se extrajeron completos, por disección y se colocaron en solución salina al 0.15 M estéril.
- Se lavaron varias veces para desengrasarlos, agitando vigorosamente la solución, que posteriormente se decantó.
- Las larvas se sometieron a un tratamiento antimicrobiano, colocándolas en solución salina estéril con penicilina (0.1 mg/ml) estreptomycin (0.1 mg/ml), durante 1 hora a temperatura ambiente.
- Los parásitos se volvieron a lavar con solución salina al 0.15 M estéril, para quitar el exceso de antibiótico.
- Finalmente, los cisticercos estuvieron listos para la preparación del Antígeno de Excreciones y Secresiones (AES) y para el antígeno de Fluido Vesicular (AFV).

Preparación del AES

Este antígeno se produce cuando el parásito está vivo; pues las larvas

al ser viables están eliminando sustancias metabólicas, con poder antigénico, que son liberadas durante la incubación en la solución en la cual están contenidas (31,17).

Procedimiento:

- Los cisticercos fueron incubados durante 22 hrs. a 37°C en solución salina al 0.15 M, en relación de: 1.0 ml de solución salina por cada cuatro larvas.
- En condiciones de esterilidad, se separaron los cisticercos de la solución.
- El líquido de incubación constituyó el AES.
- Se le determinaron proteínas y carbohidratos.
- El contenido proteico se ajustó a 3.0 mg/ml.
- Para eliminar el exceso de carbohidratos, se dializó durante 48 hrs. contra amortiguador de fosfatos (PBS) 0.15 M pH=7.2
- Como preservador, se añadió azida de sodio (0.1 mg/ml).
- El antígeno se envasó en frascos de vidrio, en alícuotas de 1.0 ml.
- Se guardaron las alícuotas en congelación, hasta su uso.

Preparación del AFV.

Este antígeno se preparó extrayendo el líquido contenido en las vesículas que conforman a las larvas (17, 31).

Procedimiento:

- Los cisticercos tratados con antibióticos y limpios, se colocaron en una caja de Petri.

- Con bisturí y agujas de disección, se rompieron las vesículas de los parásitos.

- El fluido obtenido, se centrifugó a 1 500 rpm. durante 15 mins., para sedimentar las partículas.

- El líquido decantado, constituyó el AFV.

- Se determinaron proteínas y carbohidratos.

- El contenido proteico se ajustó a 3.0 mg/ml.

- Se agregó azida de sodio como preservador (0.1 mg/ml).

- Se envasó en alícuotas de 1.0 ml.

- Se guardó en congelación hasta su uso.

Determinación de Proteínas

La cuantificación proteica de los antígenos obtenidos se determinó por medio del método de Lowry (38).

Procedimiento:

Solución patrón de albúmina = albúmina bovina 10.0 mg/100.0 ml.

Mezcla de reactivos = 1.0 ml. de carbonato de sodio al 2.0% en hidróxido de sodio al 0.1 N + 1.0 ml. de sulfato de cobre al 1.0% + 100.0 ml de tartrato de sodio y potasio al 1.0% .

Reactivo de Folin - Ciocalteu al 0.1 N.

Tubo 1: 0.2 ml de albúmina + 0.8 ml de agua destilada
Tubo 2: 0.4 ml de albúmina + 0.6 ml de agua destilada
Tubo 3: 0.6 ml de albúmina + 0.4 ml de agua destilada
Tubo 4: 0.8 ml de albúmina + 0.2 ml de agua destilada
Tubo 5: 1.0 ml de albúmina + 0.0 ml de agua destilada
Tubo 6: 0.0 ml de albúmina + 1.0 ml de agua destilada
Tubo 7: 0.1 ml de AES + 0.9 ml de agua destilada
Tubo 8: 0.1 ml de AFV + 0.9 ml de agua destilada

- Se agregó a todos los tubos 3.0 ml de la mezcla de reactivos. Esta mezcla se preparó inmediatamente antes de ser utilizada.

- Los tubos se agitaron y se dejaron reposar 10 minutos a temperatura ambiente.

- Se agregó a todos los tubos 0.3 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu, se mezclaron y se dejaron reposar 30 minutos.

- Se leyó en espectrofotómetro, a una longitud de onda de 500 nm. El tubo 6 fué el blanco.

- Se graficó la densidad óptica transmitida, contra la concentración de las proteínas de la solución patrón.

El contenido de proteínas de los antígenos ES y FV se obtuvo, interpolando su valor de densidad óptica, en la curva patrón.

- Es necesario tomar en cuenta la dilución de los problemas (AES y AFV) para conocer el valor real del contenido proteico.

- Para ambos antígenos, el contenido proteico fué ajustado a 3.0 mg/ml.

Determinación de Carbohidratos

La cuantificación de carbohidratos contenidos en los antígenos obtenidos, se determinó por el método de Fenol-Sulfúrico (18).

Procedimiento:

Solución patrón de dextrosa = dextrosa 10.0 mg/100.0 ml

Tubo 1: 0.2 ml de dextrosa + 0.8 ml de agua destilada

Tubo 2: 0.4 ml de dextrosa + 0.6 ml de agua destilada

Tubo 3: 0.6 ml de dextrosa + 0.4 ml de agua destilada

Tubo 4: 0.8 ml de dextrosa + 0.2 ml de agua destilada

Tubo 5: 1.0 ml de dextrosa + 0.0 ml de agua destilada

Tubo 6: 0.0 ml de dextrosa + 1.0 ml de agua destilada

Tubo 7: 0.1 ml de AES + 0.9 ml de agua destilada

Tubo 8: 0.1 ml de AFV + 0.9 ml de agua destilada

- Se agregó 1.0 ml de fenol a todos los tubos.
- Se añadió lentamente, 5.0 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- Los tubos se agitaron y se dejaron reposar hasta que se enfriaron.
- La lectura se hizo a 625 nm. El tubo 6 funcionó como blanco.

- La densidad óptica de las concentraciones conocidas de dextrosa, se graficó contra la concentración de carbohidratos.

- El valor de la densidad óptica que se obtuvo para cada problema, se interpoló en la curva patrón, obteniéndose así el valor de concentración correspondiente.

- Fué necesario tomar en cuenta la dilución de cada uno de los antígenos, para conocer el contenido real de carbohidratos, el cual se consideró -- óptimo cuando fué menor o igual a 10.0 mg/ml.

Obtención de Sueros Hiperinmunes (31).

- Se inmunizaron tres conejos por cada antígeno.

- Antes de iniciar con el esquema de inoculación, se sangraron los conejos, con el fin de emplear el suero como testigo de conejos no inmunizados.

- El inóculo se preparó añadiendo 0.5 ml de antígeno (3.0 mg/ml) a -- 0.5 ml de adyuvante de Freund.

- Se mezcló hasta obtener una suspensión homogénea.

- Se inyectó en cada animal, por diferentes vías 1.0 ml del inóculo obtenido según el siguiente esquema de inoculación.

<u>SEMANA</u>	<u>VIA INOCULACION</u>
1	Cojinete Plantar Derecho
"	Intraperitoneal
2	Cojinete Plantar Izquierdo
"	Intraperitoneal
3	Sub-cutánea Múltiple
"	Intraperitoneal
4	Sub-cutánea Múltiple
"	Intraperitoneal
5	Sub-cutánea Múltiple
"	Intraperitoneal

- Las dos primeras semanas, los inóculos se prepararon con adyuvante completo y, con incompleto, a partir de la tercera semana.

- Tres días después de cada inoculación, y a partir de la segunda, se efectuó un sangrado y, con cada uno de los sueros se hizo hemaglutinación indirecta (HIA) para cuantificar los niveles de anticuerpos producidos.

- Al detectarse un título mayor o igual a 1: 4 096 se procedió a sangrar a blanco a los conejos, para obtener el suero hiperinmune.

- A partir de estos sueros, se obtuvieron las gammaglobulinas, empleando el método de precipitación con sulfato de amonio.

Obtención de las Gamma-Globulinas.

Para la purificación de estas proteínas, se empleó el método de "precipitación en salado", utilizando sulfato de amonio (14).

- En un vaso de precipitado, se colocaron 50.0 ml de suero de conejos no inmunizados.
- A temperatura de 4°C, se colocaron en agitación magnética, ajustando la velocidad para evitar la formación de espuma.
- Se adicionaron, gota a gota, 25.0 ml de solución de sulfato de amonio saturada.
- Mediante la adición de solución de hidróxido de sodio al 0.1N, se -- ajustó la suspensión a pH = 7.8
- Se continuó con la agitación durante 3 hrs.
- Se centrifugó la suspensión a temperatura de 4°C, durante 30 mins. a 3 000 rpm.
- Se decantó y desechó el sobrenadante.
- El precipitado se disolvió en 50.0 ml de solución salina isotónica.
- La purificación de la gamma-globulina se obtuvo después de tres precipitaciones. Para la segunda precipitación se repitieron todos los pasos an

teriores, pero en la tercera, solo hasta la centrifugación (inclusive).

- Se decantó el sobrenadante del centrifugado y el precipitado se disolvió en 25.0 ml de solución salina estéril amortiguada con boratos.

- La solución obtenida, se dializó contra PBS 0.15M pH = 7.2, cambiando la solución de diálisis dos veces al día, hasta que el dializado dió negativa la prueba de sulfatos.

- La prueba de sulfatos consistió en adicionar una gota de cloruro de bario a una gota del dializado y, al no formarse ningún precipitado blanco, fué indicativo de la ausencia de sulfatos en el dializado.

- Para conservar la gamma-globulina purificada, fué necesario añadirle, como preservador, azida de sodio (0.1 mg/ml).

- Se repitió el procedimiento con los sueros de los conejos inmunizados.

Purificación de IgG de Conejo.

El fraccionamiento de las gamma-globulinas, para la obtención de IgG, se hizo por medio de cromatografía de intercambio iónico (32).

Procedimiento:

- La DEAE-celulosa (resina de intercambio iónico), fué regenerada con hidróxido de sodio al 0.1N, alternando con ácido clorhídrico al 0.1N y agua. Finalmente se enjuagó con 1.0 Lt de PBS 0.02M pH = 6.5

- El adsorbente se colocó en la columna y se amoldó con presión de aire, que se aumentó gradualmente hasta 5.0 Kg/pulg., para obtener una velocidad de flujo de 1.0 ml cada 90 segs.

- Se corrió, a través de la columna, PBS al 0.02M pH = 6.5, hasta equilibrarla.

- Ya montada la columna, se pasaron por ella 2.0 ml. de gamma-globulinas, obteniéndose 40 muestras de 2.0 ml cada una, en el colector de fracciones.

- Los fraccionamientos se hicieron varias veces, hasta agotar el volumen de gamma-globulinas obtenidas.

- A todas las muestras colectadas se les cuantificó la concentración proteica, por medio de Lowry, y en aquellas en que la lectura fué positiva, para corroborar la presencia de IgG, se utilizaron las técnicas de doble-inmuno difusión e inmunolectroforesis.

Aglutinación con Partículas de Latex.

Para el presente trabajo, se utilizó látex (0.80 μ de diámetro) como - - partícula inerte portadora de proteínas (IgG). La preparación de las partículas se dividió en tres etapas (31).

- a) Solución madre de las partículas.
- b) Determinación de la concentración óptima de IgG.
- c) Sensibilización de las partículas.

Procedimiento:

a) Preparación de la solución madre.- El látex (Laboratorios Organon de México) se encontraba a una concentración inicial de 33.0%.

- Para conocer la concentración de trabajo, se efectuaron diferentes diluciones seriadas con PBS 0.15M pH = 7.2 a partir de la suspensión inicial. En nuestro caso, la dilución óptima fué de 1: 320.

- Las partículas suspendidas a dicha dilución, representó la suspensión madre, de la cual se tomaron volúmenes determinados para proseguir con la sensibilización.

b) Sensibilización.- Primero se determinó la concentración óptima de las globulinas a la suspensión madre de partículas.

- Por cada 1.0 ml de la mezcla látex-gamma, se agregó 0.05 ml. de gluteraldehído al 2.5%.

- Se agitó durante 24 hrs. a 4°C.

- Se dializó durante 24 hrs. a 4°C, contra PBS 0.15M pH = 7.2 para retirar el exceso de gluteraldehído.

- El reactivo obtenido, se envasó y almacenó a 4°C hasta el momento de su uso.

c) Concentración óptima de IgG anti-AES y anti-AFV. A partir de una alícuota, de concentración proteica conocida, de gamma de conejo hiperinmuni

zado, se colocaron 0.5 ml en cuatro tubos, con las siguientes concentraciones:

Tubo 1 = 6.0 mg/ml.

Tubo 2 = 3.0 mg/ml.

Tubo 3 = 1.5 mg/ml.

Tubo 4 = 0.75 mg/ml.

- A cada uno de estos tubos se añadió 1.5 ml de PBS 0.15 M pH = 7.2 y -- 1.0 ml de la suspensión madre de partículas de látex.

- Para determinar cuál de las diluciones era la más adecuada se tituló - cada una de ellas con el antígeno correspondiente.

- La titulación se hizo colocando en una placa excavada una gota de 0.025 ml de látex sensibilizado y 0.050 ml del antígeno.

- Se mezcló con un aplicador de madera y después por rotación durante 5 minutos.

- Se observaron los resultados y la mayor dilución donde se presentó - - aglutinación, fué la adecuada.

Desarrollo de la Técnica

Para conocer la reactividad de la técnica, se probó en 27 líquidos cefalorraquídeos, muestras que procedieron de los Hospitales General del C.M.N. - del I.M.S.S. y del 20 de Noviembre del I.S.S.S.T.E., proporcionadas amablemente por los Doctores Genaro Zenteno y Miguel Angel Guillén.

Los líquidos cefalorraquídeos se clasificaron en los dos siguientes grupos:

Grupo 1. Control (+) constituido por 12 líquidos cefalorraquídeos provenientes de pacientes con cisticercosis comprobada mediante tomografía axial computada y/o cirugía.

Grupo 2. Control (-) formado por 15 líquidos cefalorraquídeos de pacientes con alteraciones neurológicas diferentes a cisticercosis y descartada también, por tomografía axial computada.

Todos los líquidos cefalorraquídeos se estudiaron utilizando la prueba de aglutinación con partículas de látex (AL), a las cuales se les adhirió IgG anti-AES e IgG anti-AFV obtenidas de conejos inmunizados con antígenos de cisticerco.

Los resultados se compararon con los obtenidos mediante las técnicas de: DID, IEF, CIEF, HIFV, HIES y RFC (30,67,68)

Las técnicas anteriores, se usan para la detección de anticuerpos contra antígenos del cisticerco; a diferencia de nuestra técnica, en la cual se trató de detectar antígeno (s) del parásito.

Para valorar estadísticamente los resultados obtenidos, los datos fueron procesados utilizando la prueba de χ^2 obteniendo con ésta, la existencia o ausencia de diferencias significativas.

G L O S A R I O

- AES = Antígeno de excreciones y secreciones
- AFV = Antígeno de fluido vesicular
- AL = Aglutinación con partículas de látex
- ALES = Aglutinación con partículas de látex, sensibilizadas con IgG anti-AES.
- ALFV = Aglutinación con partículas de látex, sensibilizadas con IgG anti-AFV.
- API = Aglutinación con partículas inertes.
- CIEF = Contra-inmunolectroforesis.
- DID = Doble inmunodifusión (Ouchterlony).
- HIA = Hemaglutinación indirecta.
- HIES = Hemaglutinación indirecta usando AES.
- HIFV = Hemaglutinación indirecta usando AFV.
- IEF = Inmunolectroforesis.
- IFI = Inmunofluorescencia indirecta.
- LCR = Líquido cefalorraquídeo.
- RFC = Reacción de fijación del complemento (Nieto).

R E S U L T A D O S

Las partículas inertes son usadas como portadoras pasivas de polisacáridos y proteínas. En este trabajo, mediante un proceso de adsorción, la superficie del látex fué sensibilizada con anticuerpos.

La existencia de aglutinación, al interaccionar LCR con la partícula sensibilizada, puso de manifiesto la presencia de antígeno en el LCR; por lo tanto:

- Se consideró como prueba positiva, cuando en la superficie, las partículas formaron grumos (Foto 3).

- Se consideró como prueba negativa, cuando las partículas quedaban en suspensión (Foto 3).

- Antes de procesar el LCR de los pacientes, se hicieron mezclas de reactivos (Cuadro 4) que sirvieron como testigos, para descartar la posibilidad de resultados positivos falsos. El testigo # 7, tuvo como finalidad dar a conocer la cantidad de antígeno mínima, detectable por la técnica de AL.

En la gráfica 1, se muestran los resultados de las pruebas arriba mencionadas (cada una de las cuales se repitió 10 veces). Podemos observar, que se descarta la posibilidad de resultados falsos positivos por autoaglutinación (Testigos 1 y 2) o por reacciones inespecíficas entre las gamma-globulinas normales de conejo y los componentes antigénicos del parásito (Testigos 3 y 4). En los testigos 5 y 6 los resultados fueron idénticos pero no los esperados,

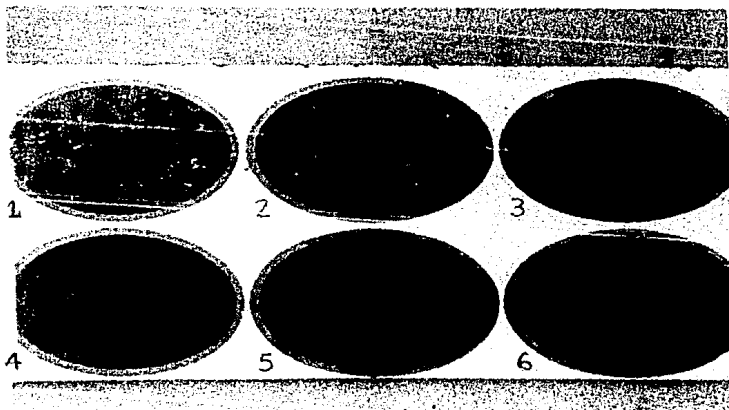


Foto 3. Resultados de la interacción del LCR con las partículas de látex:

Las pozas 1, 2 y 3 son ejemplo de resultados positivos: Las partículas se observan claramente aglutinadas.



Las pozas 4, 5 y 6 son ejemplo de resultados negativos: Las partículas quedaron en suspensión.

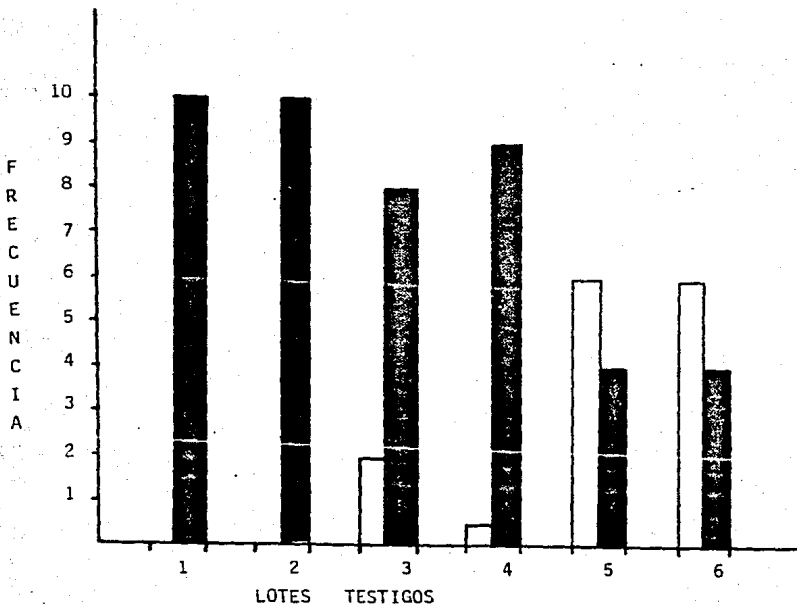
C U A D R O 4

LOTES TESTIGOS USADOS PARA LA ESTANDARIZACION DE LA
TECNICA DE AGLUTINACION CON LATEX (AL)

COMBINACION DE REACTIVOS	TESTIGO No.
Látex sin sensibilizar más AES	1
Látex sin sensibilizar más AFV	2
Látex sensibilizado con IgG de conejo normal más AES	3
Látex sensibilizado con IgG de conejo normal más AFV	4
Látex sensibilizado con IgG anti-AFV más AES	5
Látex sensibilizado con IgG anti-AES más AFV	6
Para conocer la concentración mínima de antígeno, detectable por esta técnica; se hicieron diluciones seriadas de c/u de los antígenos más látex sensibilizado con la IgG correspondiente.	7

G R A F I C A 1

FRECUENCIA DE RESULTADOS POSITIVOS  Y NEGATIVOS 
OBTENIDOS DE LOS LOTES TESTIGOS MENCIONADOS EN CUADRO 4.



Explicación:

Como podemos observar, no hay diferencia entre los valores observados de los esperados en los testigos 1 y 2. La diferencia obtenida en los testigos 3 y 4 no es significativa. Pero la diferencia existente, en los valores, de los testigos 5 y 6 es significativa y parece indicar que hay reacciones cruzadas.

por lo tanto y, aplicando la estadística (X^2), la diferencia entre los valores esperados con los datos obtenidos es significativa.

- En el cuadro 5, se anota el promedio de los resultados de la concentración mínima, de cada uno de los antígenos, detectable por AL.

- En el cuadro 6, se anotan los resultados de la técnica de AL, en los dos grupos de estudio; observando que en el Grupo 1 usando ambos tipos de IgG se detectó el 100.0% de positivos. En el Grupo 2 usando ambos tipos de IgG, sólo el 87.0% dió negativo.

- En el cuadro 7, podemos comparar los resultados que, en cuanto a positividad, se obtuvieron en el Grupo 1, con AL y las otras técnicas empleadas, observando que: La técnica de AL (100.0%) resultó ser más sensible que la RFC (92.0%) y que la HIA (83.0%). De las pruebas de precipitación, con una de ellas (IEF) se detectó solo el 17.0%.

- El cuadro 8 muestra los resultados que, en cuanto a negatividad, se obtuvieron en el Grupo 2 y, comparando la AL con las demás técnicas tenemos que: El 100.0% se obtuvo con las tres pruebas de precipitación (DID, IEF y CIEF), siguiendo en orden de frecuencia la AL y RFC con 87.0% y, por último, la HIA con 80.0%. Hay que hacer notar que de los dos LCR que fueron positivos con AL (13.0%), uno de ellos concuerda con RFC y el otro con HIA.

- En el cuadro 9, se comparan los porcentajes, positivos y negativos, obtenidos con cada una de las cinco técnicas, en los LCR de los Grupos 1 y 2.

C U A D R O 5

DATOS OBTENIDOS DE LAS MEZCLAS IgG anti-AFV + AFV E IgG anti AES + AES,
PARA DETERMINAR LA CONCENTRACION MINIMA DE ANTIGENO DETECTABLE POR AL.

No. DE PRUEBA	CONCENTRACION DE AFV.	CONCENTRACION DE AES.
1	0.18 mg/ml.	0.17 mg/ml.
2	0.18 mg/ml.	0.18 mg/ml.
3	0.19 mg/ml.	0.20 mg/ml.
4	0.17 mg/ml.	0.17 mg/ml.
5	0.20 mg/ml.	0.19 mg/ml.
6	0.18 mg/ml.	0.17 mg/ml.
7	0.18 mg/ml.	0.18 mg/ml.
8	0.20 mg/ml.	0.20 mg/ml.
9	0.19 mg/ml.	0.18 mg/ml.
10	0.18 mg/ml.	0.19 mg/ml.
\bar{X} =	0.185 mg/ml.	0.183 mg/ml.

C U A D R O 6

RESULTADOS OBTENIDOS CON LA TECNICA DE AGLUTINACION DE LATEX,
USANDO AMBOS TIPOS DE IgG, EN LOS 27 LCR ESTUDIADOS.

GRUPO	L C R ESTUDIADOS	A L F V				A L E S			
		POSI TIVO	%	NEGA TIVO	%	POSI TIVO	%	NEGA TIVO	%
1	12	12	100.0	0	0	12	100.0	0	0
2	15	2	13.0	13	87.0	2	13.0	13	87.0

C U A D R O 7

COMPARACION DE RESULTADOS DE LOS LCR DE PACIENTES
DEL GRUPO 2 CON LAS DIFERENTES TECNICAS EMPLEADAS

LCR #	DID	IEF	CIEF	RFC	HIFV	HIES	ALFV	ALES
1	-	-	-	1:8	1:16	1:64	+	+
2	-	-	-	1:16	1:16	1:32	+	+
3	-	-	-	1:8	1:16	1:32	+	+
4	-	-	-	1:32	1:32	1:16	+	+
5	-	-	-	1:32	1:8	1:32	+	+
6	-	-	-	1:64	1:64	1:16	+	+
7	-	+	-	1:64	-	-	+	+
8	-	-	-	1:64	1:4	1:64	+	+
9	-	-	-	1:32	1:64	1:32	+	+
10	-	+	-	1:64	1:32	1:32	+	+
11	-	-	-	-	-	-	+	+
12	-	-	-	1:64	1:16	1:64	+	+

C U A D R O 9

COMPARACION DEL PORCENTAJE OBTENIDO CON LAS DIFERENTES
TECNICAS EMPLEADAS EN LOS LCR DE LOS PACIENTES, DE LOS
DOS GRUPOS ESTUDIADOS.

TECNICA	GRUPO 1 (12 LCR)				GRUPO 2 (15 LCR)			
	POSITIVO	%	NEGATIVO	%	POSITIVO	%	NEGATIVO	%
DID	0	0	12	0	0	0	15	100.0
IEF	2	17.0	10	83.0	0	0	15	100.0
CIEF	0	0	12	100.0	0	0	15	100.0
RFC	11	92.0	1	8.0	2	13.0	13	87.0
HIFV	10	83.0	2	17.0	3	20.0	12	80.0
HIES	10	83.0	2	17.0	3	20.0	12	80.0
ALFV	12	100.0	0	0	2	13.0	13	87.0
ALES	12	100.0	0	0	2	13.0	13	87.0

C O M E N T A R I O S

- Los resultados obtenidos en los Grupos 1 y 2, utilizando AL con IgG antiAES e IgG antiAFW (Cuadro 6), fueron idénticos; y si comparamos éstos con los resultados de los lotes Testigos 5 y 6 (Gráfica 1), podemos sugerir que los antígenos FV y ES tienen composición molecular y bioquímica similar.

- De acuerdo con el resultado del cuadro 5, podemos detectar antígenos de cisticercos con la técnica de AL, siempre y cuando éstos estén presentes en el LCR en una concentración mínima de 0.18 mg/ml.

- Los resultados del cuadro 7, nos dan una idea del número de falsas negativas encontradas en cada técnica; vemos que existe muy poca sensibilidad en las pruebas de precipitación, en cambio en la RFC y la HIA hay más sensibilidad, pero al comparar estos resultados con los de AL, técnica que busca antígenos y no anticuerpos en LCR, se obtienen resultados superiores.

- En el caso del Grupo 2, los resultados del cuadro 8 muestran el número de falsas positivas encontradas con cada técnica y, observamos que hay una muestra que da positiva con RFC y AL y otra que, también da positiva con AL y HIA. Estos datos, comparados con las historias clínicas de los pacientes, - dejan entrever que quizá se trataba de dos pacientes con cisticercosis no detectada por tomografía.

- Por otro lado, se observa que las pruebas de precipitación no dan ningún resultado falso positivo; pero haciendo la comparación con los resultados del Grupo 1 (Cuadro 9), se deduce la inespecificidad de este tipo de técnicas en el diagnóstico de la cisticercosis.

C O N C L U S I O N E S

La IgG acoplada a partículas de látex, reproduce las propiedades diagnósticas de las gamma-globulinas totales acopladas a estas mismas partículas inertes y por lo tanto, se corroboró que en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con neurocisticercosis, existen cantidades de antígenos de cisticerco - - detectables con nuestra técnica.

Los antígenos detectados, son metabolitos producidos por el parásito y que, por ser solubles, se difunden en el líquido cefalorraquídeo.

La dificultad diagnóstica de la neurocisticercosis humana, posiblemente obedezca a que se han tratado de detectar anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo, medio en el cual también existen antígenos en cantidades considerables, los cuales inhiben este tipo de técnicas o bien, en la sangre, donde la barrera hemato-encefálica impide la llegada de los antígenos en concentraciones suficientes para que el hospedero elabore cantidades adecuadas de inmunoglobulinas específicas.

En consecuencia, la técnica de aglutinación propuesta, hace posible evidenciar los casos de cisticercosis del sistema nervioso central no revelados por técnicas de gabinete y/o serología tradicional.

El adherir anticuerpos específicos (IgG anti-cisticerco) a las partículas de látex, hace de alguna manera, innecesario contar con fracciones antigénicas bien determinadas, reduciéndose así la posibilidad de contar con resulta

dos falsos positivos y negativos; por lo cual, la ausencia de resultados falsos negativos ponen de manifiesto la especificidad de la técnica y, en cuanto a los falsos positivos, éstos fueron iguales a los obtenidos con la Reacción de Fijación de Complemento y menores a los encontrados con Hemaglutinación Indirecta.

Estadísticamente, la técnica desarrollada ofrece una reactividad mayor que la Hemaglutinación Indirecta, y la Reacción de Fijación de Complemento y superior a la que ofrece las técnicas de precipitación (Doble Inmunodifusión, Inmunoelectroforesis y Contraimmunoelectroforesis).

Debido a la sensibilidad, especificidad, facilidad de preparación y desarrollo de la técnica de Aglutinación con Látex, así como su bajo costo, se propone su uso rutinario en la clínica, en los centros de salud de áreas rurales y sub-urbanas y en particular en los centros de 1er. nivel para el diagnóstico de esta parasitosis, sin que ello signifique que no deba ser usada en centros especializados.

Finalmente, se debe de hacer consciencia que esta parasitosis, por sus graves consecuencias, no puede ser frenada hasta que no se aspire a mejorar las condiciones higiénicas tanto personales como ambientales y tratando a toda persona infectada con Taenia solium.

La prevalencia de la cisticercosis en México debe ser motivo para encausar estudios que revelen formas eficaces de diagnosticarla, tratarla y, principalmente, de prevenirla.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Abdussalam, M., M.A., Gemmell, R.B., Griffiths, D., Grossklaus, I.G., Kagan, C.W., Schawabe, J., Slais y E.J.L. Soulsby. (1976) RESEARCH NEEDS IN TAENIASIS-CYSTICERCOSIS (MEMORANDUM). Bull. World. Health. Organ. 53: 67-73
- 2.- Alarcón, G.T. y L.L. Olivares. (1975) CISTICERCOSIS CEREBRAL, MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN UN MEDIO DE ALTA PREVALENCIA. Rev. Invest. Clin. Méx. 27: 209-215.
- 3.- Alvarez, Ch.R., B.E., Gaytán y B., De León. (1975) CISTICERCOSIS SUBCUTÁNEA. Bol. Med. Hosp. Inf. 6: 1115-1122.
- 4.- Atienza, F.M., G.V., Gómez y C.J., González. (1969) EMPLEO DE PARTICULAS INERTES PARA EL DIAGNOSTICO DE LA CISTICERCOSIS OVINA. I PRUEBA DE LA BENTONITA. Rev. Iber. Parasitol. 29: 35-43.
- 5.- Beck, J.W. y J.E., Davis. (1983) PARASITOLOGIA MEDICA. Edit. Interamericana. 3a. Edic. México. 202-220 pp.
- 6.- Biagi, F. y J., Tay. (1958) A PRECIPITATION REACTION FOR THE DIAGNOSIS OF CYSTICERCOSIS. Am. J. Trop. Med. Hyg. 7: 63-65.
- 7.- Biagi, F., C., Briceño B., Martínez. (1961) DIFERENCIAS ENTRE Cysticercus cellulosae Y C. racemosus. Rev. Biol. Trop. 1: 141-151.
- 8.- Biagi, F., F., Navarrete, A., Piña, A., Santiago y L., Tapia. (1961) ESTUDIO DE TRES REACCIONES SEROLOGICAS EN EL DIAGNOSTICO DE LA CISTICERCOSIS. Rev. Med. Hosp. Gral. 25: 501-508.
- 9.- Botero, R.D. y M.S., Castaño. (1981) CISTICERCOSIS: TRATAMIENTO CON -- PRAZICUANTEL. Tribuna Médica. 2: 31-36
- 10.- Briceño, C.E., F., Biagi y B., Martínez. (1961) CISTICERCOSIS. OBSERVACIONES SOBRE 97 CASOS DE AUTOPSIA. Pren. Med. Méx. 26: 193-197.

- 11.- Bromberger, P.I., B., Chandler, H., Gezon y J.E. Haddow. (1980) RAPID DETECTION OF NEONATAL GROUP B STREPTOCOCCAL INFECTIONS BY LATEX AGGLUTINATION. J. Pediatr. 96: 104-106.
- 12.- Cabrera, T.N. (1977) ENCUESTA SEROLOGICA DE LA TRIQUINOSIS EN EL ESTADO DE CHIAPAS, MEXICO, UTILIZANDO LA FLOCULACION CON BENTONITA COMO PRUEBA. Tesis. Facultad de Ciencias. UNAM.
- 13.- Ciccicarelli, J.C. (1979) A SIMPLE, RAPID MICRO-LATEX FIXATION TEST. Clin. Exp. Immunol. 38: 181-185.
- 14.- Cohn, J., L.E., Strong y W.L. Hughes. (1976) PREPARATION AND PROPERTIES OF SERUM AND PLASMA PROTEINS. IV A SYSTEM FOR THE SEPARATION INTO FRACTIONS OF THE PROTEIN AND LIPOPROTEIN COMPONENTS OF BIOLOGICAL TISSUES AND FLUIDS. J. Amer. Chem. Soc. 68: 459-475.
- 15.- Costero, I. (1946) TRATADO DE ANATOMIA PATOLOGICA. Edit. Atlante. 2a. Edic. Tomo II. México. 1944 p.
- 16.- Damote-Vicelo, L.J. (1983) DESCONOCIMIENTO DE LA EPIDEMIOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS EN MEXICO. Sal. Pub. Méx. 25: 301-305.
- 17.- De León, Ch.S. (1981) HIPERSENSIBILIDAD CELULAR EN LA CISTICERCOSIS EXPERIMENTAL. Tesis. Facultad de Ciencias Químicas. UNAM.
- 18.- Dubois, M., K.A., Gilles, J.K., Hamilton, P.A., Rebers y F., Smith. (1956) NEW COLORIMETRIC METHODS OF SUGAR ANALYSIS. Anal. Chem. 28: 350-355.
- 19.- Escobar, A. (1977) ALGUNOS DATOS PERTINENTES A LA CISTICERCOSIS CEREBRAL. Rev. Fac. Med. Mex. 26-30.
- 20.- Flisser, A., R., Tarrab, K., Willms y C., Larralde. (1975) INMUNOELECTROFORESIS Y DOBLE INMUNODIFUSION EN EL DIAGNOSTICO DE LA CISTICERCOSIS CEREBRAL HUMANA. Arch. Invest. Med. 6: 1-12.
- 21.- Flisser, S.A. (1978) INMUNOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS HUMANA. Tesis. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. I.P.N.

- 22.- Flisser, A., R., Pérez-Montfor y C. Larralde. (1979) THE IMMUNOLOGY OF HUMAN AND ANIMAL CYSTICERCOSIS: A REVIEW. Bull. World. Health. Organ. 37: 839-856.
- 23.- Flisser, A., E., Woodhouse y C., Larralde. (1980) HUMAN CYSTICERCOSIS: ANTIGENS, ANTIBODIES AND NON-RESPONDERS. Clin. Exp. Immunol. 39: 27-37.
- 24.- Gamboa, A.R. (1960) EL USO DE CORTICOESTEROIDES EN LA CISTICERCOSIS CEREBRAL. Rev. Fac. Med. Mex. 2: 405-408
- 25.- Gómez, G.V., F.M., Atienza y C.J., González. (1969) EMPLEO DE PARTICULAS INERTES PARA EL DIAGNOSTICO DE LA CISTICERCOSIS OVINA. II PRUEBA DE LATEX. Rev. Iber. Parasitol. 29: 191-196.
- 26.- Gómez, G.V., F.M., Atienza y C.J., González. (1970) EMPLEO DE PARTICULAS INERTES PARA EL DIAGNOSTICO DE LA CISTICERCOSIS OVINA. III PRUEBA DE LA HEMAGLUTINACION INDIRECTA. Rev. Iber. Parasitol. 30: 57-62.
- 27.- Gómez, P.A., M.A., Guzmán y H.F., Beltrán. (1977) FRACCIONAMIENTO DE UN ANTIGENO CRUDO DE Cysticercus cellulosae. Sal. Pub. Mex. 19: 421-430.
- 28.- Gómez-Maganda, S.T. (1978) PRUEBA DE AGLUTINACION DE LATEX EN ABSCESO HEPATICO AMIBIANO. Rev. Gastroenterol. Mex. 43: 21-28.
- 29.- González-Angulo, A. (1984) LA CISTICERCOSIS EN MEXICO. Gac. Med. Mex. 120: 309-325.
- 30.- Gutiérrez, Q.M., O.A., Martínez y R.J., García. (1978) METODOS INMUNOLOGICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LAS PARASITOSIS. Manual Editado - por la Sociedad Mexicana de Parasitología, A.C., Facultad de Medicina, U.A.N.L.
- 31.- Guzmán-Bracho, M.C. y R.V., Romero. (1980) DETERMINACION DE ANTIGENOS SOLUBLES DE Cysticercus cellulosae MEDIANTE PRUEBAS DE AGLUTINACION CON PARTICULAS INERTES. Tesis. Facultad de Ciencias Químicas. U.N.A.M.

- 32.- Kabat, E.A. y M.M., Mayer (1968) INMUNOQUIMICA EXPERIMENTAL. Edit. - - Prensa Médica Mexicana. 2a. Edic. México 720-735 pp.
- 33.- Kimura, H. (1980) IMMUNOASSAY WITH ESTABLE POLYSTYRENE LATEX PARTICLES. J. Immunol. Methods, 38: 353-360.
- 34.- Kumar, A. (1980) LATEX AGGLUTINATION TEST AND CONTERCURRENT IMMUNOELECTROPHORESIS FOR DETECTION OF GROUP B STREPTOCOCCAL ANTIGEN (letter). J. Pediatric, 96: 786-787.
- 35.- Levinsky, R.J. y J.F. Shoothill. (1977) A TEST FOR ANTIGEN-ANTIBODIE COMPLEXES IN HUMAN SERA USING IgM OF RABBIT ANTI SERA TO HUMAN IMMUNOGLOBULINS. Clin. Exp. Immunol. 29: 428-435.
- 36.- Lombardo, L. y J.H. Mateos. (1961) CEREBRAL CYSTICERCOSIS IN MEXICO. Neurology, 11: 824-828.
- 37.- Lombardo, L., J.H., Mateos y B., Estañol. (1982) LA CISTICERCOSIS CEREBRAL EN MEXICO. Gac. Med. Mex. 118: 1-16.
- 38.- Lowry, O.H., M.J., Rosebrough, A., Lewis-Far y J.R., Randall. (1951) PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGEN. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- 39.- Mateos, J.H. (1972) CISTICERCOSIS CEREBRAL COMO PROBLEMA DE SALUD PUBLICA. Gac. Med. Mex. 103: 225-228.
- 40.- Markell, E.K. y M., Vogue. (1984) PARASITOLOGIA. DIAGNOSTICO, PREVENCION Y TRATAMIENTO. Edit. Manual Moderno, 5a. Edic. México. 202-220 pp.
41. Mazzoti, L. (1944) DATOS SOBRE LA CISTICERCOSIS EN MEXICO. Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. 5: 283-292.
- 42.- Mazzoti, L. (1954) INCIDENCIA DE Cysticercus cellulosae EN CERDOS DE DIFERENTES LOCALIDADES DE LA REPUBLICA MEXICANA. Rev. Inst. Enf. Trop. 15: 53-56.
- 43.- Mendiola, R. (1944) COMUNICACION PERSONAL A MAZZOTI, TRANSCRITA EN: Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. 5: 283-292.

- 44.- Morris, A.G. y E.Lapa. (1971) CHARCOAL PARTICLE AGGLUTINATION TEST FOR DETECTION OF ANTIBODY TO Cryptococcus neoformans: A PRELIMINARY REPORT. Amer. J. Clin. Path. 56: 354-359.
- 45.- Morris, N., M.E., Proctor y R. Elsdon-Dew. (1968) A PHYSICO-CHEMICAL APPROACH TO THE SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF CYSTICERCOSIS. Jl. S. Afr. Vet. Med. Ass. 39: 41-43.
- 46.- Nieto, D. (1948) DIAGNOSTICO DE LA CISTICERCOSIS DEL SISTEMA NERVIOSO. Pren. Med. Mex. 13: 226-230.
- 47.- Nieto, D. (1956) CYSTICERCOSIS OF THE NERVOUS SYSTEM. DIAGNOSIS BY MEANS OF THE SPINAL FLUID COMPLEMENT FIXATION TEST. Neurology. 6: 725-737.
- 48.- Patithory, J., M., Jay y M., Feillet. (1971) LE DIAGNOSTIQUE PAR IMMUNOELECTROPHORESIS ET OUCHTERLONY DE LA CISTICERCOSIS. L'Encephale. 60: 24-35.
- 49.- Plancarte, A., A., Flisser y C., Larralde. (1983) FIBRONECTIN-LIKE PROPERTIES IN ANTIGEN B FOR THE CYSTICERCUS OF Taenia solium. Cytobios. 36: 86-93.
- 50.- Proctor, E.M. y R. Elsdon-Dew. (1966) SEROLOGICAL TEST IN PORCINE CYSTICERCOSIS. South. Afr. J. Scie. 62: 264-266.
- 51.- Proctor, E.M., S.J. Powell y R. Elsdon-Dew. (1966) THE SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF CYSTICERCOSIS. Ann. Trop. Med. Parasit. 60: 146-151.
- 52.- Ramos-Murguía, A. (1962) CYSTICERCOSIS OF THE NERVOUS SYSTEM. J. Neur. Surg. 19: 633-638.
- 53.- Robles, C. (1944) CONSIDERACIONES ACERCA DE 100 CASOS DE TUMOR CEREBRAL OPERADOS. Pren. Med. Mex. 9: 67-72.
- 54.- Robles, C. y M. Chavarría. (1980) UN CASO DE CISTICERCOSIS CEREBRAL CURADO MEDICAMENTE. Gac. Med. Mex. 116: 65-71.

- 55.- Robles, C. (1981) TRATAMIENTO MEDICO DE LA CISTICERCOSIS CEREBRAL. Gac. Med. Mex. 9: 355-363.
- 56.- Rydzewski, A.K., E.D., Chisholm y I.A., Kagan. (1975) COMPARISON SEROLOGICAL TEST FOR HUMAN CYSTICERCOSIS BY INDIRECT HAEMAGGLUTINATION, INDIRECT IMMUNOFLOURESCENT ANTIBODY AND AGAR GEL PRECIPITIN TEST. J. of Parasitol. 61: 154-155.
- 57.- Schantz, P.M., D., Shanks y M., Wilson. (1980) SEROLOGIC CROSS-REACTIONS WITH SERA FROM PATIENTES WITH ECHINOCOCCOSIS AND CYSTICERCOSIS. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29: 609-612.
- 58.- Scheiffele, D.W., J.I., Ward y R.G., Siber. (1981) ADVANTAGE OF LATEX AGGLUTINATION OVER COUNTERCURRENT IMMUNOELECTROPHORESIS IN THE DETECTION OF Haemophilus influenzae TYPE B ANTIGEN IN SERUM. Pediatrics. 68: 888-891.
- 59.- Scott, N.E., G.H., Muchmore y F.G., Felton. (1980) COMPARISON OF ENZYME IMMUNOASSAY AND LATEX AGGLUTINATION METHODS FOR DETECTION OF Cryptococcus neoformans ANTIGEN. Am. J. Clin. Pathol. 73: 790-794.
- 60.- Seamon, P.J., F.G., Clegg, J.K., Beverly y A.P., Freeman. (1977) THE Toxoplasma LATEX AGGLUTINATION TEST IN MICE AND HIS APPLICATION TO THE DIAGNOSIS OF OVINE ABORTION. Vet. Rec. 101: 324-325.
- 61.- Shanley, J.C. y C.M., Jordan. (1980) CLYNICAL ASPECTS OF CNS CYSTICERCOSIS. Arch. Intern. Med. 140: 1309-1313.
- 62.- Singer, J.M., S.C., Edberg, M., Selinger y M., Amran. (1979) THE INMUNOLOGY OF HUMAN AND ANIMAL CYSTICERCOSIS: A REVIEW. Bull. World. Health, Organ. 37: 839-856.
- 63.- Tay, Z.J., A.R., Lara, C.O., Velasco y Q.M., Gutiérrez. (1985) PARASITOLOGIA MEDICA. Edit. Francisco Méndez. 2a. Edic. México. 213-226 pp.
- 64.- Trujillo-Valdéz, V.M., D., González-Barranco y R., Orozco-Bolne . (1981) TRATAMIENTO EXPERIMENTAL CON METRIFONATO EN LA CISTICERCOSIS. Arch. Invest. Med. Mex. 12: 15-28.

- 65.- Velasco, O. (1983) COMPARISON OF A TECHNIC FOR DETECTION OF SOLUBLE ANTIGENS OF Cysticercus cellulosae. Sal. Pub. Mex. 2: 205-208.
- 66.- Villanueva, D.G. y D., González-Barranco. (1980) APLICACION DE LA PRUEBA DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA EN LA CISTICERCOSIS HUMANA. Rev. Med. Hosp. Gral. 43: 253-256.
- 67.- Weir, D.M. (1978) HANBOOK OF EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY. Edit. Blackwell Scientific Publications. 3a. Edic. Tomo 1. U.S.A. 6.1-10.6 pp.
- 68.- Weir, D.M. (1978) HANBOOK OF EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY. Edit. Blackwell Scientific Publications. 3a. Edic. Tomo 3. U.S.A. 43.1-43.22 pp.
- 69.- Yakoleff-Greenhouse, V., A., Flisser, A., Sierra y C. Larralde. (1982) ANALYSIS OF ANTIGENIC VARIATION IN CISTICERCI OF Taenia solium. J. Parasitol. 68: 39-47.
- 70.- Zenteno, G., B., Martínez y F., Biagi. (1961) OBSERVACIONES SOBRE LA CISTICERCOSIS HUMANA. Rev. Fac. Med. 3: 617-633.
- 71.- Zenteno, G. (1968) SINTOMATOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS HUMANA. Rev. Fac. Med. Mex. 11: 41-45
- 72.- Zenteno, G. (1972) ESTUDIO DEL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO. Trib. Med. 21: 35-39.
- 73.- Zenteno, G. (1985) MECANISMOS DE ACCION DEL CISTICERCO EN EL SISTEMA - NERVIOSO DEL SER HUMANO. Rev. Med. I.M.S.S. 4: 351-352.