



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
" I Z T A C A L A "

**DIFERENCIACION CELULAR EN FROTIS SANGUINEO
DE HAMSTER DORADO INFECTADO CON *Taenia*
solium Y DETECCION DE ANTICUERPOS POR
CONTRAINMUNOELECTROFORESIS**

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 :

BERTHA MARGARITA TENORIO FUENTES



MEXICO, D. F.

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DIFERENCIACION CELULAR EN PROTIS SANGUINEO DE HAMSTER
DORADO INFECTADO CON Taenia solium Y DETECCION DE AN-
TICUERPOS POR CONTRAINMUNOELECTROFORESIS

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Immunobiología de los Parásitos del Departamento de Immunología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, bajo la Dirección de la Q.B.P. Teresa de Jesús Monroy Ostria.

Agradecimientos:

A MIS PADRES

Manuel Tenorio Calzadilla

Margarita Fuentes Dominguez

quienes me dieron la vida
y me han apoyado siempre.
Por sus sabios consejos y
su buen ejemplo.

A MI HERMANO

Vicente

A MIS HIJOS

Gabriel, Héctor Alberto y
a la memoria de
José Manuel

A todos mis familiares
y amigos que de alguna
forma contribuyeron pa
ra la realización de -
este trabajo.

A MI ASESORA

Q.B.P. Teresa de Jesús Monroy Ostría

Por su valiosa ayuda

A MIS SINODALES

Biol. Ma. de los Angeles Sanabria E.

Biol. Jesús Montoya Mendoza

M. en C. Rafael Jiménez Flores

Biol. José Efraín Garrido Guerrero

Por las sugerencias y correcciones realizadas
para la mejor presentación de este trabajo.

Por sus consejos y aportaciones

Doctora Amalia Monroy Ostría

Q.B.P. Rosalba Galicia Haro

A MI ESPOSO

Héctor Joaquín

Te agradezco la

Entrega, dedicación y

Apoyo

Mi compañero amado

Oasis de mi vida

a DIOS

C O N T E N I D O

	Página
INTRODUCCION-----	1
ANTECEDENTES-----	10
OBJETIVOS-----	17
MATERIAL Y METODOS-----	18
RESULTADOS-----	34
ANALISIS DE RESULTADOS-----	58
DISCUSION-----	71
CONCLUSIONES-----	81
RESUMEN-----	83
BIBLIOGRAFIA-----	84

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

Taenia solium es uno de los céstodos más importantes a nivel de salud pública, ya que es un endoparásito capaz de generar dos formas de enfermedad y estas dependen de la fase del ciclo biológico en que el parásito infecte al huésped. La forma adulta conocida popularmente como solitaria al igual que Taenia saginata, causa teniasis y la forma larvaria causa cisticercosis (6, 8, 17, 35).

El hombre es el único huésped definitivo de T. solium y el cerdo constituye la fuente exclusiva de la infección humana. No obstante, el hombre, algunos primates y menos frecuentemente las ovejas, perros, jabalíes y osos, también pueden albergar al cisticerco, convirtiéndose al igual que el cerdo en huéspedes intermediarios (1, 7, 23, 37).

La teniasis producida por T. solium es una parasitosis intestinal del ser humano. Las manifestaciones clínicas son variables en el hombre que padece esta enfermedad, sin embargo a veces es asintomática. En algunas ocasiones se pueden presentar molestias abdominales, hambre dolorosa, indigestión crónica, diarrea persistente alternada con estreñimiento, aumento o

disminución del apetito, cefalea, mareo y pérdida de peso. En algunos pacientes la teniasis causa insomnio y trastornos nerviosos de origen tóxico. Hacia el final de la etapa de incubación del parásito se produce leucocitosis y puede presentarse eosinofilia moderada (1, 23); se han reportado algunos casos de peritonitis con perforación intestinal. Generalmente esta parasitosis no es fatal, pero representa un gran riesgo porque el individuo parasitado con T. solium adulta es el principal responsable de la transmisión de la cisticercosis y teniasis, por ser este el centro de dispersión de huevecillos que contaminan el ambiente (1, 7, 8, 43).

Las formas de transmisión de la cisticercosis son: cuando el hombre practica el fecalismo al aire libre, por el uso de aguas negras para el riego de sembradíos o bien cuando fertiliza en forma directa el suelo cultivable con heces humanas (1, 11, 23, 43).

La cisticercosis se adquiere al ingerir huevecillos de T. solium que después eclosionan en el intestino, se incorporan al sistema circulatorio y se distribuyen a sitios extraentéricos donde se desarrollan hasta cisticercos, tanto en el hombre como en otros huéspedes intermediarios (1, 7, 23).

La sintomatología de la cisticercosis humana es variable, dependiendo de la localización de los cisticercos. Se puede -- presentar cefalea, convulsiones, epilepsia, hipertensión endocraneal y meningitis. La parasitosis también puede ser asintomática principalmente cuando se afecta a músculo esquelético - (1, 7, 13, 23).

La frecuencia de la teniasis y de la cisticercosis se ha reducido considerablemente en algunos países, debido a la inspección minuciosa de los cerdos por parte de las autoridades sanitarias que controlan los rastros, al tratamiento teniasico aplicado masivamente a la población, por ejemplo en la U R S S (1) y a la adopción de hábitos higiénicos por la población humana. Sin embargo en algunos países de América Latina y en México este tipo de parasitosis es muy frecuente. En nuestro -- país la prevalencia de la cisticercosis humana, según algunos autores, varía del 0.1% al 12%; las prevalencias de teniasis - que se han reportado van de 0.3% al 6% y la cisticercosis porcina alcanza hasta un 25%.

La frecuencia de estas enfermedades se debe al deficiente control sanitario por parte de algunos rastros, sobre todo en las zonas rurales, a la matanza y venta clandestina de carne -

de cerdo cisticercoso y a los malos hábitos higiénicos y alimenticios de la población (8, 17, 18, 23).

En la teniasis poco se sabe de la relación huésped-parásito (hombre-tenia), ya que la mayoría de los estudios están enfocados a la cisticercosis, por ser esta la que más afecta al ser humano. Sin embargo es necesario combatir a la teniasis para así poder erradicar también a la cisticercosis, tanto humana como porcina, ya que esta parasitosis es difícil de curar. Es la más costosa a nivel de tratamiento del enfermo cisticercoso y es también la causa de grandes pérdidas económicas debido al decomiso y destrucción de la carne de cerdo parasitada - en los rastros (6, 8, 18).

Para comprender mejor la relación huésped-parásito es necesario conocer la clasificación de T. solium, su morfología, habitat y ciclo de vida.

Clasificación del parásito:

Reino:	Metazoa
Phylum:	Platyhelminthes
Clase:	Cestoidea
Subclase:	Cestoda
Orden:	Cyclophyllidea
Familia:	Taeniidae
Género y	<u>Taenia solium</u> (tenia adulta del hombre)
Especie:	<u>Cysticercus cellulosae</u> (larva de <u>T. solium</u>)

Las especies del género Taenia fueron los primeros endoparásitos conocidos por el hombre. Son gusanos metazoarios en forma de cinta, aplanados dorsoventralmente, con simetría bilateral, sin cavidad celómica y sus órganos internos se encuentran entre el tejido conectivo parenquimatoso. La mayoría son hermafroditas y con el cuerpo segmentado, carecen de aparato digestivo, son excepcionalmente largos (0.8-15 m) y se les clasifica en la clase Cestoidea (8, 23, 26).

T. solium es un cestodo armado, ya que posee en el escólex insertados a la altura del róstelo una doble corona de ganchos chicos y grandes, en número de 22 a 32 que miden de 110 a 140 micras y de 160 a 180 micras respectivamente, además presenta 4 ventosas en forma de copa. El escólex mide 1 mm de diámetro y todo el parásito completo mide de 1.5 a 5 m de longitud aunque a veces puede alcanzar los 8 m (8, 11, 17, 26).

El escólex o cabeza se adelgaza en su parte inferior para formar un cuello, a partir del cual se produce la estrobilación que se considera como la producción de proglótidos maduros, inmaduros y grávidos que en número de 800 a 1000 forman la cadena estrobilar. Los proglótidos grávidos miden de 7 a 12 milímetros de largo por 5 a 6 milímetros de ancho.

En los proglótidos grávidos se distinguen ramas uterinas primarias relativamente escasas. Habitualmente los poros uterinos son alternos a lo largo de la cadena estrobilar. Los huevos que se encuentran en las ramas uterinas de los proglótidos grávidos, miden de 30 a 40 micras de diámetro, son de paredes gruesas y radiadas que encierran en su interior al embrión -- hexacanto u encósfera, que es la forma infectante para el cerdo o para el hombre. Morfológicamente son indiferenciables de los de T. saginata (5, 8, 23).

T. solium es un parásito heteroxeno (requiere de 2 huéspedes para llevar su ciclo de vida) y estenoxeno (el número de especies que parasita es muy reducido), que habita únicamente en las porciones iniciales del intestino delgado, adherido a la mucosa mediante el róstelo con sus ganchos y ventosas; su cuerpo está doblado varias veces sobre el eje longitudinal. Por lo común hay un solo parásito en cada huésped a lo que se debe el nombre vulgar de solitaria, que se le ha dado a esta especie; pero en algunos casos se han encontrado varios, en un solo individuo. Parece que la presencia de este platelminto en el intestino de una persona determina en esta un estado de inmunidad parcial que impide el establecimiento simultáneo de otro parásito de la misma especie en un huésped ya parasitado (1, 11, 17, 23).

El parásito ya adherido al intestino crece y alcanza la madurez sexual, produciendo proglótidos maduros que se consideran como unidades reproductoras independientes, debido a que poseen órganos genitales masculinos y femeninos. Los proglótidos grávidos se encuentran repletos de huevecillos (cerca de 50 000); estos proglótidos se desprenden por apólisis eliminándose al exterior junto con la materia fecal del huésped. Los huevecillos son liberados gracias a la putrefacción de los proglótidos, incorporándose al medio ambiente en donde terminan de madurar, permaneciendo viables e infectantes en el suelo, aguas negras, ríos o pasturas, por semanas o meses; esta es la fase infectante para el huésped intermediario (1, 8, 20, 26).

El mecanismo de transmisión de la cisticercosis se puede llevar a cabo por autoinfección (ano-mano-boca o por peristaltismo inverso) en el hombre que padece teniasis, o bien por heteroinfección (adquiriéndose por ingerir alimentos contaminados con huevecillos). Los huevecillos son activados en el tubo digestivo por medio de las enzimas proteolíticas y las sales biliares. Una vez liberada la oncósfera en el duodeno penetra a la pared intestinal del huésped, hasta alcanzar capilares linfáticos y sanguíneos que los distribuyen a diferentes tejidos y órganos; ya en ellos el embrión requiere por lo menos de

10 semanas para convertirse en un cisticerco, el cual llega a sobrevivir por varios años en el huésped intermediario (7, 8, 35, 46).

Cysticercus cellulosae representa la fase larvaria de T. solium; es de tipo vesiculoso, oval o casi esférico, de color blanco lechoso, con una pequeña cabeza invaginada en un lado dentro de la vesícula. Estos "granillos", "tlalzahuates" e gusanos vesiculosos de la carne del cerdo, miden aproximadamente 5 mm de ancho por 8 a 10 mm de largo (15, 17, 23).

El ciclo se cierra cuando el ser humano ingiere carne de cerdo cruda o mal cocida, nuevamente las enzimas gástricas e intestinales así como las biliares activan al cisticerco para que se fije a la pared intestinal por medio de sus ventosas y ganchos, desarrollándose hasta convertirse en una tenia productora de proglótidos grávidos que vuelven a iniciar el ciclo (8, 17, 43, 49).

Este ciclo de vida es enteramente dependiente del vínculo entre el hombre y el cerdo, tanto que cualquier rompimiento en su relación originaría la total eliminación del parásito.

No hay otras zoonosis donde la interrelación hombre-animal sea obligatoria para la supervivencia del agente infeccioso; -- por esta razón dicha zoonosis se ha dado algunas veces como estatus especial o euzoonosis (7, 26).

A N T E C E D E N T E S

Los estudios que se han realizado sobre la teniasis causada por T. solium son muy escasos debido a que es poco conocida la relación entre el hombre y la tenia, quizás porque es muy difícil detectar a las personas que la presentan ya que los métodos coproparasitológicos que generalmente se realizan son poco confiables y no siempre distinguen a T. solium de T. saginata. Además que son muy pocas las personas que llegan a observar proglótidos en sus heces y acuden al médico o algún servicio de salud.

En cuanto a los estudios inmunológicos, la mayoría están enfocados a la cisticercosis por ser esta la que más afecta al ser humano a nivel de salud pública y a nivel económico. Entre las investigaciones que se han realizado recientemente están:

- a) Detección de antígenos solubles de Cysticercus cellulosae - (50).
- b) Detección de productos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) sobre la superficie del cisticerco (23).
- c) Presencia de anticuerpos (Ab) anticisticerco que es la base del Inmunodiagnóstico (ELISA, Fijación de Complemento, --- Inmunofluorescencia) (2).

- d) Así como también determinaron la composición de la membrana del cisticerco, encontrando que está formado por un rico gli cecalix el cual tiene gran importancia en la relación hués-
ped-parásito (23).
- e) También separaron antígenos (Ag) por Inmunolectroforesis -
(IEF) y describieron la presencia de Porfirinas en el cisti-
cerco, las cuales son capaces de activar la vía clásica o al-
terna del complemento; y además se les atribuye la fluores-
cencia que presentan estos parásitos al hacer incidir luz -
ultravioleta sobre ellos lo cual pudiera ser importante en -
el inmunodiagnóstico (23).
- f) Se indujo inmunidad en cerdos contra cisticercos de T. so-
lium, usando un extracto inmunogénico obtenido de su forma -
larval. Los resultados mostraron que los antígenos larvales
fueron capaces de inducir una respuesta inmune, en la cual -
los eosinófilos fueron las células efecteras en degenerar y
destruir los cisticercos (39).

En cuanto a los estudios realizados en metacestodos de te-
nia, se han hecho extractos del cisticerco para crear una vacu-
na contra la infección de T. solium que proteja a los cerdos de
la cisticercosis, se ha hecho también lo mismo pero con pregló-
tidos de T. saginata para inmunizar a las reses. Se ha pensado

también en producir una vacuna más efectiva en la que se combi-
nen extractos de T. solium, T. saginata, T. ovis, T. hydatigena;
pero no se ha comprobado si esta pudiera proteger a los huéspedes
(27).

Por otro lado se han estudiado las proteínas específicamen-
te asociadas a la superficie de T. solium, T. saginata y T. cra-
ssiceps; fueron analizadas por una combinación de su superficie
y por inmunofluorescencia cromatográfica (2).

También se han hecho pruebas cruzadas con antígenos de on-
cósfera de tenia de diferentes especies, por técnicas de biolo-
gía molecular con el fin de proteger al hombre, cerdo, vaca y -
la oveja contra T. solium, T. saginata y T. ovis (42).

Se han realizado estudios experimentales en diferentes ani-
males tales como: el gibbon (Hylobatus lar), el chacma baboen -
(Papio ursinus) y hamster derado (Mesocricetus auratus). Estos
han sido infectados con la larva de T. solium y se ha visto que
la tenia se desarrolla, pero no llega a ser sexualmente madura
(9, 26, 52).

Recientemente se estableció un modelo experimental de hams

ter dorado-T. solium para el estudio cinético de la relación huésped-parásito; en donde se evaluaron algunos parámetros de cinética de la infección tales como: implantación, respuesta humoral, respuesta celular e histología de la reacción inflamatoria local; encontrándose en esta última un aumento de leucocitos en el lugar de implantación de la tenia (23, 40).

También se realizó un estudio serológico de la teniasis en hamster, para lo cual se emplearon las técnicas de ELISA e Inmunofluorescencia indirecta, las cuales detectan anticuerpos (Ab) contra la larva y el adulto; gracias a ellas se puede realizar un diagnóstico temprano y certero de la teniasis en hamster (44).

Utilizando la técnica de ELISA se pueden detectar coproantígenos de T. solium en heces de hamster infectado; esto prueba ser importante para el diagnóstico de teniasis-cisticercosis en personas portadoras de T. solium (3).

Algunos experimentos realizados con las canales de cerdo - en donde estas fueron irradiadas con 400 y 500 Rads de cobalto, muestran que estas dosis son suficientes para destruir a los cisticercos (1).

Se llevaron a cabo estudios con ratones infectados oralmente con Hymenolepis diminuta, y estos demuestran que la radiación gamma con 35 K/Rads aplicada al parásito antes de la infección, suprime completamente al estróbilo afectando así la capacidad del mismo para establecerse en el intestino del huésped - (2).

Se realizaron ensayos de protección en hamster dorado a T. solium. Estos sugieren que un contacto previo con antígeno de tenia (Ag T), antígeno de cisticerco (Ag C) y cisticercos irradiados (Cir), independientemente de la vía de inoculación, disminuye el porcentaje de implantación (41).

La mayoría de las investigaciones realizadas ultimamente están encaminadas al estudio de la epidemiología, prevalencia, factores de riesgo, control y tratamiento de la teniasis-cisticercosis; para ello se han analizado algunas comunidades rurales de los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos, Estado de México, Sinaloa y D. F. en la delegación de Xochimilco (16, 29, 30, 31, 32).

Estas investigaciones coinciden en que el ser humano es la principal fuente de transmisión de la teniasis-cisticercosis, -

debido a que:

- a) Es el huésped definitivo de T. solium.
- b) Sus hábitos higiénicos son deficientes, prevalece la práctica del fecalismo al aire libre.
- c) La crianza de los cerdos es inadecuada y antihigiénica, se les alimenta con desperdicios, basura y excremento.
- d) La matanza casera, la venta clandestina de carne de cerdo parasitada y el consumo de ésta, representa la vía principal de infección para el ser humano.
- e) El desconocimiento de la forma de transmisión de la teniasis cisticercosis por parte de la población, favorece la prevalencia de estas enfermedades.

En cuanto al tratamiento para la teniasis-cisticercosis se han probado diferentes drogas helminticidas como son: el praziquantel, mebendazol, albendazol, niclosamida y tiabendazol. Las cuales pueden actuar sobre tenia adulta provocando su expulsión o bien en el cisticerco causando una inhibición muy marcada en la evaginación y una parálisis de los cisticercos ya evaginados (21, 50).

También se han hecho estudios probando fracciones de cisticerco de T. solium, y se ha demostrado que tienen dos activida-

des, una represora (disminuye la respuesta inmune) y otra estimulativa (incrementa la respuesta inmune) para el sistema inmune. Estos atributos versátiles de la fracción del cisticerco - pueden ocurrir durante la fase larval de T. solium in vivo y de este modo modular los mecanismos de respuesta inmune del huésped a modo de que el parásito pueda sobrevivir un largo tiempo en su huésped (37).

Finalmente se pretende ahondar más en la relación huésped-parásito a través de diferentes estudios para que en un futuro se conozca más esta relación y de alguna manera se interrumpa - el ciclo biológico del parásito, logrando así erradicar la teniasis-cisticercosis.

O B J E T I V O S

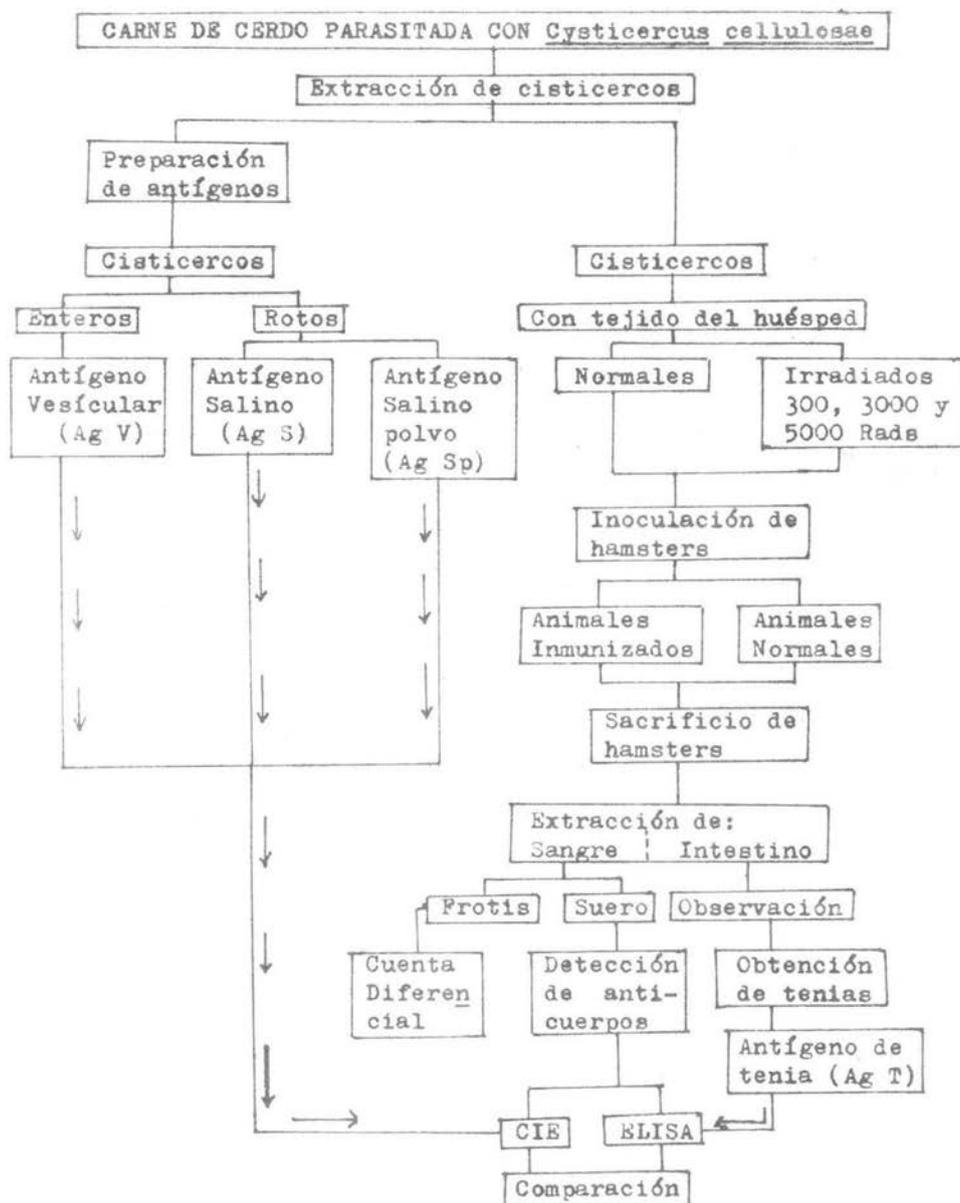
- 1) Observar el efecto de la infección con Taenia solium sobre la densidad poblacional celular en sangre de hamster dorado.
- 2) Detectar la respuesta humoral (Ab) a infección con Taenia solium (vía subcutánea y oral) en suero de hamster por la técnica de Contraelectroforesis (CIE).
- 3) Comparar los resultados de CIE con los proporcionados de la técnica de Inmunoensayo enzimático (ELISA).

OBJETIVO:

Detectar coproantígenos de Taenia solium en heces de hamster infectado, para el diagnóstico de teniasis - cisticercosis en roedores por métodos de IgG por ELISA mediante la técnica - 17 - de ELISA.

MATERIAL Y METODOS

(Esquema general de trabajo)



MATERIAL Y METODOS

OBTENCION DE CYSTICERCUS CELLULOSAE

Para este trabajo se solicitaron algunas piernas de cerdo cisticercoso al Rastro de Ferrería de la ciudad de México. Posteriormente por medio de la disección se extrajeron los cisticercos y se trabajaron de la siguiente manera:

- a) Los cisticercos con su membrana completa y libres de tejido del huésped, sirvieron para la elaboración del antígeno vesicular (Ag V).
- b) Los cisticercos con su membrana rota y libre de tejido del huésped, se utilizaron para la preparación de los antígenos salino (Ag S) y salino en polvo (Ag Sp).
- c) Los cisticercos con membrana completa y con restos de tejido del huésped, sirvieron para infectar por vía oral a los hamsters y las tenias que se desarrollaron en el intestino, fueron utilizadas para la preparación del antígeno de tenia -- (Ag T).

PREPARACION DE ANTIGENOS DE CISTICERCO Y TENIA

- A) Antígeno Vesicular (Ag V): los cisticercos con membrana completa y sin tejido del huésped, se lavaron varias veces con

solución salina al 0.85% (S.S.) para eliminar la grasa, ya limpios se pasaron de uno en uno a solución salina boratos (S.B.) lavandose nuevamente, posteriormente se eliminó esta solución por medio de la decantación. En condiciones asépticas, con agitación constante y en frío se extrajo el líquido vesicular, después se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos en centrífuga Universal. Al sobrenadante se le determinó la concentración de proteínas por el método de Lowry y se guardó en alícuotas a -20°C hasta su uso.

B) Antígeno Salino (Ag S): los cisticercos con la membrana rota y sin tejido del huésped, se lavaron varias veces con solución salina al 0.85% (S.S.) hasta que salió clara, se desechó decantandola y después fué sustituida con solución salina boratos (S.B.) efectuandose el mismo procedimiento. Los cisticercos frescos se molieron en un mortero hasta obtener una suspensión homogénea, se pasaron a un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se agitaron constantemente durante 30 minutos en una base magnética y en baño de hielo, posteriormente se centrifugó a 5000 rpm por 30 minutos en centrífuga Universal. Al sobrenadante se le determinó la concentración de proteínas por el método de Lowry y se guardó en alícuotas a -20°C hasta su uso.

C) Antígeno Salino en polvo (Ag Sp): los cisticercos con membrana rota y sin tejido del huésped, se lavaron varias veces con solución salina al 0.85% (S.S.) hasta que salió clara y se desechó decantandola. Con el fin de desengrasarlos, se lavaron varias veces con acetona hasta que salió clara. Se colocaron en una caja Petri con acetona a temperatura ambiente y ahí permanecieron hasta que se secaron; una vez ya secos se molieron en un mortero hasta obtener un polvo fino. Los lotes de polvo se mezclaron para obtener un lote homogéneo. A una porción de polvo de cisticerco se le agregó solución de boratos en un mortero y se mezclaron hasta formar una suspensión, la cual se pasó a un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se agitó constantemente durante 30 minutos en una base magnética y en baño de hielo, posteriormente se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos en centrífuga Universal. Al sobrenadante se le determinó la concentración de proteínas por el método de Lowry y se guardó en alícuotas a -20°C hasta su uso.

D) Antígeno de Fenia (Ag F): los cisticercos con membrana completa y con tejido muscular del huésped, se les dieron a ingerir a hamsters dorados (Mesocricetus auratus) sanos, a los cuales se les orivó de agua y alimento 24 hs antes de la in-

gestion. Después fueron sacrificados a diferentes tiempos y se les hizo la disección para extraer el intestino, el cual fué lavado varias veces con solución salina al 0.85% (S.S.) para obtener de él las tenias que se desarrollaron. Las tenias se lavaron también con solución salina para eliminar los restos del contenido intestinal del huésped, posteriormente fueron lavadas con solución de boratos hasta que estuvieron bien limpias. A las tenias obtenidas se les dejó una poca de solución de boratos y luego fueron molidas en un mortero hasta tener una suspensión homogénea, se pasó a un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se agitó constantemente por 30 minutos en una base magnética y en baño de hielo, después se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos en centrífuga Universal. Al sobrenadante se le determinó la concentración de proteínas por el método de Lowry y se guardó en alícuotas a -20°C hasta su uso.

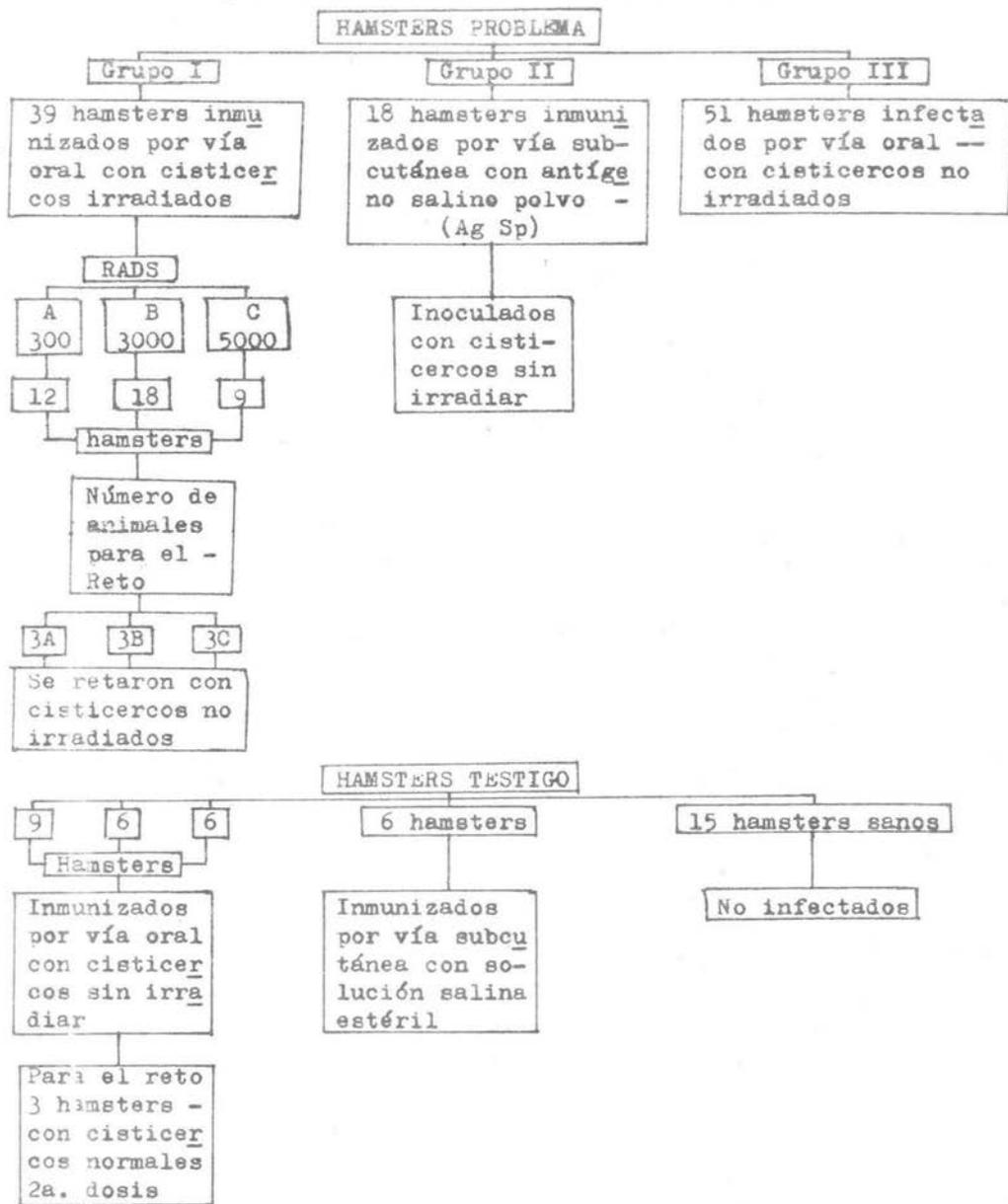
5. INYECCION E INMUNIZACION DE HAMSTER DORADO

140 } Para este trabajo se utilizaron hamsters dorados (Mesocricetus auratus) proporcionados por el bioterio de Ciencias Biológicas del IPN y por el Instituto de Higiéne de la SSA, a los cuales se les brindaron los siguientes cuidados previos a la in

fección.

- 1) Desparasitación con Piperacina por vía oral directa, adminis
trandoles 1 ml/kg de peso a cada hamster.
- 2) Antes, durante y después del tratamiento antiparasitario, a
cada animal se le hicieron estudios coproparasitoscópicos di
rectos para comprobar que no estuvieran parasitados.
- 3) A cada animal se le bañó con una solución antipulgas para --
eliminar a estos ectoparásitos.
- 4) Se les mantuvo en jaulas, las cuales tenían una cama con ase
rrín estéril.
- 5) Su alimentación fué a base de purina y zanahorias desinfecta
das.
- 6) El agua que bebieron se hirvió durante 20 minutos y se colo-
có en botellas limpias enjuagadas con agua hervida.
- 7) Continuamente se les mantuvo en observación.
- 8) Después de 30 días se sacrificaron algunos hamsters normales
al azar y se observó su contenido intestinal, no encontrando
se ningún helminto.
- 9) Una vez que se tuvo la certeza de que estos animales estaban
sanos, se procedió a separarlos por lotes, para seguir el es
quema de inmunización e infección.

ESQUEMA DE INMUNIZACION



INMUNIZACION DE HAMSTERS POR VIA ORAL (GRUPO I)

Porque se requería que el cisticerco bajara su metabolismo y solo se mantuviera viable por un tiempo dentro del huésped para despertar una respuesta inmune, se procedió a irradiar a los cisticercos con 300, 3000 y 5000 Rads de cobalto. Realizandose la siguiente secuencia:

Lote A, se tomaron 12 hamsters a los cuales se les dieron a ingerir por vía oral 10 cisticercos a cada uno, los que fueron previamente irradiados con 300 Rads. Y a 9 hamsters se les dió por la misma vía 10 cisticercos no irradiados a cada uno, - utilizandose estos como testigos.

Después de la primera, cuarta, séptima y décimo cuarta semana se fueron sacrificando tanto animales problema como animales testigo. De cada hamster se extrajo la sangre y el intestino en el cual se observó si hubo implantación de tenias, alteraciones del mismo a simple vista, así como la presencia de algún otro parásito. Realizandose el mismo procedimiento en los lotes subsecuentes.

Lote B, se tomaron 18 hamsters a los cuales se les dieron a ingerir por vía oral 10 cisticercos a cada uno, los que fue--

ron previamente irradiados con 3000 Rads. Y se utilizaron 6 -- hamsters como testigos, dandoles por la misma vía 10 cisticercos no irradiados a cada uno.

Después de la primera, segunda, cuarta, sexta, octava y décima semana se fueron sacrificando.

Lote C, se utilizaron 9 hamsters a los que se les dió por la misma vía que los anteriores 10 cisticercos a cada uno, irradiados con 5000 Rads. Y se trabajaron 6 hamsters como testigos, los cuales recibieron cada uno 10 cisticercos sin irradiar.

Después de la primera, cuarta y octava semana se fueron sacrificando.

Terminada la inmunización oral con cisticercos irradiados se procedió a retar con cisticercos no irradiados, utilizandose para ello un grupo de 9 hamsters procedentes de los lotes A, B y C, 3 de cada uno.

Del lote A se tomaron 3 hamsters, los cuales fueron reta--dos con 10 cisticercos no irradiados cada uno trece semanas después de la inmunización oral. El sacrificio se realizó dos semanas después del reto.

Del lote B se utilizaron 3 hamsters, que fueron retados - con 10 cisticercos no irradiados cada uno, a las 8 semanas después de la inmunización y sacrificados 2 semanas después del reto.

Del lote C se utilizaron 3 hamsters, los cuales fueron retados con 10 cisticercos no irradiados, a las 10 semanas después de la inmunización oral. Se sacrificaron 2 semanas después del reto.

Por último, se tomaron 3 hamsters sanos los cuales recibieron 10 cisticercos no irradiados cada uno. 10 semanas después de la inmunización oral se les dió una segunda dosis de 10 cisticercos sin irradiar; estos animales sirvieron como testigos. Se sacrificaron 2 semanas después del reto.

INMUNIZACION DE HAMSTERS POR VIA SUBCUTANEA (GRUPO II)

Se inmunizó a un lote de 18 hamsters con antígeno salino - polvo (Ag Sp) y a otro lote de 6 hamsters con solución salina - estéril, mediante el siguiente esquema:

Primera inmunización, se preparó una mezcla de 1 mg de an-

tígeno en 0.5 ml de solución salina más 0.5 ml de Adyuvante Completo de Freud (ACF) Difco; se administró por vía subcutánea a los animales problema.

Segunda inmunización, se realizó una semana después de la primera inmunización con una mezcla de 1 mg de antígeno en 0.5 ml de solución salina más 0.5 ml de Adyuvante Incompleto de Freud (AIF) Difco; se administró por vía subcutánea a los animales problema.

Tercera inmunización, se realizó dos semanas después de la primera inmunización, se procedió a inmunizar diariamente durante 5 días con una mezcla de antígeno en 0.5 ml de solución salina, de acuerdo a la siguiente tabla:

Inmunización de hamsters con Ag Sp

DIA	(mg/0.5 ml S.S.)
1	1
2	2
3	3
4	4
5	<u>5</u>
TOTAL	15

El total de mg administrados a cada hamster durante todo - el período de inmunización, fué de 17 mg de antígeno salino polvo (Ag Sp).

Una vez terminada la inmunización, se procedió a retarlos con 10 cisticercos per hamster, a los 21 días. Se fueron sacrificando a la primera, tercera, cuarta, quinta, sexta y octava - semana.

El lote de hamsters testigo fué inmunizado la primera semana con 0.5 ml de solución salina estéril más 0.5 ml de Adyuvante Completo de Freud (ACF) Difco.

Una semana después recibió 0.5 ml de solución salina estéril más 0.5 ml de Adyuvante Incompleto de Freud (AIF) Difco.

Dos semanas después, los hamsters recibieron diariamente - por espacio de 5 días consecutivos 0.5 ml de solución salina estéril. El total de ml de solución salina estéril fué de 3.5 ml administrados por vía subcutánea.

Una vez terminada la inmunización, se procedió a retarlos con 10 cisticercos por hamster, a los 21 días. Se fueron sacri-

ficando a la primera y a la sexta semana.

CINETICA DE HAMSTERS INFECTADOS POR VIA ORAL (GRUPO III)

Con el fin de establecer el porcentaje de implantación de tenias en hamster, se infectaron 51 hamsters, cada uno con 10 - cisticercos con tejido muscular del huésped. Y se manejó un lote de 15 animales sanos como testigo.

A partir de la segunda semana y hasta la décimo séptima, - se fueron sacrificando los hamsters en grupos de tres. De cada grupo se registró el número y tamaño de las tenias, se obtuvo - el porcentaje de implantación y el tamaño de las tenias se re-- gistró por rango en centímetros.

OBTENCION DE SANGRE Y SUERO DE HAMSTER

Los hamsters fueron sangrados por punción cardíaca extra-- yendoles toda la sangre, unas gotas de ella fueron utilizadas - para la elaboración de frotis y el resto fué centrifugada a -- 3000 rpm durante 10 minutos en centrífuga Universal, para la ob-- tención del suero. El suero fué empleado en las técnicas de -- Contrainmunolectroforesis (CIE) e Inmunoensayo enzimático --

(ELISA), de esta última me proporcionaron los resultados (2).

ELABORACION DE FROTIS

Para los frotis se colocó una gota de sangre de 2 a 3 mm - de diámetro, no coagulada, sobre el portaobjeto limpio y desengrasado, con el canto de otro portaobjeto de borde liso y regular en forma rápida se extendió la sangre en ángulo de 30° , procurando que la preparación quedara homogénea.

Cada frotis fué secado a temperatura ambiente y luego fijado con metanol absoluto durante un minuto; se escurrió y nuevamente se dejó secar.

Para la tinción se puso cada frotis con la película de sangre hacia arriba, sobre una gradilla de tinción colocada en posición horizontal. La extensión fué cubierta con colorante --wright-Giemsa sin diluir, dejandose actuar por 7 minutos, después se adicionó solución amortiguadora de fosfatos pH 6.5 durante 15 minutos; entonces se procedió a lavar con agua corriente en la misma posición hasta eliminar el exceso de colorante. Se dejó escurrir y secar al ambiente.

Cada frotis fué leído al microscopio con objetivo de 40 X y 100 X para sacar la cuenta diferencial. De cada animal se hicieron 5 preparaciones (26, 42, 45, 51).

CONTRAINMUNOELECTROFORESIS (CIE)

Se prepararon placas al 0.75% de agarosa tipo II de Sigma con 25 ml de regulador de barbituratos Beckman 0.05 M y a un pH de 8.6 (19, 27, 34). Una vez solidificadas se horadaron a un centímetro de distancia de centro a centro de los pozos, utilizando para ello una plantilla y un horadador.

El exceso de humedad del agar se eliminó con una tira secante. De cada par de horadaciones, la más cercana al ánodo se llenó con los sueros obtenidos de la sangre de los hamsters (utilizando para ello una micropipeta), y la más próxima al cátodo se llenó con los diferentes antígenos (vesicular, salino, salino polvo y de tenia), cada uno en diferente pozo. Los últimos pares de pozos fueron empleados para colocar suero testigo positivo y los mismos antígenos para control del sistema.

El corrimiento de las placas se hizo con 35 ml de regulador de barbituratos 0.05 M para cada esponja, a un amperaje de 30 ma y un precorrimiento de anticuerpos (suero de hamster) de 30 minutos. Posteriormente se adicionaron los antígenos y se efectuó el corrimiento por 2 horas.

Por último se procedió a la lectura de las placas por medio de la búsqueda de bandas de precipitación, para lo cual se hizo lo siguiente:

Las placas ya corridas se dejaron reposar en refrigeración por dos días, después se dializaron en solución salina al 0.85% por espacio de una semana, luego estuvieron dializandose otra semana pero con agua destilada; se escurrieron y colocaron en una solución de glicerina al 1% durante una hora. Finalmente se procedió a fijarlas en placas de vidrio, procurando que todas estuvieran debidamente marcadas, se secaron dentro de una estufa a 37 °C por dos días y se procedió a teñirlas con azul brillante (Coomassie) al 0.25% en una mezcla de metanol, agua y ácido acético (5:5:1), el exceso de colorante se eliminó con la misma mezcla de metanol-agua-ácido acético sin colorante. Se dejaron secar a temperatura ambiente y se leyeron (39).

R E S U L T A D O S

Para la realización de este trabajo experimental se emplearon un total de 180 animales, de los cuales 18 murieron por diferentes causas, quedando 162 hamsters.

A cada animal se le practicó un análisis coproparasitoscópico previo a la infección y después de administrarles el anti-helmintico, no se encontró ningún parásito que pudiera interferir en la secuencia experimental; así es que se procedió a llevar a cabo la inmunización oral, subcutánea y la infección para seguir la cinética.

Los resultados obtenidos después del sacrificio de los hamsters pertenecientes a los diferentes grupos, revelan la presencia de tenias, las cuales variaron en número y tamaño.

Se determinó el porcentaje de implantación de parásitos durante las semanas indicadas, así como también se establecieron los rangos en centímetros que alcanzaron estos; los resultados se observan en las tablas I a VI según el lote.

De la tabla VII a la XIII se reportan los porcentajes de células sanguíneas en frotis de hamster. Se leyeron un total de 810 preparaciones pertenecientes a los tres grupos.

La tabla XIV muestra el promedio de células sanguíneas en cada lote, así como también el promedio general para cada grupo

(sanos, inmunizados, infectados y testigos).

Los sueros obtenidos de animales inmunizados, sirvieron para llevar a cabo las técnicas de Contrainmunolectroforesis -- (CIE) e Inmunoensayo enzimático (ELISA), de esta última me proporcionaron los resultados (2).

Los resultados de la CIE aparecen en las tablas XV a XX.

La tabla XXI muestra el porcentaje de positividad para cada antígeno en la técnica de CIE.

En la tabla XXII se registra el porcentaje de positividad por la técnica de ELISA.

T A B L A I

EVALUACION DE LA PERMANENCIA DE LOS CISTICERCOS QUE RECIBIERON
300 RADS, EN EL INTESTINO DEL HAMSTER

SEMANAS DESPUES DE LA INMUNI ZACION ORAL	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
1	100	0.5 - 1
4	75	1.5 - 2
7	9	0.7 - 1
14	0	-----

Cada hamster fué inmunizado con 10 cisticercos irradiados. A la semana indicada, en grupos de tres fueron sacrificados.

T E S T I G O S

SEMANAS DESPUES DE LA INMUNI ZACION ORAL	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
1	100	0.7 - 1
4	80	2 - 12
14	0	-----

T A B L A II

EVALUACION DE LA PERMANENCIA DE LOS CISTICERCOS QUE RECIBIERON
3000 RADS, EN EL INTESTINO DEL HAMSTER

SEMANAS DESPUES DE LA INMUNI ZACION ORAL	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
1	100	0.2 - 1.3
2	30	1.5 - 2
4	30	1 - 43
6	22	10 - 20
8	0	-----
10	0	-----

Cada hamster fué inmunizado con 10 cisticercos irradiados. A la semana indicada, en grupos de tres fueron sacrificados.

T E S T I G O S

SEMANAS DESPUES DE LA INMUNI ZACION ORAL	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
1	100	0.9 - 2
6	50	5 - 35

T A B L A III

EVALUACION DE LA PERMANENCIA DE LOS CISTICERCOS QUE RECIBIERON
5000 RADS, EN EL INTESTINO DEL HAMSTER

SEMANAS DESPUES DE LA INMUNI ZACION ORAL	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
1	100	0.2 - 1.0
4	66	10 - 30
8	0	-----

Gada hamster fué inmunizado con 10 cisticercos irradiados. A la semana indicada, en grupos de tres fueron sacrificados.

T E S T I G O S

SEMANAS DESPUES DE LA INMUNI ZACION ORAL	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
1	100	0.4 - 2.6
4	50	2 - 8

T A B L A I V

RESULTADOS DEL RETO ORAL CON CISTICERCOS A HAMSTERS PREVIAMENTE
INMUNIZADOS ORALMENTE CON CISTICERCOS IRRADIADOS

RADS	SEMANAS TRANSCURRI DAS PARA EL RETO	SEMANAS DE SACRI FICIO DESPUES DEL RETO	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
300	13	2	11	0.4 - 2.5
3000	8	2	22	0.5 - 3
5000	10	2	11	0.5 - 0.8

Cada hamster fué inmunizado con 10 cisticercos irradiados, posteriormente se retaron con 10 cisticercos c/u y a la semana indicada, en grupos de tres fueron sacrificados.

T E S T I G O S		
SEMANAS DE SACRIFICIO DESPUES DEL RETO	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
2	100	0.5 - 3.1

T A B L A V

RESULTADOS DEL RETO CON CISTICERCOS A HAMSTERS PREVIAMENTE INMUNIZADOS CON Ag Sp POR VIA SUBCUTANEA

SEMANAS DESPUES DEL RETO	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
1	100	0.2 - 0.9
3	80	0.8 - 1
4	60	1.2 - 2
5	50	8 - 13
6	42	1 - 41
8	19	9 - 45

Cada hamster fué inmunizado con 17 mg/ml de Ag Sp y retado con 10 cisticercos. Los testigos fueron inmunizados con solución salina estéril y retados con 10 cisticercos c/u. A la semana indicada, en grupos de tres fueron sacrificados.

T E S T I G O S

SEMANAS DESPUES DEL RETO	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMAÑO RANGO (cm)
1	100	0.2 - 1.9
6	66	30 - 45

T A B L A V I

RESULTADOS DE LA INFECCION ORAL CON CISTICERCOS EN HAMSTER

(CINETICA)

SEMANAS DESPUES DE LA INFECCION	% IMPLANTACION DE ADULTOS	TENIAS TAMANO RANGO (cm)
2	100	0.4 - 3.7
4	83	3 - 14
6	66	4 - 30
8	50	4 - 10
10	16	0.5 - 10
12	6.6	5.3 - 8
14	0	-----
17	0	-----

Cada hamster fué infectado con 10 cisticercos y a la semana indicada, en grupos de tres fueron sacrificados.

T A B L A VII

PORCENTAJE DE CELULAS SANGUINEAS EN FROTIS DE HAMSTER SANO

Semana	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	74.6	12.8	12.4	0	0
2	77.4	10.15	12.45	0	0
4	78.4	7.0	14.6	0	0
7	78.1	10.9	10.6	0	0
14	80.35	9.0	10.65	0	0

En las semanas indicadas se sacrificaron en grupos de tres, de cada animal se hicieron 5 frotis, los cuales fueron leídos obteniéndose un promedio individual y después por grupo.

T A B L A VIII

PORCENTAJE DE CELULAS SANGUINEAS EN FROTIS DE HAMSTER INMUNIZADO
POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS CON 300 RADS

Semanas después de la inmu- nización	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	70.8	7.4	21.7	0.1	0
4	82.7	5.88	10.78	0.64	0
7	78.1	4.22	17.2	0.48	0
14	80.24	5.44	13.75	0.57	0

T E S T I G O S

Semanas después de la inmu- nización	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	82.5	8.8	8.6	0.1	0
4	80.6	9.0	10.2	0.2	0
14	82.0	9.0	9.0	0	0

En esta tabla se resumen los porcentajes de células sanguíneas presentes en hamsters inmunizados por vía oral con cisticercos irradiados con 300 Rads, y en hamsters inmunizados por vía oral con cisticercos sin irradiar. Se sacrificaron en grupos de tres y se hicieron 5 frotis de cada uno obteniéndose un promedio individual y después - por grupo.

T A B L A IX

PORCENTAJE DE CELULAS SANGUINEAS EN PROTIS DE HAMSTER INMUNIZADO POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS CON 3000 RADS

Semanas después de la inmunización	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	72.8	7.05	19.35	0.65	0.15
2	70.71	8.86	18.03	0.2	0.2
4	77.14	7.64	14.72	0.5	0
6	81.7	5.75	11.9	0.65	0
8	80.54	6.94	12.02	0.5	0
10	79.3	10.9	9.2	0.6	0

T E S T I G O S

Semanas después de la inmunización	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	81.53	5.98	11.9	0.59	0
6	84.0	8.8	6.8	0.4	0

En esta tabla se resumen los porcentajes de células sanguíneas presentes en hamsters inmunizados por vía oral con cisticercos irradiados con 3000 Rads, y en hamsters inmunizados por la misma vía con cisticercos sin irradiar. Se sacrificaron en grupos de tres y se hicieron 5 frotis de cada uno, obteniéndose un promedio individual y después por grupo.

T A B L A X

PORCENTAJE DE CELULAS SANGUINEAS EN FROTIS DE HAMSTER INMUNIZADO POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS CON 5000 RADS

Semanas después de la inmu- nización	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	76.0	8.0	16.0	0	0
4	84.4	5.2	10.4	0	0
8	81.26	6.74	12.0	0	0

T E S T I G O S

Semanas después de la inmu- nización	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	78.8	8.7	12.0	0.5	0
4	82.44	5.76	11.8	0	0

En esta tabla se resumen los porcentajes de células sanguíneas presentes en hamsters inmunizados por vía oral con cisticercos irradiados con 5000 Rads, y en hamsters inmunizados por la misma vía con cisticercos sin irradiar. Se sacrificaron en grupos de tres y se hicieron 5 frotis de cada uno, obteniéndose un promedio individual y después por grupo.

T A B L A X I

PORCENTAJE DE CELULAS SANGUINEAS EN FROTIS DE HAMSTER INMUNIZADO POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS CON 300, 3000 Y 5000 RADS Y DESPUES RETADO CON CISTICERCOS NO IRRADIADOS

Semanas después del Reto	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
2	85.8	6.6	7.0	0.4	0.2
2	82.63	4.41	12.5	0.46	0
2	84.9	4.7	10.4	0	0

T E S T I G O S

Semanas después del Reto	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
2	78.8	4.9	15.9	0.4	0

En este grupo cada hamster fué inmunizado oralmente con 10 cisticercos irradiados con 300, 3000 y 5000 Rads en la secuencia que se marca en el esquema, posteriormente se retaron con 10 cisticercos no -- irradiados. Se sacrificaron en grupos de tres y se hicieron 5 frotis de cada uno, obteniendose un promedio individual y después por grupo.

T A B L A X I I

PORCENTAJE DE CELULAS SANGUINEAS EN FROTIS DE HAMSTER INMUNIZADO POR VIA SUBCUTANEA CON Ag Sp Y RETADO CON CISTICERCOS

Semanas después del Reto	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	80.25	11.75	8.0	0	0
3	80.0	11.0	8.0	1.0	0
4	73.5	9.0	17.0	0.5	0
5	70.6	11.0	18.0	0.4	0
6	72.9	9.45	17.53	0.12	0
8	70.9	10.2	18.0	0.4	0

T E S T I G O S

Semanas después del Reto	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
1	78.5	6.5	14.5	0.25	0
6	77.8	8.8	13.4	0	0

En las semanas indicadas se sacrificaron grupos de tres hamsters, de cada animal se hicieron 5 frotis los cuales fueron leídos obteniendo se un promedio individual y después por grupo.

T A B L A XIII

PORCENTAJE DE CELULAS SANGUINEAS EN FROTIS DE HAMSTER INFECTADO
ORALMENTE CON CISTICERCOS (CINETICA)

Semana	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
2	75.5	7.5	16.5	0.5	0
4	77.8	8.0	13.7	0.5	0
6	77.5	11.0	10.7	0.8	0
8	80.0	9.0	10.5	0.5	0
10	75.0	15.0	8.75	1.0	0.25
12	76.5	12.0	10.5	0.75	0.25
14	78.0	13.5	7.5	1.0	0
17	76.0	8.5	15.0	0.5	0

En las semanas indicadas se sacrificaron en grupos de tres, de cada animal se hicieron 5 frotis los cuales fueron leídos obteniendo se un promedio individual y después por grupo.

T A B L A XIV

PROMEDIO DE CELULAS SANGUINEAS EN FROTIS DE HAMSTER EN CADA GRUPO

Lote	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
Sanos	77.8	10.0	12.0	0	0
300 Rads	78.0	5.7	15.8	0.5	0
3000 Rads	77.4	7.9	14.2	0.5	0
5000 Rads	80.5	6.5	13.0	0	0
Retados	84.5	5.2	10.0	0.3	0
Inmunizados (Ag Sp)	74.7	10.4	14.5	0.4	0
Cinética	77.2	10.5	11.6	0.7	0

T E S T I G O S

Lote	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
300 Rads	81.6	9.0	9.3	0.1	0
3000 Rads	82.8	7.4	9.3	0.5	0
5000 Rads	80.6	7.2	12.0	0.2	0
Retados	78.8	4.9	15.9	0.4	0
Inmunizados (S. S.)	78.2	7.7	14.0	0.1	0

Promedio	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
Sanos	77.8	10.0	12.0	0	0
Inmunizados	78.7	7.6	13.2	0.5	0
Testigos	80.4	7.2	12.2	0.2	0

T A B L A X V

RESULTADOS DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS EN HAMSTER INMUNIZADO
POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS CON 300 RADS

<u>HAMSTER</u>	SEMANAS DESPUES DE LA INMUNIZACION											
	I			IV			VII			XIV		
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>11</u>	<u>12</u>
ANTIGENO												
Ag V	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Ag T	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Ag Sp	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Ag S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Se trabajó un total de 12 hamsters inmunizados por vía oral con 10 cisticercos c/u, irradiados con 300 Rads. Y 9 hamsters inmunizados por vía oral con 10 cisticercos c/u, sin irradiar. Se corrieron las placas por duplicado.

T E S T I G O S

<u>HAMSTER</u>	SEMANAS DESPUES DE LA INMUNIZACION								
	I			IV			XIV		
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>
ANTIGENO									
Ag V	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ag T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ag Sp	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Ag S	-	+	-	-	-	-	+	-	-

T A B L A XVI

RESULTADOS DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS EN HAMSTER INMUNIZADO
POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS CON 3000 RADS

	SEMANAS DESPUES DE LA INMUNIZACION																	
	I			II			IV			VI			VIII			X		
HAMSTER	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
ANTIGENO																		
Ag V	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Ag T	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Ag Sp	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ag S	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

Se trabajó un total de 18 hamsters inmunizados por vía oral con 10 cisticercos c/u, irradiados con 3000 Rads. Y 6 hamsters inmunizados por vía oral con 10 cisticercos c/u, sin irradiar. Se corrieron las placas por duplicado.

	TESTIGOS					
	SEMANAS DESPUES DE LA INMUNIZACION					
HAMSTER	I			VI		
	1	2	3	4	5	6
ANTIGENO						
Ag V	-	-	-	-	-	+
Ag T	-	-	-	-	-	+
Ag Sp	-	-	-	-	-	-
Ag S	-	+	-	-	-	+

T A B L A XVII

RESULTADOS DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS EN HAMSTER INMUNIZADO
POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS CON 5000 RADS

<u>HAMSTER</u>	SEMANAS DESPUES DE LA INMUNIZACION								
	I			IV			VIII		
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>
ANTIGENO									
Ag V	-	+	-	+	-	+	-	-	-
ag T	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Ag Sp	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Ag S	-	+	-	+	-	+	-	-	-

Se trabajó un total de 9 hamsters inmunizados por vía oral con 10 cisticercos c/u, irradiados con 5000 Rads. Y 6 hamsters inmunizados por vía oral con 10 cisticercos c/u, sin irradiar. Se corrieron las placas por duplicado.

<u>HAMSTER</u>	T E S T I G O S					
	SEMANAS DESPUES DE LA INMUNIZACION.					
	I			IV		
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>
ANTIGENO						
Ag V	-	+	-	+	+	-
Ag T	-	-	-	-	+	-
Ag Sp	-	+	-	+	+	-
Ag S	-	-	-	+	+	-

T A B L A XVIII

RESULTADOS DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS EN HAMSTER INMUNIZADO
POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS CON 300, 3000 Y 5000 RADS
Y RETADO CON CISTICERCOS SIN IRRADIAR

RADS	300			3000			5000		
SEMANA	XIII			VIII			X		
<u>HAMSTER</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>
ANTIGENO									
Ag V	+	+	-	+	-	-	+	-	-
Ag T	+	+	-	+	-	-	+	-	-
Ag Sp	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Ag S	+	+	+	-	-	-	+	-	-

Se trabajó un total de 9 hamsters inmunizados por vía oral con 10 cisticercos c/u, irradiados con 300, 3000 y 5000 Rads, posteriormente se retaron con 10 cisticercos c/u, sin irradiar. Y 3 hamsters inmunizados por vía oral con 10 cisticercos c/u, sin irradiar, dos dosis. Se corrieron las placas por duplicado.

T E S T I G O S			
SEMANA	II		
<u>HAMSTER</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>
ANTIGENO			
Ag V	-	-	-
Ag T	-	+	+
Ag Sp	-	+	-
Ag S	-	+	-

T A B L A X I X

RESULTADOS DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS EN HAMSTER INMUNIZADO POR VIA SUBCUTANEA CON ANTIGENO SALINO POLVO Y RETADO CON CISTICERCOS

HAMSTER	SEMANTAS DESPUES DE LA INMUNIZACION																	
	I			III			IV			V			VI			VIII		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
ANTIGENO																		
Ag V	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ag T	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ag Sp	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ag S	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Se trabajó un total de 18 hamsters inmunizados por vía subcutánea con Ag Sp, posteriormente se retaron con 10 cisticercos c/u. Y 6 hamsters inmunizados con solución salina estéril y posteriormente retados con - 10 cisticercos c/u. Se corrieron las placas por duplicado.

HAMSTER	TESTIGOS					
	SEMANTAS DESPUES DE LA INMUNIZACION					
	I			VI		
	1	2	3	4	5	6
ANTIGENO						
Ag V	-	-	-	-	-	-
Ag T	-	-	-	-	-	+
Ag Sp	-	-	-	-	-	+
Ag S	-	+	-	-	-	-

T A B L A XX

RESULTADOS DE LA CONTRAINMUNOELECTROFORESIS EN HAMSTER INFECTADO ORALMENTE CON CISTICERCOS (CINETICA)

S E M A N A S D E S P U E S D E L A I N F E C C I O N	HAMSTER		A N T I G E N O S			
			Ag V	Ag T	Ag Sp	Ag S
		1	-	-	+	+
	I	2	+	+	+	-
		3	-	-	+	-
	IV	11	+	+	+	+
		13	+	-	-	-
	V	14	-	-	+	-
		15	+	+	-	+
		19	-	-	+	+
	VII	20	-	-	+	-
		28	-	+	+	-
	X	29	-	-	+	-
		30	+	+	+	+
	XI	32	+	+	-	+
	XIV	40	-	+	+	+
		44	+	-	-	-
	XV	45	+	-	-	-
		46	+	+	-	-
	XVI	48	+	-	-	-
		49	+	+	+	+
	XVII	51	+	-	-	-

Se trabajó un total de 51 hamsters infectados oralmente con 10 cisticercos c/u. Solo se registran aquellos sueros que mostraron positividad con algún antígeno. Los que no aparecen fueron negativos. Las placas se corrieron por duplicado

T A B L A XXI

PORCENTAJE DE POSITIVIDAD POR LA TECNICA DE CIE EN HAMSTER INMUNIZADO POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS, INMUNIZADO POR VIA SUBCUTANEA CON Ag Sp Y EN LA CINETICA

L O T E S						
ANTIGENO	300 R	3000 R	5000 R	Ag Sp	CINETICA	
Ag V	33.3	16.6	33.3	11.1	23.5	
Ag T	41.6	27.7	22.2	16.6	17.6	
Ag Sp	33.3	5.5	33.3	11.1	23.5	
Ag S	16.6	22.2	33.3	16.6	15.7	
Total de +	31.25	18.05	30.55	13.88	20.09	

R E T A D O S			
ANTIGENO	300 R	3000 R	5000 R
Ag V	66.6	33.3	33.3
Ag T	66.6	33.3	33.3
Ag Sp	100.0	0	33.3
Ag S	100.0	0	33.3
Total de +	83.0	16.0	33.3

T E S T I G O S						
ANTIGENO	300 R	3000 R	5000 R	RETADOS	INMUNIZ.	CIN.
Ag V	0	16.6	50.0	0	0	0
Ag T	0	27.7	16.6	66.6	16.6	0
Ag Sp	22.2	5.5	50.0	33.3	16.6	0
Ag S	22.2	22.2	33.3	33.3	16.6	0
Total de +	11.1	16.6	37.5	25.0	12.5	0

T A B L A XXII

PORCENTAJE DE POSITIVIDAD POR LA TECNICA DE ELISA EN HAMSTER INMUNIZADO POR VIA ORAL CON CISTICERCOS IRRADIADOS, INMUNIZADO - POR VIA SUBCUTANEA CON Ag Sp Y EN LA CINETICA

ANTIGENO	L O T E S				
	300 R	3000 R	5000 R	Ag Sp	CINETICA
Ag V	25.0	66.6	50.0	100.0	100.0
Ag T	50.0	16.6	0	100.0	76.47
Ag Sp	75.0	66.6	0	100.0	82.35
Ag S	25.0	33.3	0	83.3	82.35
% Total de los lotes	43.7	55.0	12.5	95.8	85.29

Los porcentajes de positividad que se muestran en la tabla son el resultado de la diferencia entre la densidad óptica de los sueros testigo con los sueros problema, para cada uno de los lotes.

ANTIGENO	R E T A D O S		
	300 R	3000 R	5000 R
Ag V	100.0	100.0	0
Ag T	0	0	0
Ag Sp	100.0	0	0
Ag S	100.0	0	0
% Total de los retados	75.0	25.0	0

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Al comparar los resultados registrados en las tablas I, II y III, se nota que en la inmunización oral con cisticercos irradiados con 300, 3000 y 5000 Rads de Cobalto (lotes A, B y C) se presentó una implantación total de escólices en la primera semana, es decir que por cada cisticerco ingerido se obtiene una tenia.

En la cuarta semana la implantación fué mayor en los lotes A y C mientras que en el B bajó notablemente.

Conforme transcurrieron las semanas el porcentaje de permanencia fué disminuyendo.

A partir de la octava semana ya no se encuentran tenias, - tanto en hamsters problema como en testigos, lo cual indica que estos huéspedes tienen algún mecanismo inmune que logra controlar la infección.

El tamaño de las tenias fué variable, encontrándose que en el lote A casi no hubo crecimiento, mientras que en los otros - dos se presentó un mayor desarrollo, sobre todo en la cuarta y - sexta semana.

Las tenias de gran talla pertenecientes a los lotes B y C - se caracterizaron por tener proglótidos inmaduros, anchos y de--formes; esto demuestra que los adultos implantados fueron afecta

des por la irradiación, sobre todo si comparamos estas tenias - con las obtenidas de los testigos.

Los testigos recibieron cisticercos sin irradiar y las tenias obtenidas fueron grandes y no presentaron alteraciones.

Analizando el efecto de la irradiación aplicada a los cisti cercos, encontramos que con 3000 y 5000 Rads de Cobalto se les - afectó más, sin embargo no murieron. Pudieron implantarse aunque sufrieron deformaciones a nivel adulto.

En la tabla IV se presentan los resultados del reto oral, - notandose que los porcentajes de implantación de adultos disminu yeron.

Con el reto oral se probó que existe inmunidad en el hués-- ped, esto se deduce al comparar los porcentajes de implantación entre los hamsters problema y los testigos, en donde estos últimos tuvieron una permanencia mayor debido a que no habían producido anticuerpos anti-tenia que los protegiera de una reinfec--- ción, a pesar de que estos ya habían sido parasitados con tenias provenientes de cisticercos no irradiados.

Las tenias encontradas en los animales problema y testigos fueron pequeñas y estas pertenecen al reto, debido a que las pri meras fueron eliminadas por sus huéspedes a partir de la octava semana.

La tabla V pertenece al grupo II de animales inmunizados por vía subcutánea con antígeno salino polvo (Ag Sp) y después retados con cisticercos normales.

En este grupo existe un alto porcentaje de implantación de tenias comparado con el grupo I, aún en la octava semana se presenta un 19% de permanencia, mientras que en el grupo anterior ya se habían eliminado los parásitos en esa misma semana.

Los parásitos obtenidos en las primeras semanas fueron pequeños, sin embargo en las semanas 6 y 8 alcanzaron su máximo desarrollo.

Los hamsters testigos mostraron mayor porcentaje de implantación comparado con los animales problema.

La inmunización por vía subcutánea resulta efectiva ya que despierta en el huésped la respuesta inmune, disminuyendo la permanencia del parásito y causando protección; esto se deduce del análisis comparativo entre los testigos y la cinética con este grupo.

Para la cinética (grupo III) se trabajó un total de 51 hamsters, los cuales fueron infectados por vía oral con cisticercos normales, los resultados se muestran en la tabla VI.

En las semanas indicadas se sacrificaron en grupos de tres y como se observa, mostraron una permanencia de tenias más pro-

longada con respecto a los otros grupos.

Las medidas de los parásitos variaron, sin embargo la mayoría fueron pequeños.

En la cinética se demostró que la tenia infecta al huésped experimental solo en forma temporal, debido quizás a un mecanismo inmune que ayuda a eliminarla.

Para conocer la densidad poblacional de las células sanguíneas en frotis de hamsters sanos, inmunizados (vía oral y vía subcutánea) e infectados, se leyeron un total de 810 preparaciones.

Se obtuvo un promedio individual y otro por grupo, estableciéndose también porcentajes.

En la tabla VII se presentan los valores de células sanguíneas en animales sanos, encontrándose que la densidad poblacional por rangos es la siguiente:

Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos
74-81%	7-12%	10-14%	0%	0%

El grupo I comprende tres lotes de hamsters inmunizados por vía oral con cisticercos irradiados con 300, 3000 y 5000 Rads.

Los resultados de la cuenta diferencial aparecen en las tablas VIII, IX y X.

Al comparar los lotes observamos que hubo variaciones en el porcentaje de células, según las semanas de inmunización.

Los valores que mostraron los linfocitos fueron ligeramente altos en el lote C en la primera semana, durante la cuarta tendieron a disminuir en el lote B, mientras que en la octava son muy semejantes en los tres lotes.

A nivel de monocitos se observa que en la primera semana se encuentran un poco aumentados con 5000 Rads (lote C) y durante la cuarta con 3000 Rads (lote B), en la octava semana disminuyen los porcentajes en el lote A.

Los neutrófilos mostraron porcentajes altos en la primera semana en los lotes A y B, en la cuarta se mantuvieron aumentados solo en B y durante la octava disminuyeron en B y C incrementándose en A.

En cuanto a los eosinófilos cabe señalar que se presentaron en todas las semanas, con valores inferiores al 1% tanto en el lote A como en el B.

Los basófilos tuvieron un porcentaje mínimo con 3000 Rads en las primeras dos semanas; por lo regular estuvieron ausentes.

Los hamsters testigos de estos lotes presentaron porcentajes semejantes de linfocitos, sobre todo en las semanas 4, 6 y 14; los monocitos estuvieron ligeramente incrementados en la semana 4 y 6 en los lotes A y B.

En los animales inmunizados por vía oral y después retados (tabla XI) encontramos un aumento del porcentaje de linfocitos - sobre todo con 300 y 5000 Rads, los monocitos tendieron a disminuir al igual que los neutrófilos, la eosinofilia siguió presentándose y hubo presencia de basófilos en el lote A.

Comparando los hamsters testigo con los problema, se observa una disminución de linfocitos y tanto los monocitos como los eosinófilos mantuvieron valores semejantes, mientras los neutrófilos estuvieron elevados.

En la tabla XII observamos los porcentajes de células sanguíneas en hamsters inmunizados por vía subcutánea.

En este grupo los linfocitos tendieron a disminuir a partir de la cuarta semana, los monocitos estuvieron fluctuando y los neutrófilos se incrementaron casi al doble a partir de la cuarta semana.

Los eosinófilos en la tercera semana alcanzaron el 1% y después se mantuvieron a nivel moderado.

En los animales testigo se nota una disminución en monocitos y eosinófilos, mientras que los linfocitos y neutrófilos mantuvieron un valor semejante a los hamsters problema.

Los resultados de la Cinética aparecen en la tabla XIII, en

forma general los valores obtenidos son similares a los grupos I y II.

La eosinofilia moderada persistió también en este grupo, aunque hubo un ligero aumento en las semanas 10, 12 y 14.

Resumiendo los porcentajes de células sanguíneas en los tres grupos, encontramos los siguientes rangos:

SANOS		INMUNIZADOS	
Linfocitos	74-81%	Linfocitos	72-84%
Monocitos	7-12%	Monocitos	5-10%
Neutrófilos	10-12%	Neutrófilos	9-18%
Eosinófilos	0%	Eosinófilos	0-0.6%
Basófilos	0%	Basófilos	0%

Analizando estos valores (tabla XIV) encontramos que los linfocitos y monocitos no presentaron variaciones muy significativas, sin embargo la tendencia de los neutrófilos a incrementarse y la presencia de los eosinófilos en todos los grupos, nos indica que existe respuesta inmune celular del huésped hacia el parásito.

A partir de la tabla XV y hasta la XXI, aparecen los resultados de la Contraelectroforesis (CIE). Para esta técnica se emplearon los sueros obtenidos de los hamsters procedentes de los tres grupos.

La tabla XV muestra los resultados de la CIE en el lote A -

(300 Rads). De un grupo de 12 hamsters problema, solo en 5 se detectaron anticuerpos y de estos en 4 hubo implantación de tenias. El porcentaje de positividad en estos animales fué de 31%.

Los sueros reaccionaron más con los antígenos de tenia (Ag-T) y salino polvo (Ag Sp) y en menor proporción con el antígeno salino (Ag S).

De 9 sueros testigos, solo dos resultaron positivos con los antígenos salino polvo y salino. Estos dos sueros pertenecen a hamsters que desarrollaron tenias. El porcentaje de positividad fué de 11%.

En el lote B (3000 Rads), tabla XVI, se manejó un total de 18 sueros problema, de los cuales 5 mostraron positividad, reaccionando más con el Ag T y menos con el Ag Sp. Tres de los 5 sueros pertenecen a hamsters que tuvieron tenias.

La sensibilidad de la prueba para estos animales equivale al 18%.

En cuanto a los sueros testigos, se utilizaron 6 y de estos solo dos reaccionaron con el Ag S y corresponden a hamsters parasitados. El porcentaje de positividad fué de 16%.

En la tabla XVII se observa que de 9 sueros problema, en 3 se detectaron anticuerpos mostrando positividad con todos los an

tígenos, equivalente al 30%. Dos de los sueros positivos pertenecen a animales parasitados.

De 6 testigos, tres fueron positivos (38%) reaccionando más con el antígeno vesicular (Ag V) y con el Ag Sp, y solo uno fue positivo con Ag T. Solo un animal desarrolló tenias y reaccionó con todos los antígenos.

Los resultados de la CIE en animales retados se muestran en la tabla XVIII. De un total de 9 animales, en 5 se detectaron anticuerpos. Tres sueros fueron positivos con todos los antígenos y pertenecen a hamsters que desarrollaron tenias.

El porcentaje de sensibilidad es equivalente al 44%.

Se emplearon tres sueros testigos provenientes de hamsters inmunizados por vía oral con cisticercos normales y retados con una segunda dosis de cisticercos.

Uno de los sueros reaccionó con todos los antígenos menos el Ag V, este pertenece a un animal parasitado. Hubo otro suero positivo, el cual reaccionó con el Ag T y no estuvo parasitado. El porcentaje de positividad equivale al 25%.

La tabla XIX muestra que de 18 animales inmunizados por vía subcutánea, cuatro fueron positivos (14%) y de estos solo uno reaccionó con todos los antígenos y pertenece a un hamster que -

desarrolló tenias.

En este grupo II se manejaron 6 testigos, de los cuales 2 - fueron positivos (12%) reaccionando solo con uno e dos antígenos. Solo uno de estos 2 sueros pertenece a un hamster que presentó - tenias.

En la cinética (grupo III) cuyos resultados aparecen en la tabla XX, se observa que en un total de 51 hamsters infectados, 20 de ellos mostraron positividad con algún antígeno en la técnica de CIE (12%). De los que resultaron positivos, solo 9 presentaron implantación de tenias y pertenecen a las semanas I, V, - VII y X.

El resto de los animales no reaccionaron ante ningún antígeno, sin embargo algunos de estos si estuvieron parasitados perteneciendo a las semanas II, III, IV, IX y XII.

Los testigos para este grupo fueron sanos y no hubo positividad en ellos.

En la tabla XXI se registran los porcentajes de positividad obtenidos por la técnica de CIE. Comparando estos resultados encontramos que en la inmunización oral (grupo I), se indujo eficientemente una respuesta inmune humoral.

Como podemos observar en el lote A y C, y en animales ret-

des de estos mismos, se detectaron más sueros positivos alcanzando de mayores porcentajes de positividad.

En el grupo II los anticuerpos detectados por esta técnica presentaron valores más bajos comparados con el grupo I, sin embargo se piensa que hubo una buena producción de anticuerpos que no pudieron reaccionar con los antígenos, quizás por la menor sensibilidad de la técnica.

En el grupo III la producción de anticuerpos perduró conforme transcurrió el tiempo de infección, pudiéndose detectar en todas las semanas.

Comparando los porcentajes de positividad en las técnicas de Contrainmunolectroforesis (CIE) e Inmunoensayo enzimático (ELISA) en los tres grupos, cuyos resultados se muestran en las tablas XXI y XXII, encontramos lo siguiente:

En el grupo I lote A (300 Rads), la técnica de ELISA resultó ser más sensible a los antígenos Ag T, Ag Sp y Ag S; mientras que la técnica de CIE solo registró una positividad ligeramente mayor con el antígeno Ag V.

En el lote B (3000 Rads) se nota que también la ELISA alcanzó valores más altos con Ag V, Ag Sp y Ag S; mientras que por la CIE se mantuvieron muy bajos y solo hubo un porcentaje mayor con Ag T.

En el lote C (5000 Rads) la sensibilidad por CIE fué notablemente mayor con Ag T, Ag Sp y Ag S; la ELISA solo reaccionó con Ag V.

En el grupo II (inmunización por vía subcutánea) y en el grupo III (cinética) se encontró que los porcentajes de positividad para cada antígeno fueron totalmente superiores por ELISA.

Con respecto a los animales inmunizados con cisticercos irradiados con 300 Rads y luego retados, los porcentajes de positividad mostraron ser altos en ambas técnicas, excepto con el Ag T que fué negativo en la ELISA.

Los hamsters retados del lote B registraron positividad solo con Ag V y Ag T en la CIE, los demás fueron negativos; en cuanto a la ELISA solo fué sensible al Ag V.

La técnica de CIE tuvo un porcentaje de positividad bajo --

con todos los antígenos en los animales retados del lote C, mientras que la ELISA fué totalmente negativa.

Al analizar todos estos resultados, es evidente que la técnica de ELISA es más sensible y eficiente en la detección de anticuerpos, comparada con la técnica de CIE, aún cuando los niveles de anticuerpos sean mínimos. Por lo tanto es más recomendable utilizarla en el diagnóstico de la teniasis-cisticercosis.

D I S C U S I O N

Las larvas de T. solium no son parásitos que se puedan cultivar en el laboratorio, por lo tanto la única forma de conseguirlos es a través de los Rastros oficiales, en donde la carne de cerdo parasitada llega con poca frecuencia; motivo por el cual no siempre se puede contar con cisticercos en la fecha deseada afectando tanto la obtención de antígenos como el trabajo experimental.

En la preparación de antígeno vesicular se requiere de gran cantidad de cisticercos, los cuales no se obtienen fácilmente debido a que se rompen con frecuencia al desprenderlos del tejido muscular del huésped.

Los cisticercos con membrana rota se procesan para preparar antígeno salino fresco y en polvo, requiriéndose de mucha carne parasitada para obtener unos cuantos gramos de estos.

En cuanto al antígeno de tenia es necesario infectar por vía oral un lote grande de hamsters y hay que esperar mes y medio para poder extraer a las tenias que en estos se desarrollen para tener así material para prepararlo.

El hamster dorado Mesocricetus auratus es un animal fácil de mantener en el laboratorio, pero difícil de conseguir para - nuestros fines, ya que no existen cepas singénicas lo cual afec - ta los parámetros a seguir, sin embargo ha funcionado como un - modelo experimental en la infección a T. solium (23, 41, 52).

En este trabajo experimental tenemos una variación numéri - ca en cada grupo de animales, debido a que no siempre conseguia - mos la misma cantidad de hamsters y estuvimos muchas veces a ex - pensas de los que pudieran proporcionarnos el Instituto de Hi - giene o el Bioterio del IPN.

Apoyandonos en la información que se desprende de los re - sultados del grupo I, es importante remarcar que las dosis de - rads que fueron aplicadas a los cisticercos antes de la inmuni - zación oral, afectaron su metabolismo y provocaron alteraciones en su morfología y crecimiento sobre todo con 3000 y 5000 rads.

En cuanto al reto oral, se nota que los cisticercos irra - diados que sirvieron para la inmunización despertaron una res - puesta inmune, tanto humoral como celular, que de alguna manera protegió al huésped cuando este recibió una segunda dosis de -- cisticercos no irradiados (reto oral); mientras que aquellos --

animales que recibieron cisticercos sin irradiar tanto en la inmunización oral como en el reto, presentaron un alto porcentaje de implantación de tenias; lo cual indica que su inmunidad hacia el parásito era deficiente o no existía.

Si comparamos los porcentajes de implantación entre animales problema y testigos, observamos que fué mayor la permanencia de tenias en estos últimos y por lo tanto se deduce que hubo un mecanismo de rechazo inmunológico hacia el parásito en los animales problema.

Al realizar una comparación de los resultados obtenidos en este grupo con la información establecida en los antecedentes, encontramos que la irradiación con cobalto aplicada a trozos pequeños de carne con cisticercos no destruye a los parásitos, pero si les causa alteraciones que disminuyen la permanencia de estos a nivel adulto en el huésped.

En el grupo II se observa que realmente hubo una protección causada por la inmunización por vía subcutánea, ya que a pesar de que existió implantación de tenias, fué notoria la disminución del porcentaje de permanencia de los parásitos comparada con los testigos y la cinética.

Esto indica que la inmunización por vía subcutánea sí despierta un mecanismo inmune que protege al huésped en forma limitada ya que por más potente que sea el antígeno, los niveles de anticuerpos que se producen no son lo suficientemente altos como para inhibir al parásito; sin embargo lo que se pretendía -- era disminuir la permanencia del mismo en el huésped (41).

Comparando la inmunización oral y la subcutánea, es importante resaltar que las dos son eficientes, ya que disminuyen el porcentaje de implantación de tenias y desencadenan una respuesta inmunológica humoral y celular que protege al huésped.

En la Cinética (grupo III) se demuestra que la permanencia del parásito dentro del hamster depende del tiempo de infección y la eliminación de las tenias es consecuencia de la capacidad del animal para rechazar por medio de la respuesta inmune al parásito; o bien que por no ser el hamster su huésped natural, desaloje a la tenia con mayor facilidad ya que esta no se puede defender de la acción del mismo (23).

Para establecer si hubo una variación significativa en el número normal de células sanguíneas en hamsters sanos, inmunizados y testigos, fué necesario apoyarse en la información ya es-

tablecida (48).

Resumiendo los resultados obtenidos con la lectura de los frotis, encontramos que en la diferenciación celular existen variaciones porcentuales.

Aquellos animales que fueron inmunizados por vía oral y - después retados presentaron un porcentaje ligeramente mayor de linfocitos con respecto a los otros lotes.

Los monocitos en animales que recibieron cisticercos irradiados resultaron tener valores inferiores comparados con los - demás grupos problema.

En cuanto a los neutrófilos mostraron valores más altos a nivel general, aunque en los animales retados tendieron ligeramente a disminuir.

Los ~~teñidos~~ de cada lote mostraron porcentajes semejantes en cuanto a linfocitos, los monocitos en los lotes de 300 y -- 5000 Rads estuvieron aumentados comparados con los problema y - ligeramente disminuidos en los retados.

En cuanto a los neutrófilos registraron porcentajes bajos en los lotes de 300 y 3000 Rads, aunque en los demás tendieron a incrementarse.

Los eosinófilos no estuvieron presentes en animales sanos, mientras que en los hamsters problema y testigos se mantuvieron con porcentajes inferiores al 1%.

A nivel de basófilos no se observaron más que en algunas preparaciones y su valor no es significativo.

Después de cuantificar a las células sanguíneas en frotis de los diferentes lotes y comparar los valores obtenidos en ellos, pensamos que sí hubo una respuesta inmune mediada por células, fundamentandonos para ello en el incremento porcentual de linfocitos, neutrófilos y eosinófilos; en donde estos últimos mostraron gran número de gránulos y aunque el porcentaje de ellos no fué alto, la ausencia de este tipo celular en preparaciones de animales sanos, manifiesta una ligera eosinofilia característica de enfermedades parasitarias (1, 23, 50).

Para detectar la respuesta humoral en los diferentes grupos, se utilizaron las técnicas de Contrainmunelectroforesis -

(CIE) e Inmuncensayo enzimático (ELISA), comparandolas al final para ver su sensibilidad y eficiencia.

Al efectuar la comparación de los lotes de animales problema, encontramos que la detección de anticuerpos por CIE mostró mayor sensibilidad con los antígenos salino polvo (Ag Sp) y vesicular (Ag V) y fué un poco menor con los antígenos de tenia (Ag T) y salino (Ag S). En tanto los hamsters testigo reaccionaron más con los antígenos salino, salino polvo y tenia, pero casi no hubo positividad con el vesicular.

La diferencia entre los lotes problema y los testigos se - dió sobre todo en animales inmunizados por vía oral con cisticercos irradiados, estos quizás pudieron desarrollar un mecanismo inmunológico humoral más eficiente en donde los anticuerpos producidos se mantuvieron a un nivel alto, pudiendo reconocer - tanto a una fracción del cisticerco con el antígeno vesicular, como al cisticerco completo a través del antígeno salino polvo y salino; dando positividad a lo largo del tiempo que duró el - trabajo experimental.

También se piensa que las radiaciones con cobalto altera-- ron las características constitutivas de las larvas de T. so---

lium, que indujeron una respuesta humoral en el huésped.

En cuanto al antígeno de tenia se observa que los niveles de positividad por la técnica de CIE fueron variables según el grupo, aunque hubo porcentajes altos que distinguieron a los animales problema de los testigos.

Aquellos hamsters que recibieron inmunización oral con cisticercos irradiados fueron capaces de producir más anticuerpos anti-tenia comparados con los demás lotes.

En la detección de anticuerpos por la técnica de ELISA cuyos resultados me fueron proporcionados (2), encontramos que en los sueros de los tres grupos de hamsters hubo gran sensibilidad a los antígenos salino polvo y vesicular; esto comprueba -- que los niveles de anticuerpos anti-cisticerco producidos por los huéspedes experimentales fueron significativamente altos.

En cuanto al antígeno salino presentó porcentajes de positividad más bajos que los anteriores, lo cual parece indicar -- que los anticuerpos que reconocen a este antígeno se encuentran en menor proporción en el suero y por eso casi no se detectan.

Con respecto al antígeno de tenia reaccionó positivamente solo con algunos sueros, sobre todo en aquellos obtenidos de hamsters que presentaron tenias y que pertenecen a los diferentes grupos.

La detección de anticuerpos anti-tenia resulta importante ya que demuestra que el huésped esta desarrollando una respuesta inmune humoral, la cual es muy marcada en aquellos animales que presentaron tenias al momento de su sacrificio, y menos en los que ya las habían eliminado.

Con la estandarización de la técnica de ELISA se logró una mayor detección de anticuerpos en el suero, lo cual es muy importante en el diagnóstico de la teniasis-cisticercosis.

Uno de los problemas para realizar esta técnica fué el con seguir el conjugado anti-hamster.

Comparando la eficiencia y sensibilidad de las dos técnicas trabajadas, encontramos que ambas pueden detectar anticuerpos anti-cisticerco y anti-tenia en el suero.

Cuando el nivel de anticuerpos es muy bajo, la CIE es ine-

ficiente ya que no reacciona, por lo tanto solo puede haber positividad cuando existen muchos anticuerpos; sin embargo con la ELISA esto no sucede.

Para el diagnóstico de la teniasis-cisticercosis se recomienda utilizar la técnica de ELISA ya que es más sensible y eficiente, aunque su costo a nivel de laboratorio sea elevado (2).

Para lograr buenos resultados en ambas técnicas, es importante utilizar diferentes antígenos ya que así se captan más sueros positivos.

Usando antígenos de cisticerco y tenia se captan anticuerpos contra ambos, lo cual indica que se comparten antígenos de fase (larva y adulto).

CONCLUSIONES

En base al trabajo experimental desarrollado y a los resultados obtenidos, se concluye lo siguiente:

Por cada cisticerco administrado por vía oral, se obtiene una tenia en la primera semana de infección.

Los Rads que menciona la literatura son incongruentes con los resultados obtenidos, ya que 400 Rads no son suficientes para matar al cisticerco y menos en canal (1).

La irradiación aplicada a los cisticercos no afecta su viabilidad.

Los Rads influyen en el cisticerco causandole alteraciones morfológicas cuando este pasa a la etapa adulta.

La inmunización oral y subcutánea disminuyen el porcentaje de implantación.

De las dos formas de inmunización utilizadas la mejor es la oral, aunque ambas son eficientes y despiertan la respuesta inmu

ne humoral.

La cuenta diferencial en frotis de hamster infectado con T. solium demuestra que no existen variaciones muy significativas en cuanto a la densidad poblacional de monocitos, sin embargo el incremento porcentual de linfocitos, neutrófilos y eosinófilos indican que sí hay respuesta inmune celular.

Existe una eosinofilia moderada característica de las enfermedades parasitarias (1, 23, 50).

La técnica de Contrainmunolectroforesis (CIE) es poco sensible para la detección de anticuerpos en suero.

Se detectan más anticuerpos anti-tenia y anti-cisticerco en suero con la técnica de Inmunoensayo enzimático (ELISA).

Para el diagnóstico de la teniasis-cisticercosis se recomienda utilizar mejor la técnica de ELISA, por ser esta más sensible y eficiente.

R E S U M E N.

Se obtuvo el porcentaje de implantación de tenias en hamsters inmunizados (vía oral y vía subcutánea) e infectados, se consideró la presencia y tamaño de los parásitos.

Se obtuvo el porcentaje de células sanguíneas en animales sanos, inmunizados e infectados.

Con los sueros de los hamsters y los antígenos se realizaron las técnicas de CIE y ELISA, comparandolas al final. De esta última me proporcionaron los resultados (2).

Los antígenos empleados fueron elaborados con la larva o el adulto de T. solium, siendo estos: antígeno vesicular (Ag V), antígeno salino polvo (Ag Sp), antígeno salino (Ag S) y antígeno de tenia (Ag T).

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

- 1.- ALUJA, A., Escobar, A., Escobedo, F., Flisser, A. 1987. Cisticercosis. Una recopilación actualizada de los conocimientos básicos para el manejo y control de la cisticercosis - causada por Taenia solium. Biblioteca de la salud. Fondo de Cultura Económica, México.
- 2.- ASPEITIA, M. 1991. Evaluación de un modelo de protección de hamster dorado a Taenia solium y detección de anticuerpos - por la técnica de ELISA. Tesis Profesional. En impresión. - E.N.C.B. I.P.N.
- 3.- AVILA, G., Correa, D., Plancarte, A., Flisser, A. ELISA de antígenos de T. solium en heces. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. 1990. México, D. F. Revista Mexicana de Parasitología. Vol. 3 (I): 306.
- 4.- BARRIGA, C. 1981. The immunology of parasitic infections. - University Park Press Baltimore.
- 5.- BECK, J., Davies, J. 1984. Parasitología Médica. Tercera - edición. Nueva Ed. Interamericana, México. 187-199.
- 6.- BIAGI, F. 1985. Enfermedades parasitarias. La Prensa Médica Mexicana. México. 189-203.
- 7.- BOLIVAR, S. 1976. La cisticercosis por Cysticercus cellulosae como zoonosis. Boletín de la oficina sanitaria Panaméricana. 80: 403-411.
- 8.- BROWN, H., Franklin, A. 1986. Parasitología Médica. Quinta edición. Nueva Ed. Interamericana. México. 193-212.
- 9.- CADIGAN, F., Stanton, J., Tanticharoenyos, P., Chaicumpa, V. 1967. The lar gibbon as definitive and intermediate host of Taenia solium. Journal of Parasitology. 53: 844.
- 10.- CARRASCO, R., Marín, J. 1977. La cisticercosis porcina en - el estado de Sonora. Salud Pública Méx. 19: 255-261.
- 11.- CHENG, T. 1978. Parasitología General. Tercera edición. Ed. A. C. Madrid-España. 512-519.

- 12.- COKER, M., Subianto, D., Brown, P. 1981. ELISA Antibodies - to Cysticerci of Taenia solium in human populations in New Guinea, Oceania, and Southeast Asia. J. Trop. Med. Pub. -- Hith. 12 (4): 499-505.
- 13.- CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. 1985. Neurocisticercosis un mal curable. Noviembre: 34-35.
- 14.- CURTSINGER, C., Shoop, W. 1986. Eosinophil levels in Alaria marcianae (Trematoda) infected mice. J. Parasit. 72 (3) 477-478.
- 15.- DE LOS ANGELES, M. 1987. Comportamiento de los eosinófilos en las parasitosis. Ensayo bibliográfico. E.N.C.B. I.P.N.
- 16.- DIAZ, S., Candil, A., Suate, V., Zazueta, M., Félix, M., Lozano, R., Willms, K. Epidemiología y control de teniasis---cisticercosis en población rural de Sinaloa, Méx. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. 1990. México, D. F. Revista Mexicana de Parasitología. Vol. 3 (I): 302.
- 17.- FAUST, E., Rusell, P., Jung, R. 1974. Parasitología Clínica Primera edición. Ed. Salvat Editores, México. 530-539.
- 18.- FLISSER, A. 1978. Inmunología de la cisticercosis humana. - Tesis doctoral. E.N.C.B. I.P.N.
- 19.- FLISSER, A., Woodhouse, E., Larralde, C. 1980. Human Cysticercosis; antigens, antibodies and non responders. Clin. -- Exp. Immunol. 39: 27-37.
- 20.- FLISSER, A., Espinosa, B., Tovar, A. 1986. Host-parasite relationship in cysticercosis. Immunologic study in different compartment of the host. Vet. Parasitol. 20 (1-3) 95-102.
- 21.- GARCIA, C., Correa, D., Flisser, A. El efecto directo del - Praziquantel sobre la larva de Taenia solium es reversible. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. 1990. México, D. F. Revista Mexicana de Parasitología. Vol. 3 (I): 318.
- 22.- GAY, F. Cisticercosis por T. solium. Problema de higiene colectiva y de atención a la salud. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. 1990. México, D. F. Revista Mexicana de Parasitología. Vol. 3 (I): 349.

- 23.- GOMEZ, J. 1989. Establecimiento y estudio de un modelo experimental Taenia solium-Hamster dorado. Tesis Profesional. - E.N.C.B. I.P.N.
- 24.- GONZALEZ, A. 1984. La cisticercosis en México. Gac. Med. - Méx. 120 (9-10): 309-326.
- 25.- GONZALEZ, D., Sandoval, M., Trujillo, V. 1978. Reacción de Inmunofluorescencia indirecta en cisticercosis. Arch. Invest. Med. 9: 51-57.
- 26.- GUIDELINES for surveillance prevention and control of Taenia asis and Cysticercosis. 1982. Edit. by M. Gemell, Z. Matyas Z. Pawlowski, L. Soulsby. In cooperation C. Larralde, G. - Nelson, B. Rosicky. 23-40.
- 27.- HARRISON, L., Parkhouse, R. 1985. Antigens of Taeniid Cestodes in Protection, diagnosis and escape. Current Topic in - Microbiology and Immunology. 120: 159-172.
- 28.- HARRISON, L., Parkhouse, R. 1988. Taenia saginata and Taenia solium: reciprocal models. Centre for Tropical Veterinary - Medicine. Rotterdam.
- 29.- HERNANDEZ, M., Sarti, E., Gutiérrez, I., Schants, P., Gutiérrez, C., Lara, I. Estudio descriptivo en una población hiper-endémica de teniasis y cisticercosis. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de - Parasitología. 1990. México, D. F. Revista Mexicana de Parasitología. Vol. 3 (I): 347.
- 30.- KEILBACH, N., Aluja, A., Sarti, E. Estudio epidemiológico - sobre teniasis-cisticercosis por T. solium en una comunidad rural de Guerrero, México. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. - 1990. México, D. F. Revista Mexicana de Parasitología. Vol. 3 (I): 296.
- 31.- LARA, I., Sarti, E., Gutiérrez, I., Schants, P., Hernández, M., Gutiérrez, C. Estudio poblacional de la teniasis y cisticercosis. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. 1990. México, - D. F. Revista Mexicana de Parasitología. Vol. 3 (I): 344.

- 32.- LARA, R., Martínez, J., Macias, R., Mendoza, J., Willms, K. Neira, H., Altamirano, L., Santamaría, A. Aspectos epidemiológicos de la teniasis-cisticercosis por Taenia solium en el estado de Michoacán, México. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. 1990. Rev. Mex. de Parasitología. Vol. 3 (I): 341.
- 33.- LINCH, M., Stanley, R., Mellor, L. 1972. Métodos de Laboratorio. Segunda edición. Ed. Interamericana. 718-723, 1041--1047.
- 34.- MANUAL DE PRACTICAS DE INMUNOLOGIA. Elaborado por el personal del Depto. de Inmunología. E.N.C.B. I.P.N.
- 35.- MARKELL, E., Voge, M. 1984. Parasitología. Diagnóstico, prevención y tratamiento. Primera edición. Ed. El Manual Moderno. México. 209-219.
- 36.- MAZZOTTI, L. 1954. Incidencia de Cysticercus cellulosae en cerdos de diferentes localidades de la República Mexicana. Rev. Inst. Salub. Enf. Trop. 14: 53-56.
- 37.- MOLINARI, J., Tato, P., Reynoso, O., León, J. Modulation - effects on mice response to a Salmonella typhimurium infection by a Taenia solium cysticerci product of low molecular weight. 1989. Revista Latinoamericana de Microbiología. -- Vol. 31 (4): 327-333.
- 38.- MOLINARI, J., Tato, P. Inmunidad experimental contra la larva de Taenia solium. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. 1990. - Rev. Mex. de Parasitología. Vol 3 (I): 291.
- 39.- MONROY, T. 1981. Evaluación de la Contrainmunoelectroforesis en el diagnóstico de la cisticercosis cerebral. Tesis. E.N.C.B. I.P.N.
- 40.- MONROY, T., Gómez, J., Tenorio, B., Hernández, O. 1987. Establecimiento de un modelo experimental de Hamster dorado--Taenia solium para el estudio cinético de la relación huésped-parásito. XVIII Congreso Nacional de Microbiología. Aca pulco, Guerrero. 82: 135.

- 41.- MONROY, T., Tenorio, M., Aspeitia, M., Monroy, A. 1990. Ensayos de protección en hamster dorado a Taenia solium. Resúmenes del XXI Congreso Nacional de Microbiología. Villahermosa, Tabasco. 329.
- 42.- PARKHOUSE, R., Harrison, L. 1987. Cyst fluid and surface - associated glycoprotein antigens of Taenia sp. metacestodes. Parasit. Immunol. 9: 263-268.
- 43.- PARRA, S., Pelaéz, D. 1964. Nociones de Parasitología Médica y Patología Tropical. Ed. Librería de Medicina, México. 227-265.
- 44.- RAMIREZ, A., Flores, I., Gómez, J., Rivas, B., Monroy, A. - Estudio serológico de la teniasis en hamster. III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de Parasitología. 1990. México, D. F. Revista Mexicana de - Parasitología. Vol. 3 (I): 328.
- 45.- RIVERA, S. 1983. Inmunidad hacia Teniasis. Revisión bibliográfica. E.N.C.B. I.P.N.
- 46.- SARTI, E., Schants, P., Plancarte, A., Gutiérrez, I., Fli-- sser, A., Criales, J. Prevalencia y factores de riesgo de - la teniasis (Taenia solium) y cisticercosis en una comuni-- dad rural del estado de Morelos, México. III Congreso Lati-- noamericano de Medicina Tropical. 9^o Congreso Nacional de - Parasitología. 1990. México, D. F. Revista Mexicana de Para-- sitología. Vol. 3 (I): 300.
- 47.- SARTI, E., Schants, P., Plancarte, A., Gutiérrez, I., Fli-- sser, A., Criales, J. Factores de riesgo asociados a la teniasis y cisticercosis en una comunidad rural de México. - III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 9^o Con-- greso Nacional de Parasitología. 1990. México, D. F. Revista Mexicana de Parasitología. Vol. 3 (I): 342.
- 48.- SCHERMER, S. 1967. The blood Morphology of laboratory ani-- mals. Third Edition. F. A. Davis Company. Philadelphia. -- 75-84.
- 49.- SCHMIDT, G., Roberts, S. 1983. Fundamentos de Parasitología. Ed. CECSA. México. 393-400.

- 50.- VELAZCO, O., Gúzman, C., Gutiérrez, M. 1983. Comparación de una técnica de detección de antígenos solubles de Cisticercus cellulosae. Salud Pública. Méx. Vol. 25: 205-208.
- 51.- VELEZ, A., Medina, R., Parrao, C. 1978. Introducción a la hematología. Ed. Sociedad Mexicana de Hematología, México. 1-34.
- 52.- VERSTER, A. 1974. The golden hamster as a definitive host - of Taenia solium and T. saginata. Onderstepoort Journal of Veterinary Research. 41: 23-28.