

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN



---

DETERMINACION DE REACCIONES CRUZADAS  
ENTRE Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenui  
collis, MEDIANTE LAS PRUEBAS DE DOBLEIN-  
MUNODIFUSION E INMUNOELECTROFORESIS.

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

**SERGIO MANUEL GUEVARA MARTINEZ**

**ASESORES: MVZ. ANTONIO ACEVEDO HERNANDEZ  
DRA. KAETHE WILLMS**

1 9 8 1



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 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.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## INDICE

I.-	RESUMEN	1
II.-	INTRODUCCION .....	2
III.-	MATERIAL Y METODOS .....	7
IV.-	RESULTADOS .....	14
V.-	DISCUSION .....	27
VI.-	CONCLUSIONES .....	31
VII.-	BIBLIOGRAFIA .....	32

Se determinó una frecuencia de anticuerpos anti-Cysticercus cellulosae del 53.3 % mediante la prueba de doble inmunodifusión, mientras que la -- prueba inmunolectroforética se mostró mas sensible, ya que detectó el 73.3 % del total de animales infectados por Cysticercus cellulosae. No se detectaron anticuerpos precipitantes en sueros de cerdos parasitados con Cysticercus tenuicollis, tanto en doble inmunodifusión, como en inmunolectroforésis. Por otro lado, se detectaron reacciones cruzadas entre Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis en sueros de cerdos parasitados, en un porcentaje que varió del 7.1 % al 13.3 %.

En los sueros hiperinmunes obtenidos de conejos inmunizados, se detectaron reacciones cruzadas entre las fases larvarias antes mencionadas, -- tanto en doble inmunodifusión, como en inmunolectroforésis.

## INTRODUCCION

En México, la cisticercosis porcina producida por Cysticercus cellulosae, es una enfermedad parasitaria de máxima importancia debido a la frecuencia con que se presenta (40), las graves pérdidas económicas que ocasiona y, por su impacto en la Salud Pública.

El Cysticercus cellulosae, fase larvaria de la Taenia solium (30), parasita principalmente al cerdo, hombre y perro. Se localiza en el tejido muscular, con mayor frecuencia en los grupos musculares de la cara interior de la pierna, brazo, lengua, corazón e intercostales. Además, los cisticercos -- pueden encontrarse aislados en el cerebro, médula espinal y globo ocular (7, 38). El cisticercos se caracteriza por su aspecto de vesícula llena de líquido delgada y translúcida, en cuyo interior se encuentra la invaginación que consta de cuello y escólex con cuatro ventosas circulares y una doble corona de ganchos. Externamente, la larva se encuentra rodeada por un granuloma crónico circunscrito en tejido conjuntivo (7, 30, 51).

El ciclo evolutivo se inicia por la ingestión de proglótidos o huevos libres de la Taenia solium por el huésped intermediario (cerdo). Dentro del aparato digestivo de este, la oncosfera queda libre, penetra a través de la pared intestinal y llega por la circulación hemática al sitio de su implantación. El huésped definitivo (hombre), se infecta al ingerir carne con cisticercos viables que al estar en contacto con las sales biliares, evagina su escólex fijándose en la mucosa del intestino delgado, donde se desarrolla el parásito adulto (7).

La cisticercosis humana, es particularmente seria cuando afecta al Sistema Nervioso Central; aproximadamente el 3 % de las muertes son causadas por esta enfermedad en algunos nosocomios (8, 17, 31, 32, 43, 52).

En el cerdo, la cisticercosis está considerada como la principal causa de decomiso de canales en rastros donde se hace la inspección sanitaria. En la Tabla I, se muestran algunos datos que nos indican la frecuencia con que se presenta esta parasitosis en el cerdo.

TABLA I

Porcentaje de cisticercosis en cerdos de abasto en México.

No. de Cerdos Sacrificados	Cisticercosis (%)	Periodo	Referencia
430, 288	2.7	1963	(42)
33, 604	4.5	1964-65	(39)
345, 905	.7	1968-70	(36)
529	6.8	1969	(14)
26, 623	.5	1972-73	(40)
464, 897	.7	1973	(31)
2, 374	1.6	1973	( 6)
776, 300	1.1	1973	(33)
6, 164	5.4	1973-74	(20)

En la cisticercosis porcina producida por Cysticercus cellulosae, el diagnóstico clínico es difícil. En un número muy reducido de los casos (5-10 %), pueden reconocerse los cisticercos mediante la inspección y palpación de la cara inferior de la lengua (7, 15), sin embargo, en la mayor parte de los animales parasitados, las infecciones son asintomáticas (13). Debido a esto, el diagnóstico se realiza post-mortem a la inspección sanitaria de canales en los rastros. Es importante señalar que el ciclo biológico de ésta parasitosis se puede mantener porque animales con infecciones muy leves no son detectados en la inspección sanitaria y estas canales son autorizadas para el consumo humano (50).

Por otro lado, el Cysticercus tenuicollis, fase larvaria de la Taenia hydatigena (30), tiene como huésped intermediario al cerdo. Esta parasitosis se ha reportado con una frecuencia que varía del 1.4 % al 15 % (14, 48). También se ha descrito en la literatura que los cerdos pueden encontrarse parasitados por ambas fases larvarias (Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis) (14), lo cual pudiera ser de gran importancia en el diagnóstico de la cisticercosis por Cysticercus cellulosae, mediante pruebas serológicas.

El diagnóstico clínico de la cisticercosis porcina producida por Cysticercus tenuicollis puede realizarse ante-mortem, mediante la obtención de líquido peritoneal de la cavidad abdominal, conteniendo cisticercos inmaduros (46). Sin embargo, varios autores coinciden en que el mejor método diagnóstico para ésta parasitosis se basa en el examen post-mortem, detectando el parásito en el hígado y membranas serosas del omento y mesenterio (12, 46). Generalmente, las infecciones son leves, de tal manera que el huésped no manifiesta sintomatología alguna (7, 13, 30).

Debido a la reducida manifestación clínica de ambas parasitosis en un mismo huésped, se torna importante desarrollar técnicas para el diagnóstico pre-mortem, es decir, métodos indirectos entre los cuales las pruebas inmunodiagnósticas pudieran ser de gran importancia y de fácil realización (11, 38).

Varios métodos inmunológicos han sido utilizados para el diagnóstico de la cisticercosis. Biagi y Tay, realizaron 39 reacciones de precipitación con sueros de cerdos cisticercosos (Cysticercus cellulosae), encontrando que

los 39 fueron positivos a la prueba, lo que representa un 100 % de eficiencia (3). Sin embargo, en un estudio posterior, los mismos autores reportaron que ésta prueba no es de gran valor al comprobar que de 29 cerdos cisticercosos, solo uno resultó positivo (5). Espinoza, utilizando la misma técnica, detectó 48 reacciones positivas de 81 animales con cisticercosis comprobada a la necropsia, lo que da un porcentaje del 59.2 % (14). Biswal, Panda y Misra, utilizando la prueba de hemaglutinación de Boyden para el diagnóstico de la cisticercosis en cabras y borregos parasitados con Cysticercus tenuicollis, detectaron anticuerpos circulantes en 77 de 90 animales cisticercosos (95 %), - (11). La inmunoelectroforésis ha sido empleada por Romero (45), detectando una frecuencia de anticuerpos anti-Cysticercus cellulosae del 38.6 %, ya que - de 300 sueros analizados, 116 reaccionaron en forma positiva. Gutierrez (28), encontró que de 84 cerdos con infecciones masivas por Cysticercus cellulosae, solo el 15 % de los animales infectados tuvieron anticuerpos precipitantes en inmunoelectroforésis.

Por otra parte, hay numerosos datos en la literatura, que reportan -- reacciones inmunológicas cruzadas entre diversos parásitos. Froyd (11), utilizando pruebas intradérmicas, encontró reacciones cruzadas entre cisticercosis, fasciolosis e hidatidosis, utilizando antígenos de Cysticercus bovis, Taenia saginata, Echinococcus granulosus y Fasciola gigantica. Fernández, Gómez y -- Col., han demostrado la existencia de anticuerpos mediante pruebas de aglutinación, utilizando el método de la bentonita, latex y hemaglutinación pasiva para el diagnóstico en ovejas y cabras parasitadas por Cysticercus tenuicollis, estos autores reportaron reacciones cruzadas entre éste parásito y Echinococcus granulosus (16, 23, 24). Atempa (2), en un estudio para determinar reacciones cruzadas entre Cysticercus tenuicollis y Fasciola hepatica mediante las pruebas de hemaglutinación pasiva, inmunodifusión en gel de agar y contraelectroforésis, encontró que con las dos últimas no hay reacciones cruzadas entre ambos parásitos, mientras que con la primera, si detectó reacción cruzada.

Calamel y Soule (9), observaron reacciones cruzadas entre sueros obtenidos de animales infectados con Cysticercus bovis, Cysticercus pisiformis,

y Cysticercus tenuicollis, utilizando métodos de inmunofluorescencia.

Seliverstov (1), encontró antígenos comunes entre Echinococcus granulosus y Cysticercus tenuicollis, utilizando técnicas de intradermoreacción. Morenas (37), mediante la utilización de la misma técnica, observó relación antigénica entre Cysticercus tenuicollis y Cysticercus cellulosae.

En vista de lo anterior, es nuestro propósito determinar el porcentaje de anticuerpos anti-Cysticercus cellulosae y anti-Cysticercus tenuicollis en sueros de cerdos; así como el grado en el que se presentan reacciones cruzadas entre estas dos fases larvarias, utilizando las técnicas de doble inmunodifusión e inmunoelectroforé-  
sis.

Ambas técnicas tienen la finalidad de estudiar la reacción de antígeno-anticuerpo, por la reacción de precipitación. La técnica de doble inmunodifusión está basada en el principio de que el antígeno y el anticuerpo se difunden a través de un medio semisólido (por ejemplo, agar) y forman complejos precipitados estables que pueden ser analizados visualmente (19). Por otro lado, la inmunoelectroforé-  
sis, consiste en la separación electroforética de moléculas, seguida de una doble inmunodifusión frente a sueros que contienen anticuerpos, colocados perpendicularmente a la línea de electroforé-  
sis. Los anticuerpos precipitantes se unen a sus correspondientes antígenos para producir en el gel bandas de precipitación específica e independientes; por lo tanto, es posible contar el número de componentes antigénicos de una mezcla y definirlos de acuerdo a su movilidad electroforética (27).

- 1.- Material para la obtención de los sueros de cerdo.
  - a) Sangre de 311 cerdos.
  - b) Tubos de ensaye.
  - c) Portatubos.
  - d) Centrífuga.
  - e) Congelador.
  - f) Tubos de plástico de 5 ml.
  - g) Aretes metálicos de numeración progresiva.
  
- 2.- Material para la obtención de antisueros de conejo.
  - a) 12 conejos.
  - b) Antígeno de Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis.
  - c) Adyuvante completo de Freund.
  - d) Tubos de ensaye.
  - e) Centrífuga.
  - f) Congelador.
  - g) Jeringas de 5 ml.
  - h) Pipeta graduada.
  
- 3.- Material para la extracción de los antígenos de Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis.
  - a) Carne parasitada con Cysticercus cellulosae.
  - b) Vísceras parasitadas con Cysticercus tenuicollis.
  - c) Solución salina al 0.15 M amortiguada con fosfatos al 0.05 M a pH 7.4 (SSA).
  - d) Solución de KCL al 3 M.
  - e) Antibióticos: estreptomina y penicilina.
  - f) Medio de cultivo para bacteriología de cerebro-corazón al -- 3.7 % con agar al 2 %.
  - g) Estufa para incubar.
  - h) Cajas de petri.
  - i) Placa magnética con agitador.

- j) Politron.
- k) Centrífuga.
- l) Congelador.

4.- Material para la prueba de doble inmunodifusión.

- a) 311 sueros problema.
- b) Antígenos de Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis.
- c) Antiseros de conejo.
- d) Solución amortiguadora de barbiturato de sodio al 0.5 M a --- pH 8.6.
- e) Solución de NaCl al 1 %.
- f) Agarosa al 0.8 %.
- g) Azida de sodio al 0.02 %.
- h) Colorante amido negro al 0.7 % en ácido acético al 10 %.
- i) Solución decolorante de ácido acético al 10 %.
- j) Matraz Erlenmayer de 250 ml.
- k) Pipeta graduada.
- l) Tubos capilares.
- m) Cortador para el agar.
- n) Portaobjetos.
- ñ) Papel filtro Whatman No. 1.
- o) Mechero de Bunsen, triple y malla de asbesto.
- p) Potenciómetro.
- q) Báscula.
- r) Cámara húmeda.

5.- Material para la prueba de inmunoelectroforesis.

- a) 311 sueros problema.
- b) Antígenos de Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis.
- c) Solución amortiguadora de barbiturato de sodio al 0.05 M a --- pH 8.6.
- d) Antiseros de conejo.
- e) Solución de NaCl al 1 %.

- f) Agarosa al 0.8 .
- g) Azida de sodio al 0.02 %.
- h) Colorante amido negro al 0.7 % en ácido acético al 10 %.
- i) Solución decolorante de ácido acético al 10 %.
- j) Portaobjetos e inmunomarcos.
- K) Pipeta serológica.
- l) Cortador para el agar.
- m) Telas de fibra sintética para inmunoelectroforésis.
- n) Cámara de inmunoelectroforésis y fuente de energía.
- R) Potenciómetro.
- o) Cámara húmeda.

#### 1.- Método para la obtención de los sueros de cerdo.

Se obtuvieron 297 muestras de sangre de cerdos de abasto sacrificados en el Rastro de Tláhuac, Distrito Federal. La sangre se colectó en tubos de ensaye en el momento del sacrificio que se colocaron en un portatubos con una inclinación de 15° durante 2 a 3 horas antes de su arribo al laboratorio y -- después a 4°C. Una vez hecho esto, los tubos se centrifugaron a 4, 700 g durante 15 minutos y finalmente, por decantación, se separó el suero el cual se conservó a -20°C hasta su uso.

Los cerdos se marcaron conforme al orden de sacrificio colocando una grapa metálica de numeración progresiva en el ángulo inferior de la oreja, de manera que coincidiera con el número de la muestra de sangre. Posteriormente, se llevó a cabo la inspección sanitaria para determinar el número de canales positivas a Cysticercus cellulosae y finalmente, se revisaron las vísceras llevando cuenta de las canales infectadas por Cysticercus tenuicollis.

#### 2.- Método para la obtención de los antisueros de conejo.

Los animales se dividieron en 2 grupos, cada uno de 6 conejos, - para así obtener 2 tipos de antisueros, los cuales se utilizaron como controles positivos en las pruebas serológicas. El primer grupo fue inoculado con antígeno de Cysticercus cellulosae y el segundo, con el antígeno de Cysticercus tenuicollis.

Las inmunizaciones se llevaron a cabo cada 15 días durante un pe

riodo de 12 semanas mediante inyección subcutánea de 0.5 mg de proteína del antígeno suspendido en SSA y 0.5 ml de adyuvante completo de Freund, el cual se utilizó solamente en las 2 primeras inoculaciones. Una semana después de la tercera inoculación se llevó a cabo el primer sangrado, las muestras de sangre fueron colocadas en tubos de ensayo dejándose 2 a 3 horas a temperatura ambiente y después a 4°C durante 12 horas con una inclinación de 15°. Posteriormente se decantó el suero para luego centrifugarlo a 4,700 g durante 15 minutos, separándose el sobrenadante. Los antisueros así obtenidos fueron probados en contra de su antígeno homólogo mediante la prueba de doble inmunodifusión, con el objeto de observar reacciones de precipitación y así comprobar la producción de anticuerpos en los conejos inoculados. Finalmente, las siguientes tomas de sangre se hicieron una semana después de cada inoculación. Las muestras fueron manejadas de la manera en que se señaló arriba, conservándose a -20°C hasta su uso.

### 3.- Método para la extracción del antígeno de Cysticercus cellulosae.

El procedimiento se llevó a cabo de acuerdo a la técnica descrita por Flisser y Col. (18).

Se obtuvo carne de cerdo parasitada por Cysticercus cellulosae una vez que se realizó la inspección sanitaria. La carne se transportó en bolsas con hielo al laboratorio en donde se procedió a separar los cisticercos del tejido muscular mediante disección cuidadosa, colocándose en solución salina al 0.15 M amortiguada con fosfatos al 0.01 M a pH 7.4 (SSA). El líquido vesicular fué eliminado por punción y fué utilizado el escólex junto con la membrana. Esta fracción (escólex-membrana) se lavó durante 12 horas a 4°C usando una relación de 10 volúmenes de SSA y antibióticos (penicilina y estreptomina) por cada volumen de escólex-membrana. Posteriormente, se hicieron siembras en medio de cultivo cerebro-corazón al 3.7 % y agar al 2 % y se dejaron incubar a 37°C durante 24 horas para comprobar su esterilidad. Hecho esto, el material se seco con papel filtro y se pesó, obteniéndose 230 --gramos de peso húmedo; después se homogenizó en Politrón con KCL 3 M en SSA, utilizando 3 ml de ésta solución por cada gramo de escólex-membrana. Este proceso se hizo durante 1 minuto y dejando reposar 5 minutos en hielo, repitiendo

dose la operación en 6 ocasiones. El material se agitó durante 24 horas a 4°C para luego centrifugarlo a 28, 000 g durante 30 minutos a 4°C, con el objeto de eliminar el precipitado. Se separó el sobrenadante y se dializó contra SSA cambiándose la solución cada 12 horas en 6 ocasiones. Finalmente se centrifugó 2 veces a 30, 000 g por 30 minutos a 4°C, se separó el sobrenadante y se conservó en alícuotas a -20°C hasta su uso. La concentración de proteína se cuantificó por el método de Lowry (21).

#### 4.- Método para la extracción del antígeno de Cysticercus tenuicollis.

Inmediatamente después de sacrificados los animales, se tomaron los cisticercos indistintamente del hígado y de las membranas serosas -- del omento y mesenterio en el momento de la evisceración colocándose en hielo hasta su arribo al laboratorio en donde se lavaron repetidas veces con -- SSA para luego extraer el líquido vesicular y obtener así el escólex junto -- con la membrana con los que se procesó el antígeno utilizando la misma técnica que con el Cysticercus cellulosae.

Para la elaboración de este antígeno se utilizaron cisticercos de borregos parasitados. Por tal motivo, se llevaron a cabo pruebas de identidad en doble inmunodifusión en las que se reaccionó el antígeno extraído de ovinos y el antígeno extraído de Cysticercus teneicollis obtenido de cerdos; ambos en contra de un antisuero homólogo producido en conejo.

#### 5.- Método para el desarrollo de la técnica de doble inmunodifusión.

Las pruebas de doble inmunodifusión fueron realizadas de acuerdo con el método descrito por Duchterlony (21). Se utilizó agarosa al -- 0.8 % disuelta en amortiguador de barbituratos al 0.05 M a pH 8.6, adicionando además azida de sodio al 0.02 % como bacteriostático. La agarosa se vertió sobre los portaobjetos colocados en inmunomarcos (6 portaobjetos por -- marco) dejándose polimerizar por 24 horas a 4°C en cámara húmeda. -- Los círculos periféricos colocándose en cada uno de ellos .02 ml -- de suero problema, las que se hicieron reacciones de inmunodifusión con el antígeno extraído de Cysticercus cellulosae concentra-

do a 12 mg/ml de protefna en el pozo central. Después, las muestras se hicieron reaccionar frente al antígeno extraído de Cysticercus tenuicollis concentrado a 16 mg/ml de protefna. Los inmunomarcos ya con los reactantes se dejaron difundir durante 48 horas a temperatura ambiente en cámara húmeda y después se lavaron con solución de cloruro de sodio al 1 % durante 48 horas con 6 cambios. Las placas de agar se secaron cubriéndose con tiras de papel filtro, se retiró el papel y se tificaron con amido negro al 0.7 % en ácido acético al 10 % y finalmente, se lavó el exceso de colorante con ácido acético al 10 %, se dejaron secar y se hicieron las lecturas sobre un negatoscopio.

Se trabajó con sueros hiperinmunes de conejos, con el objeto de detectar reacciones cruzadas entre estos. Los antígenos fueron colocados en las horadaciones periféricas, mientras que el antisuero se colocó en el pocillo central. Los reactantes también fueron colocados en forma inversa.

#### 6.- Método para el desarrollo de la técnica de inmunoelectroforesis.

Se utilizó la técnica descrita por Garvey (21), que está basada en las técnicas habituales de inmunoelectroforesis.

Se preparó agarosa al 0.8 % disuelta en amortiguador de barbituratos al 0.05 M a pH 8.6, adicionando además azida de sodio al 0.02 % como bacteriostático. La agarosa se vertió sobre portaobjetos colocados sobre inmunomarcos (6 portaobjetos por inmunomarco), dejándose polimerizar por 24 horas a 4°C en cámara húmeda. Después en cada portaobjetos se perforaron 2 canales laterales y un pozo central, colocándose en este último 20 ul del antígeno extraído de Cysticercus cellulosae concentrado a 12 mg/ml de protefna. Los sueros que resultaron positivos se retaron posteriormente contra el antígeno extraído de Cysticercus tenuicollis concentrado a 16 mg/ml de protefna. Como control de paso de corriente se colocó en un pozo azul de bromofenol. Los inmunomarcos se colocaron en la cámara para inmunoelectroforesis que contenía 500 ml del mismo amortiguador utilizándose como puente entre ambos, tiras de fibra sintética. Se conectó a la fuente de energía ajustándose el amperaje a 3 miliamperes por cada portaobjetos, aplicándose la corriente eléctrica por 45 minutos. Después se retiró la agarosa de los canales laterales de cada ---

portaobjetos y se colocó en cada uno .02 ml de cada muestra de suero. Se utilizó como control suero hiperinmune homólogo de conejo. Los inmunomarcos ya con los reactantes se dejaron difundir durante 48 horas a temperatura ambiente en cámara húmeda y después se lavaron con solución de cloruro de sodio al 1 % durante 48 horas con 6 cambios. Los portaobjetos se secaron cubriéndose con tiras de papel filtro y se tificaron con amido negro al 0.7 % en ácido acético al 10 %. Finalmente, se lavó el exceso de colorante con ácido acético al 10 %, se dejaron secar y se hicieron las lecturas sobre un negatoscopio.

Los sueros hiperinmunes de conejo fueron probados contra sus antígenos heterólogos con el objeto de observar reacciones cruzadas. Los antígenos fueron colocados en los pocillos laterales y el antisuero se colocó en el canal central.

## RESULTADOS

## 1.- Hallazgos a la inspección sanitaria.

Durante el periodo en el que se obtuvieron las muestras de sangre - de cerdo, del 18 de Marzo al 23 de Abril de 1980, se inspeccionaron las canales y vísceras de 297 cerdos de un total de 2, 030 animales sacrificados durante este periodo, en el Rastro de Tláhuac, D.F. Los resultados de la inspección sanitaria se resúmen en la Tabla II. Como podemos observar, 1 cerdo fué positivo a C. cellulosae (0.33 %) y 14 cerdos a C. tenuicollis (4.7 %). Se trabajó también con 14 sueros de cerdos positivos a C. cellulosae a la necropsia; que se obtuvieron en el departamento de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia de la U.N.A.M. El total de sueros de cerdo obtenidos fué de 311.

TABLA II

Resultados comparativos de las parasitosis halladas en los 297 cerdos a la inspección sanitaria.

Diagnóstico Macroscópico	No. de animales infectados	Infección (%)
<u>C. cellulosae</u>	1	0.33
<u>C. tenuicollis</u>	14	4.7
Normales	282	
Total	297	

## 2.- Antígenos.

Se obtuvieron 2 extractos antigénicos, uno de C. cellulosa con una concentración de 12 mg/ml de proteína y otro, de C. tenuicollis con una -- concentración de 16 mg/ml de proteína.

## 3.- Sueros hiperinmunes.

De los 12 conejos inoculados con los extractos antigénicos de - C. cellulosa y C. tenuicollis, se obtuvieron sueros hiperinmunes, los cuales precipitaron frente a su antígeno homólogo tanto en doble inmunodifusión (D.I.D como en inmunoelectroforesis (I.E.F.) (Fig. 1 y 2)

Los controles tanto de la D.I.D., como de la I.E.F., en los cuales se separaron los antígenos, y se reaccionaron frente a un suero de conejo inmunizado con estos mismos antígenos, fueron uniformemente positivos, mostrando varias bandas de precipitación (Fig. 1 y 2), indicando que ambas técnicas - fueron adecuadas en todos los lotes de sueros analizados.

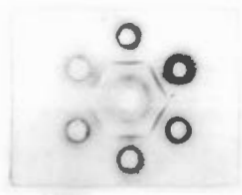
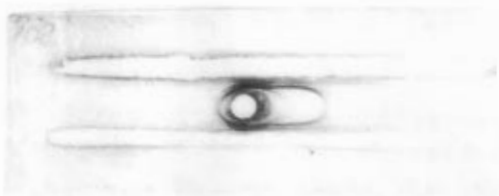


Fig. 1. Patrón de precipitación en D.I.D. de extracto antigénico de *Cysticercus tenuicollis* (pozos periféricos), frente a un antisuero homólogo de conejo (pozo central).



Patrón immunoelectroforético de extracto antigénico de *Cysticercus tenuicollis* frente a un antisuero homólogo de conejo.

- 4.- Porcentaje de sueros de cerdo con anticuerpos a antígenos de - Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis mediante las técnicas de doble inmunodifusión e inmunoelectroforésis.

La frecuencia de positividad en la detección de anticuerpos -- en los diferentes tipos de sueros analizados, se muestran en la Tabla III. Se observó un 53.3 % de reacciones positivas en D.I.D., en sueros de cerdos infectados con C. cellulosae (Fig. 3 a y b), mientras que en los sueros de cerdos infectados con C. tenuicollis, todas las reacciones fueron negativas.

En I.E.F., se detectó un 73.3 % de reacciones positivas frente al antígeno de C. cellulosae, mostrando 1 o 2 bandas de precipitación de tipo isoelectrico (Fig. 4). Todas las reacciones de los sueros de cerdos infectados con C. tenuicollis, fueron negativas en ésta prueba.

Dentro de los sueros normales se observaron algunas reacciones positivas con porcentajes muy bajos en D.I.D., sin embargo, en I.E.F., este porcentaje aumentó (Tabla III).

TABLA III

Porcentaje de sueros de cerdo con anticuerpos a antígenos de Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis mediante las técnicas de doble inmunodifusión e inmunoelectroforesis.

## DOBLEINMUNODIFUSION

	No. de sueros	P O S I T I V O S			
		Ag. <u>C. cellulosae</u>		Ag. <u>C. tenuicollis</u>	
		No.	%	No.	%
<u>C. cellulosae</u>	15	8	53.3	*	*
<u>C. tenuicollis</u>	14	*	*	0	0
Normales	282	2	.7	4	1.4
Total	311				

## INMUNOELECTROFORESIS

	No. de sueros	P O S I T I V O S			
		Ag. <u>C. cellulosae</u>		Ag. <u>C. tenuicollis</u>	
		No.	%	No.	%
<u>C. cellulosae</u>	15	11	73.3	*	*
<u>C. tenuicollis</u>	14	*	*	0	0
Normales	282	11	3.9	NP	NP
Total	311				

\* Reacción heteróloga.

Figura 3. a) Colônia de *C. albicans* em placa de Petri infectada com o vírus *SV40*, teste de imunodifusão em dupla difusão de Cys. b) Imagem de placa de Petri.

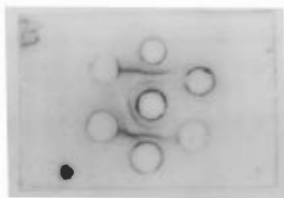


Figura 3 a.

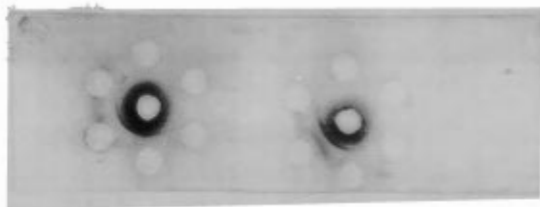


Figura 3 b.

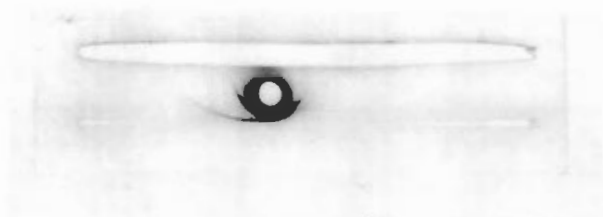


Fig. 4 Patrón immunoelectroforético del extracto antoénico de *Bacillus anthracis* (pozo central); frente a suero de cordero normal (zona superior), e infectado (zona inferior)

- 5.- Porcentaje de reacciones cruzadas entre Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis, mediante las técnicas de doble inmunodifusión e inmunoelectroforésis.

En la Tabla IV se muestran los resultados de reacción cruzada en D.I.D. e I.E.F., con los diferentes tipos de sueros analizados. Como se -- puede observar, en D.I.D. solo 2 sueros de cerdos parasitados con C. cellulosae, precipitaron frente al antígeno de C. tenuicollis (13.3 %); y ningún suero de cerdo infectado con C. tenuicollis precipitó frente al antígeno de C. cellulosae.

En I.E.F., ningún suero de cerdo infectado con C. cellulosae reaccionó frente al antígeno de C. tenuicollis; y solo un suero de cerdo parasitado con C. tenuicollis precipitó frente al antígeno heterólogo (7.1 %).

TABLA IV

Porcentaje de reacciones cruzadas en sueros de cerdo parasitados con Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis mediante las técnicas de doble inmunodifusión e inmunoelectroforesis.

## DOBLE INMUNODIFUSION

	No. de sueros	POSITIVOS			
		<u>Ag. C. cellulosae</u>		<u>Ag. C. tenuicollis</u>	
		No.	%	No.	%
<u>C. cellulosae</u>	15	*	*	2	13.3
<u>C. tenuicollis</u>	14	0	0	*	*

## INMUNOELECTROFORESIS

	No. de sueros	POSITIVOS			
		<u>Ag. C. cellulosae</u>		<u>Ag. C. tenuicollis</u>	
		No.	%	No.	%
<u>C. cellulosae</u>	15	*	*	0	0
<u>C. tenuicollis</u>	14	1	7.1	*	*

\* Reacción homóloga

## 6.- Reacciones cruzadas en sueros hiperinmunes de conejo.

Los resultados de reacción cruzada practicados en sueros hiperinmunes de conejo, fueron iguales tanto en D.I.D., como en I.E.F. (Tabla V y VI, Fig. 5 y 6). Todos los antisueros presentaron por lo menos una banda de identidad total.

TABLA V

Análisis individual de los antisueros de conejo frente a sus antígenos heterólogos en doble inmunodifusión e inmunoelectroforésis.

Suero	Ag.	No. de Sueros	No. Total de Bandas			
			1	2	3	4
C.C	C.C	1	1		1	
		2		2		
		3		1	1	
		4		1	1	
		5		2		
		6		2		
	C.T	1	1	1		
		2	1	1		
		3			2	
		4		2		
		5			2	
		6		1	1	
C.T	C.C	7		1		1
		8	2			
		9			2	
		10		2		
		11	2			
		12		2		
	C.T	7		1	1	
		8	2			
		9			2	
		10		1		
		11		2		
		12		2		

Ag. : antígeno.

C.C. : Cysticercus cellulosae.

C.T. : Cysticercus tenuicollis.

TABLA VI

Resumen del número de bandas por grupos de conejos en  
doble inmunodifusión e inmunoelectroforésis.

Suero	Ag.	No. de Sueros	No. Total de Bandas			
			1	2	3	4
C.C	C.C	6	1	8	3	
	C.T	6	2	5	5	
C.T	C.C	6	4	5	2	1
	C.T	6	2	6	4	

Ag. : antígeno.

C.C : Cysticercus cellulosae.

C.T.: Cysticercus tenuicollis.

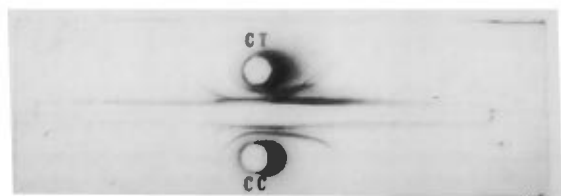


Fig. 5. Patrón immunoelectroforético de los extractos antigénicos de *Cysticercus cellulosae* (C.C) y *Cysticercus tenuicollis* (C.T) (pozos), frente a un antisuero de conejo inmunizado con *Cysticercus tenuicollis*.

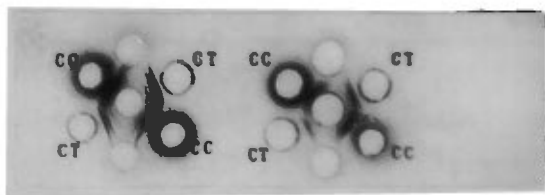


Fig. 6. Patrón de precipitación en O:O de los extractos antigénicos de *Cysticercus cellulosae* (C.C) y *Cysticercus tenuicollis* (C.T) (pozos), frente a un antisuero de conejo inmunizado con *Cysticercus tenuicollis* (C.T) (pozo central).

### Pruebas de identidad

Los resultados de las pruebas de identidad practicadas en --- D.I.D. a los antígenos extraídos de *Cysticercus tenuicollis* tanto de cerdo como de borrego frente a un antisuero homologó, se presentan en la Fig. 7, en la cual se pueden apreciar hasta 3 bandas de identidad total entre ambos antígenos.

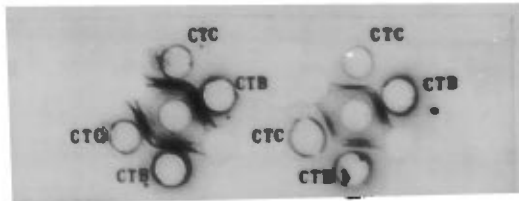


Fig. 7. Patrón de precipitación en D.I.D. de los extractos antigénicos de *Cysticercus tenuicollis* tanto de borrego (C.T.B.) como de cerdo (C.T.C.) frente a un antisuero de conejo (pozo central) inmunizado con *Cysticercus tenuicollis*.

## DISCUSION

Este trabajo se realizó con el objetivo principal de determinar reacciones antigénicas cruzadas entre Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis; así como la manera en que los anticuerpos producidos por este último interfieren con el diagnóstico serológico de la cisticercosis porcina producida por la fase larvaria de la Taenia solium.

Al hacer un análisis de los resultados obtenidos en la inspección sanitaria, observamos que se presentó una baja frecuencia de canales parasitadas con Cysticercus cellulosae (0.33 %); en comparación con datos obtenidos con anterioridad por otros autores (14, 20), los que han reportado una frecuencia hasta del 6.8 %. Este bajo porcentaje posiblemente se deba a que los actuales sistemas de producción porcina hayan mejorado en los últimos años, de manera que las explotaciones porcícolas de tipo rústico carentes de instalaciones sanitarias adecuadas y, de las que en su mayoría provenían los animales infectados, han ido desapareciendo. También debemos de considerar que los diferentes datos de frecuencia (Tabla I), pueden variar dependiendo del rastro en donde se sacrifican los animales y la zona de procedencia de estos.

Los resultados obtenidos mediante la prueba de D.I.D. con sueros de cerdo parasitados con Cysticercus cellulosae, indican que solamente 2 de 15 (13.3 %) precipitaron frente al antígeno de Cysticercus tenuicollis. Resultados similares se obtuvieron mediante la prueba inmunolectroforética, ya que de 14 sueros de cerdos parasitados con Cysticercus tenuicollis, 1 (7.1 %), dió reacción positiva frente al antígeno de Cysticercus cellulosae (Tabla IV). Estos resultados pudieran deberse a que los sueros analizados fueron probados contra antígenos extraídos de fases larvarias de cestodos, los cuales pudieran tener determinantes antigénicos en común (4), o bien porque todavía existen anticuerpos circulantes, incluso después de que ya no hay ningún parásito en el organismo (16, 24, 38); o quizá a componentes antigénicos del hospedador, principalmente gammaglobulinas, origen de falsas reacciones positivas (23, 25). Tomando como base estos resultados, podemos decir que la reacción cruzada que se presentó entre Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis no es muy notable, ya que se detectó un porcentaje que varió del 7.1 % al 13.3 %. Este porcentaje es mucho menor en comparación con la frecuencia de anticuerpos anti-Cysticercus cellulosae obtenida tanto en D.I.D., como en I.E.F.; considerando también, que no se

detectaron anticuerpos precipitantes en sueros de cerdos infectados con Cysticercus tenuicollis mediante ambas técnicas. Estos datos nos indican que la reactividad cruzada que se presentó no interfiere con el diagnóstico serológico de la -- cisticercosis porcina producida por Cysticercus cellulosae, en el que estas técnicas inmunodiagnósticas pudieran ser de gran utilidad.

Por otro lado, los resultados obtenidos al reaccionar ambos antígenos en contra de sus antisueros heterólogos de conejos, indican que se presentó reacción cruzada, ya que se observaron en todos ellos, bandas de identidad total entre ambos antígenos (Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis)(Fig. 5 y 6), lo cual pudiera deberse a la existencia de varios grupos o determinantes antigénicos comunes a ambos parásitos, ya que son filogenéticamente afines (4, 29). Las reacciones cruzadas observadas en los antisueros de conejo, fueron mas notables que las detectadas en los sueros de cerdo analizados (Tabla IV). Esta diferencia pudiera obedecer a que los conejos fueron inmunizados con antígenos solubles, de manera que los antisueros obtenidos pudieran contener anticuerpos en contra de varios componentes de la mezcla antigénica (11); mientras que en los cerdos cisticercosos con parásitos viables, la producción de anticuerpos pudiera ser estimulada solamente por antígenos liberados en la superficie de la larva o bien, -- por antígenos de secreción y excreción liberados por el parásito (4).

Los extractos antigénicos preparados por nosotros, no dieron el mismo número de bandas frente a un antisuero (Fig. 1 y 2), lo que pudiera deberse a las siguientes razones: la capacidad antigénica de varias sustancias varía de tal manera que la cantidad de anticuerpo producida no es directamente proporcional a la cantidad de antígeno inoculado (41). También se considera que la inyección de liberada de un extracto antigénico en un número de animales de la misma especie, no causa la misma respuesta inmunológica en todos ellos (10).

Mediante la prueba de D.I.D., se detectó una frecuencia de anticuerpos -- anti-Cysticercus cellulosae del 53.3 % en sueros de cerdos con infecciones masivas, mientras que la I.E.F., detectó anticuerpos en el 73.3 % del total de cerdos infectados. En base a estos datos podemos decir, que la I.E.F. mostró una mayor sensibilidad y un mejor poder discriminatorio entre animales sanos y enfermos, en comparación con la D.I.D. que se mostró menos sensible, ya que solo discriminó en la mitad de los casos. La sensibilidad de las técnicas serológicas es tá determinada por la concentración mínima de anticuerpos detectables para cada

una de estas; este valor es, para la D.I.D. de 40 ug/ml de anticuerpo, mientras que para la I.E.F. es del orden de 100 ug/ml de anticuerpo (34, 49). El hecho - de que la I.E.F. se haya mostrado mas sensible pudiera obedecer a que en ésta - técnica, además de llevarse a cabo una doble difusión, se realiza una separación electroforética previa de las fracciones antigénicas, permitiendo de ésta mane- ra, una mejor difusión de los anticuerpos en el agar (27).

Los resultados obtenidos por nosotros son contradictorios a los obteni- dos por anterioridad por Gutierrez (28), que mediante la utilización de la mis- ma técnica, obtuvo un porcentaje del 15 % de reacciones positivas en animales - masivamente infectados; por lo que podemos decir, que estos datos no apoyan la hipótesis de que cerdos masivamente infectados se encuentran inmunosuprimidos - (28, 45), considerando que los sueros que analizamos provenian de animales con infecciones masivas.

Una posible explicación de estos resultados pudiera radicar en el hecho de que los sueros analizados, provenían de animales de mayor edad a la que ge- neralmente se sacrifican para el consumo humano y, por lo tanto, la producción de anticuerpos pudiera ser mayor en estos animales. Sería interesante analizar ésta posibilidad, por lo que se sugiere un estudio posterior para determinar si animales de mas de 7 meses de edad producen una mayor cantidad de anticuer- pos o si bien, se encuentran inmunosuprimidos.

Se han observado algunas reacciones positivas en sueros de cerdos norma- les frente a ambos antígenos (Tabla III); debidas tal vez, a la presencia de - anticuerpos producidos en respuesta a un contacto antigénico anterior ya re- - suuelto (18). También podemos considerar que parasitismos ligeros o fases muy - tempranas de infección, pudieran pasar desapercibidos a la inspección sanita- - ria, contribuyendo a dar reacciones positivas aparentemente inespecificas (23, 48).

Por otro lado, no se detectaron anticuerpos precipitantes en sueros de animales infectados con Cysticercus tenuicollis (Tabla III). Esto pudiera de- berse a que el mayor porcentaje de los cerdos tienen pocos cisticercos. Pode- mos decir en general que se encuentran parasitados por un solo cisticerco. O- bviamente el número de huevos que ingieren los cerdos a través de las heces - de perro, directa o indirectamente, es muy grande (7) y, sin embargo, solo u-

no o algunos logran desarrollarse en el huésped (15). Quizás exista en el cerdo una resistencia natural, no inmunológica, pues bien se puede pensar que no es - el huésped intermediario habitual, ya que Cysticercus tenuicollis afecta principalmente al ganado ovino (15, 30 26).

La variabilidad en los resultados obtenidos entre este trabajo y los de otros autores (24, 35, 44), pudiera deberse a diferencias en la preparación de -- los antígenos, quizá en relación al tamaño, localización o etapa del desarrollo larvario del cisticerco; así como a diferencias en las concentraciones de antígeno y anticuerpo utilizadas. Es necesario pues, la normalización de las técnicas de obtención, así como las de extracción, encaminadas a la preparación de antígenos específicos para perfeccionar las técnicas de diagnóstico serológicas.

- 1.- Se detectó una frecuencia de anticuerpos anti-Cysticercus cellulosae del 53.3 % mediante la prueba de doble inmunodifusión.
- 2.- La prueba inmunolectroforética se mostró mas sensible que la -- prueba de doble inmunodifusión, obteniendose una reacción positiva en el 73.3 % del total de cerdos infectados con Cysticercus cellulosae.
- 3.- No se detectaron anticuerpos precipitantes en sueros de cerdo infectados con Cysticercus tenuicollis, tanto en doble inmunodifusión, como inmunolectroforésis.
- 4.- Se detectaron reacciones cruzadas entre Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis en un porcentaje que varió del 7.1 % al 13.3 % en inmunolectroforésis y doble inmunodifusión, respectivamente.
- 5.- Se detectaron reacciones cruzadas entre Cysticercus cellulosae y Cysticercus tenuicollis en sueros hiperinmunes de conejo, tanto en doble inmunodifusión, como en inmunolectroforésis.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abuladze, K.I., "Taeniata of Animals and Man Diseases Caused by -- Them", 1<sup>st</sup> Edition, Israel Program for Scientific Translations, Keter Press Binding, Jerusalem. pag: 411-416 (1970).
- 2.- Atempa, L.A., "Reacciones antigénicas entre 2 parásitos en ovinos: Fasciola hepatica y Cysticercus tenuicollis", Tesis profesional, -- F.H.V.Z., UNAM. México (1979).
- 3.- Biagi, F.F, y Tay, J., "A precipitation reaction for the diagnosis of cisticercosis", Am. Jour. Trop. Med. Hyg., Vol. 7(1):63-65 (1958).
- 4.- Biagi, F.F., and Williams, K., "Immunologic problems in the diagnosis of human cysticercosis", Ann. Parasit. Hum. et Comp. 49: 508-513 -- (1974).
- 5.- Biagi, F.F., Navarrete, F., Pifia, A., Santiago, A. y Tapia, L., "Estudio de tres reacciones serológicas en el diagnóstico de la cisticercosis", Rev. Med. Hosp. Gral. 25(11-12):501-508 (1961).
- 6.- Blanchart, A.E., "Cisticercosis porcina como problema de Salud Pública en la Ciudad de Texcoco, México y zonas aledañas", Tesis profesional, F.H.V.Z., UNAM. México (1974).
- 7.- Borchert, A.E., "Parasitología Veterinaria", 1a. Edición, Editorial Acriba, Zaragoza, España. pag: 162-166 (1961).
- 8.- Briceño, C.E., Biagi, F. y Martínez, B., "Cisticercosis. Observaciones sobre 97 casos de autopsia", Prensa Med. Mex. Vol. 25(5):193-197 (1961).
- 9.- Calamel, M. et Soule, C., "Choix et préparation d' un antigène pour le diagnostic de la cisticercose bovine par immunofluorescence", Rev. Med. Vet. 123: 1105-1114 (1972).
- 10.- Clausen, J., "Técnicas inmunoquímicas para la identificación y estimación de macromoléculas", Ed. El Manual Moderno, pag: 30-85 (1975).
- 11.- Cruz, J.A., "Value and Limits of Immuno-diagnostic Methods in Veterinary Helminthiasis", (1) Rev. Iber. Parasitol. Vol. 31(1-2):95-110 -- (1971).
- 12.- Davis, J.W., and Anderson, R.C., "Parasitic Diseases of Wild Mammals", 1a. Edición, Iowa State. pag: 225-229 (1971).
- 13.- Dunne, H.W., "Enfermedades del Cerdo", 1a. Edición, UTREA, México. -- pag: 565-569 (1967).

- 14.- Espinoza, G.R., "Valoración de dos pruebas serológicas para el diagnóstico de la cisticercosis porcina producida por Cysticercus tenuicollis", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1969).
- 15.- Euzéby, J., "Maladies vermineuses des animaux domestiques et leur incidences sur la Pathologie humaine", Tome II, Vigot Freres, Editeurs Parfs: 366-373 (1966).
- 16.- Fernández, A., Gómez, G. y González, C., "El uso de partículas inertes en el diagnóstico de la cisticercosis ovina. I. Prueba de la Ben-tonita", Rev. Iber. Parasitol. Vol. 29(2-3):35-43 (1969).
- 17.- Flisser, A., Bulnes, I., Díaz, M., Luna, R., Woodhouse, E., Beltrán, F., Martínez, I., Larralde, C., "Estudio seroepidemiológico de la cisticercosis humana en poblaciones predominantemente indígenas y rurales del Estado de Chiapas", Arch. Inves. Med. 7(3):107-113 (1976).
- 18.- Flisser, A., Tarrab, R., Willms, K., Larralde, C., "Imunoelectroforesis y Dobleimmunodifusión en el Diagnóstico de la Cisticercosis Humana", Arch. Inves. Med. 6: 1-12 (1975).
- 19.- Fudenberg, H.H., "Manual de Inmunología Clínica", Ed. El Manual Moderno, México. pag: 377-390 (1980).
- 20.- Garcés, C.F., "La cisticercosis porcina como problema de Salud Pública en el Municipio de Jojutla, Morelos y zonas aledañas", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1977).
- 21.- Garvey, J.S., Cremer, N.E., and Sussdorf, D.H., "Methods in Immunology", 3<sup>rd</sup> Edition, W.A. Benjamin Inc. Massachusetts. pag: 313-321 --- (1977).
- 22.- Gemmel, M., "Immunological responses of the mammalian host against tapeworm infections", Indian Vet. Journal 37(1):627 (1960).
- 23.- Gómez, G., Fernández, A. y González, C., "Empieo de partículas inertes en el diagnóstico de la cisticercosis ovina. II. Prueba del La-tex", Rev. Iber. Parasitol. Vol. 29(2-3):191-196 (1969).
- 24.- Gómez, G., Fernández, A. y González, C., "Empieo de partículas inertes en el diagnóstico de la cisticercosis ovina. III. Prueba de Hemaglutinación Indirecta", Rev. Iber. Parasitol. Vol. 30(1):57-62 (1970).
- 25.- González, J.C., "Recientes técnicas para el Serodiagnóstico de la Hidatidosis humana y animal. I. Hechos mas Destacados". Rev. Iber. Pa-

- rasitol. Vol. 28(1):77-86 (1968).
- 26.- González, M.C., "Incidencia de Cysticercus ovis y Cysticercus tenuicollis en ovinos y caprinos en el rastro municipal de la Ciudad Nezahualcoyotl", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1976).
  - 27.- Grabar, P., "El método de análisis inmunoelectroforético", Institut de Recherches Scientifiques sur le Cancer, Villejuif, Seine (Francia) pag: 3-27 (1968).
  - 28.- Gutierrez, O.R., "Determinación de anticuerpos séricos por inmunoelectroforésis en cerdos infectados con Cysticercus cellulosae", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1979).
  - 29.- Kagan, I., "Caracterización de antígenos parasitarios", Boletín de la O.P.S. pag: 13-24 (1969).
  - 30.- Lapage, G., "Parasitología Veterinaria", 1a. Edición CECSA México -- pag: 288-291 (1971).
  - 31.- Luna, V.S., "La cisticercosis porcina como principal causa de decomiso en 9 rastros del Estado de México", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1976).
  - 32.- Márquez, M.H. y Austria, B., "Cisticercosis en el Hospital General de México; estudio anatomopatológico de 155 casos", Rev. Larame. Patol. 8:79 (1969).
  - 33.- Martínez, R.G., "Contribución al estudio de la incidencia de la cisticercosis en cerdos sacrificados en el rastro Municipal de Celaya, Guanajuato, del mes de Junio de 1972 al mes de Abril de 1973. Su importancia económica en la industria de la porcicultura y bases para su control", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1974).
  - 34.- Marrack, J.K., "Sensitivity and specificity of methods of detecting antibodies", Brit. Med. Bull. Vol. 19(3):178-182 (1963).
  - 35.- Mata, B.J., "Preparación y evaluación de la prueba de intradérmica---reacción para el diagnóstico de la cisticercosis en cerdos", Tesis profesional, U.A.G., F.M.V.Z. (1974).
  - 35.- Monroy, M.J., "Valoración económica de la cisticercosis porcina en el rastro ABC del Estado de México", Tesis profesional, F.M.V.Z., -- UNAM. México (1970).
  - 37.- Morenas, L., "Consideraciones sue le diagnostic biologique de la cisticercosis cerebral", Lyon Medical 151: 636-637 (1933).

- 38.- Nemesery, L. y Holló, F., "Diagnóstico Parasitológico Veterinario", 1a. Edición, Editorial Acriba. Zaragoza, España. Pag: 80-81 (1961)
- 39.- Olivares, C.E., "Contribución al estudio de la incidencia de Cysticercus cellulosae en San Luis Potosí", Tesis profesinal, F.M.V.Z., UNAM. México (1967).
- 40.- Peña, F.O., "Incidencia de Cysticercus cellulosae en cerdos de engorda en la Piedad, Michoacán", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1976).
- 41.- Peetoon, F., "The agar precipitation technique and it's aplication as a diagnostic and analitic methods", Academic Press. pag: 1-27 - (1963).
- 42.- Reséndiz, N.G., "Cuantificación de las pérdidas económicas por decomiso de carne de cerdo cisticercoso en el rastro de Ferrerfa", - Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1964).
- 43.- Rodríguez, L.E., "Cisticercosis en Líquido Cefalorraquídeo", Rev. Bioquímica. Vol. 1(2):62-65 (1969).
- 44.- Rodríguez, E.R., "Estudio de dos reacciones serológicas para el -- diagnóstico de la cisticercosis porcina producida por el Cysticercus cellulosae", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1969).
- 45.- Romero, C.E., "Frecuencia de anticuerpos séricos anti-Cysticercus cellulosae en cerdos sacrificados en el rastro Municipal de Ecatepec", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1980).
- 46.- Soulsby, E.J.L., "Text Book of Veterinary Clinical Parasitology", 1<sup>st</sup> Edition. Vol. Helminths. Blackwell Scientific Publications, - Oxford. pag: 270-274, 612-613 (1965).
- 47.- Soulsby, E.J.L., "Immunity to animal parasites". Academic Press, New York and London, pag: 236-262 (1972).
- 48.- Tamariz, M.A., "Exploración de la frecuencia de parásitos en el hígado de los cerdos en el rastro de Ferrerfa", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1968).
- 49.- Thomas, J.G., "Methods for detecting antibody", Immunochemistry, - Pergamon Press, Vol. 7: 997-1000 (1970).
- 50.- Vergara, D.J., "Selectividad tisular del Cysticercus cellulosae en cerdos", Tesis profesional, F.M.V.Z., UNAM. México (1970).

- 51.- Willms, K. and Merchant, M.T., "The inflammatory reaction surrounding Taenia solium larvae in pig muscle: ultrastructural and light microscopic observations. Parasite immunology. (en prensa) (1980).
- 52.- Zenteno, H., Biagi, F., "Observaciones sobre cisticercosis humana", - Rev. Fac. Med. Vol. III(4):617-632 (1961).