

## **ESTUDIO SOBRE LA INMUNIDAD CONTRA EL CISTICERCO DE *TAENIA SOLIUM***

PATRICIA TATO ZALDÍVAR y JOSÉ LUIS MOLINARI SORIANO

*Depto. de Microbiología e Inmunología  
Instituto de Fisiología Celular, U.N.A.M.  
Apartado Postal 70-600, 04510 México, D. F.*

I. Introducción.....	61
II. Material y métodos.....	66
1. Animales.....	66
2. Obtención de antígenos.....	66
3. Inmunizaciones.....	67
4. Obtención de huevos de <i>T. solium</i> .....	67
5. Pruebas de inmunidad.....	68
6. Estadística.....	68
7. Estudios histopatológicos.....	69
8. Eosinofilia.....	69
9. Inhibición de la migración de leucocitos.....	69
10. Titulación de anticuerpos.....	69
11. Determinación de pesos moleculares.....	70
12. Antisero.....	70
13. Inmunoelectroforesis.....	70
III. Resultados.....	71
1. Primer experimento.....	71
2. Segundo experimento.....	74
IV. Discusión.....	78
Referencias.....	82

### **I. Introducción**

La cisticercosis se conoce desde tiempos remotos y así los israelitas en la época de Moisés dictaron leyes proscribiendo la ingestión de carne de cerdo por contener "piedras" (cis-

ticercos), perjudiciales para la salud (1). Nieto (2) refiere que Aristóteles y Aristófanes ya mencionaban que los cisticercos podían ser vistos como vesículas en la superficie inferior de la lengua de los cerdos, donde son particularmente abundantes, así como en muslos, cuello y lomos; que Paranoli en 1550 fue el primero en describir la presencia de vesículas redondas y blancas llenas de un líquido claro en el cuerpo calloso del cerebro de un hombre (1), pero que ninguno de estos autores definieron la naturaleza de estas vesículas hasta 1686 en que Redi; Malpighi y otros las identificaron como parásitos (2). El nombre de *Cysticercus*, que deriva de la palabra griega *kystic* que significa vesícula y *Kerkos*, cola, fue dado por Laennec en 1718. Posteriormente, Rudolphi en 1809 le asignó el nombre de *cellulosae* como especie debido a su gran afinidad por el tejido conjuntivo. Sin embargo, no fue sino hasta 1856 en que Kückenmeister y Leuchart identificaron concluyentemente a estas vesículas como cisticercos y describieron el ciclo biológico de *Taenia solium* (2).

En el hombre, los cisticercos de *T. solium* tienen una marcada tendencia para localizarse en el sistema nervioso central, ojos y músculos. La cisticercosis cerebral es una parasitosis que ocasiona cuadros clínicos muy variados y pleomórficos tanto en sus características como en su pronóstico. Este polimorfismo es la principal dificultad para planear las estrategias terapéuticas, ya que en casi cada paciente la enfermedad tiene un curso particular que depende de la respuesta del huésped hacia el cisticerco, la magnitud de la infección, la localización de los quistes y el sitio y número de lesiones neurológicas (3).

En 1909 se establecieron las bases del diagnóstico serológico al utilizar la reacción de fijación de complemento en suero de cerdos utilizando un extracto alcohólico de cisticercos como antígeno, prueba que fue modificada con mejores resultados por Nieto en 1956 al usar líquido cefalorraquídeo (4). La prueba de fijación de complemento continua siendo muy útil en el diagnóstico de cisticercosis, sin embargo, puede ser negativa cuando el proceso inflamatorio ha desaparecido debido a la calcificación de los parásitos. En estos casos, la tomografía computarizada permite establecer un diagnóstico con considerable certeza (2).

Desde el punto de vista epidemiológico, en México, Costero en 1946, fue el primero en hallar una frecuencia de cisticercosis cerebral del 3.6% en autopsias realizadas durante 6 años en el Hospital General, S.S.A. (5).

Estudios posteriores realizados entre 1961 y 1974, por diferentes autores han señalado una prevalencia de neurocisticercosis del 2.7% en promedio (6, 7, 8).

En un estudio seroepidemiológico de 18417 sueros obtenidos de toda la República Mexicana se encontró que la prevalencia global de seropositividad era de 0.45%. El área con el más alto porcentaje de sueros positivos (0.6-1.0%) correspondió al Bajío, región de producción porcina muy importante; mientras que los más bajos porcentajes (0-0.2%) se encontraron en Tamaulipas, Campeche, Yucatán y Quintana Roo (9).

Respecto a la frecuencia de cisticercos porcina, en un estudio que se realizó en 75 rastros de 22 estados de la República Mexicana durante 1980-1981, se informó que la frecuencia de cisticercosis porcina no es homogénea en el país; encontrando las frecuencias más altas (10%) en Ocampo, Gto., y La Piedad, Mich., y las más bajas en Guadalajara, Jal. (0.005%), y Monterrey, N. L. (0.004%. Considerando la carencia de higiene, de sanidad y educación de las poblaciones marginales, así como las deficiencias en la inspección de la carne en general y la venta clandestina de carne parasitada, es evidente el por que la cisticercosis no puede ser erradicada de un país como el nuestro, solo con medidas como la inspección de la carne y por qué es todavía un problema de salud pública en México (10).

En lo que se refiere a la inmunología de la cisticercosis, se ha observado que la resistencia de los animales contra el cisticercos es en parte debida a la presencia de anticuerpos, como ha sido claramente establecido por experimentos de transferencia de resistencia natural o pasiva, con calostro o suero inmune. En este sentido, se ha observado que las ovejas infectadas naturalmente con *Taenia ovis* confirieron un alto grado de inmunidad por calostro a sus crías; la protección pasiva vía calostro es un aspecto importante debido a la incapacidad de los recién nacidos para desarrollar una respuesta inmune completa contra antígenos de cestodos (11).

Por otro lado, se ha logrado proteger pasivamente a ratones contra, la infección con *Taenia taeniaeformis* usando calostro o inmunoglobulinas de suero obtenidos de ratones adultos infectados previamente con el parásito; esta capacidad protectora estaba asociada a IgA de calostro, a IgG de suero, y a secreciones intestinales (12). Sólo ciertos estados del parásito, como embriones y larvas jóvenes, parecen ser susceptibles a la acción de estas inmunoglobulinas (13). En experimentos de transferencia pasiva de inmunidad contra *Taenia taeniaeformis* se observó que el suero inmune era capaz de matar los parásitos después de que habían dejado el intestino, así como a las formas postoncosferales hepáticas hasta el quinto día de desarrollo; después de este tiempo, las larvas se volvían rápidamente insensibles al ataque mediado por anticuerpos dependientes del complemento (13).

Por otro lado, se ha observado que es posible inducir protección contra la cisticercosis en animales por medio de la inmunización, usando como vacunas: oncosferas, productos de secreción y excreción, y antígenos tanto oncosferales como del cisticerco completo. Así, se ha podido inducir inmunidad humoral y celular con antígenos somáticos (homogenado de larvas completas) y antígenos de secreción y excreción de larvas de *Taenia taeniaeformis* cuando eran inyectados en pequeñas cantidades con adyuvante completo de Freund (14).

Con el producto de incubación de oncosferas de *Taenia ovis* emulsificadas con adyuvante completo de Freund se indujo en borregos un alto grado de inmunidad contra la infección con huevos de *T. ovis*. Se ha reportado que una sola dosis de antígenos colectados durante el cultivo *in vitro* de larvas de *T. ovis*, emulsificados con adyuvante incompleto de Freund, fue capaz de inducir en borregos un alto grado de inmunidad que persistió por lo menos 12 meses (11, 14, 15).

Inmunizando terneras con antígenos de oncosferas de *T. saginata* mas adyuvante completo de Freund, se encontró que el esquema de inmunización más efectivo era vacunar a las vacas antes de parir y posteriormente a las terneras, reduciendo así la infección en un 78% (17). En terneras inmunizadas encontraron que con una sola inyección de oncosferas de *T. saginata* rotas por sonicación y emulsificadas en adyuvante completo de Freund se indujo un alto grado de

inmunidad contra la infección de huevos de este parásito (10). Por otro lado, ratones inmunizados con antígenos oncosferales solubles de *T. taeniaeformis*, desarrollaron protección contra la infección con huevos de *T. taeniaeformis* (10).

La capacidad del huésped para eliminar al cisticerco de sus tejidos se ha estudiado por muchos años ya que estos parásitos son capaces de sobrevivir por largos periodos en el huésped. Se ha descrito una reacción inflamatoria discreta alrededor de la larva de *Taenia solium* tanto en cerebro como en el músculo de cerdo (20). En cortes de cerebro de cerdos parasitados con cisticercos de *T. solium* se ha encontrado un exudado inflamatorio de tipo crónico rodeando al cisticerco, y tejido linfoide polarizado hacia el escólex (20, 21). Se ha descrito una reacción inflamatoria con características generales de un granuloma crónico rodeando a las larvas de *T. solium* en carne confiscada de cerdos cisticercosos, con eosinófilos degranulados en íntimo contacto con el cisticerco. La presencia de células plasmáticas, linfocitos y macrófagos sugerían una reacción posiblemente inmunológica; pero que no destruía al parásito ya que sus estructuras se observaron intactas (21).

No hay datos experimentales que se hayan publicado respecto a la relación huésped-parásito en cisticercosis por larvas de *T. solium*, excepto el trabajo de Hebert y Oberg (22), cuyos resultados sugirieron que la eliminación de los cisticercos en los animales reinfectados podrían tener una base inmunológica.

La finalidad del presente trabajo, basada en los antecedentes mencionados, fue intentar inducir inmunidad en el huésped intermediario de la cisticercosis de *Taenia solium*, usando antígenos obtenidos de la forma larvaria del parásito. La inmunidad estaría dirigida preferentemente contra el cisticerco la cual se estimo usando dos parámetros: primero, comparando el número de larvas implantadas en cerdos inmunizados y sus controles, infectados con huevos de *T. solium* y segundo, el estudio histopatológico de fragmentos de tejido de cerdos, tanto inmunizados como controles conteniendo cisticercos, con el fin de estudiar el proceso inflamatorio alrededor de las larvas y las condiciones de desarrollo de éstas en los tejidos. La respuesta celular inducida por

los antígenos de cisticercos de *T. solium* se estudió mediante la inhibición de la migración de leucocitos y la respuesta humoral, por fijación del complemento al 50 % de hemólisis. En un segundo experimento, usando también antígenos cisticercos, se intentó inducir inmunidad en cerdos naturalmente parasitados, con el objeto de verificar si la inmunidad inducida era capaz de destruir a las larvas implantadas.

## II. Material y métodos

### 1. *Animales*

Para un experimento se compraron 11 cerdos híbridos (F-1), de las razas Yorkshire y Landrase, que pesaban 101 kg. Antes de su uso se comprobó mediante pruebas serológicas que estaban libres de cisticercos. En otro experimento se usaron 3 cerdos parasitados naturalmente con cisticercos de *T. solium*. Antes de iniciar los experimentos, los cerdos se instalaron en la sección correspondiente en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M. y se les administró agua y alimento ad libitum.

### 2. *Obtención de antígenos*

Para obtener antígenos, se siguió el método de Tato y cols. (23) con ligeras modificaciones. A partir de carne de cerdo decomisada en el rastro de Xochimilco, México, se disecaron 4000 cisticercos, los cuales se lavaron con solución 0.15 M de cloruro de sodio, se congelaron y descongelaron una vez y se volvieron a lavar 3 veces más con solución salina isotónica estéril por centrifugación a 1500 xg durante 10 min. en centrifuga Sorvall RC-2B refrigerada y luego se homogeneizaron por 3 seg., en un Omni-Mixer Servall. Las larvas rotas se centrifugaron a 1500 xg por 10 min., el sedimento se suspendió en amortiguador de fosfatos de sodio 0.02 M, pH 7,4 que contenía 0,4% de desoxicolato de sodio (Merck) y 20 ug/me de desoxirribonucleasa I de páncreas (Merck) y se molió con polvo de vidrio en un mortero durante 20 min., a temperatura ambiente.

El sobrenadante se decantó cuidadosamente y se centri-

Ciencia Veterinaria 41 1987 67  
fugó a 30000 xg a 4<sup>0</sup> C durante 30 min en centrífuga Spinco. El sobrenadante se decantó y dializó contra varios cambios de amortiguador de fosfatos de sodio 0.02 M pH 7.0, durante 6 días. Después, se centrifugó a 30,000 xg durante 20 min., y el sobrenadante se liofilizó y almacenó a 4<sup>0</sup> C.

El extracto antigénico liofilizado se resuspendió en agua deionizada estéril y la concentración de proteína se determinó por el método de Lowry y cols. (24).

### 3. Inmunizaciones

Para el primer experimento, se inmunizaron 6 cerdos con 120 ug., de proteína del extracto antigénico resuspendidos en 0.1 ml de solución salina isotónica estéril por vía subcutánea. Se les administró un refuerzo 7 días después de la primera inmunización. Los cerdos controles se inocularon con solución salina estéril en las mismas condiciones que los cerdos experimentales.

Para el segundo experimento, 2 de los cerdos con cisticercos se inocularon con 250 ug., de proteína del extracto antigénico resuspendidos en 0.1 ml de solución salina isotónica estéril por vía subcutánea. Una segunda inyección se les administró 7 días mas tarde. El cerdo restante con cisticercos se inoculó con solución salina estéril en las mismas condiciones y se usó como control.

### 4. Obtención de huevos de *T. solium*

Pacientes sospechosos de estar parasitados con *Taenia solium*, se trataron con 2 g., de N-(2 cloro, 4 nitrofenil) -5 cloro salicilamida (Bayer) en una sola dosis y en ayunas; 2 hrs., después se les dió un laxante salino. En el caso de eliminación de tenias, éstas se lavaron con agua corriente y luego se transfirieron a frascos con solución de glicerol al 40% en agua bidestilada, se llevaron al laboratorio y se almacenaron a 20° C hasta su identificación.

Los criterios que se utilizaron para la identificación fueron: la presencia de la doble corona de ganchos en el escolex y el número de ramas uterinas en los proglótidos grávidos. Con este propósito, el escólex y algunos proglótidos grávi-

dos se deshidrataron con alcoholes; después se tiñeron con una solución que contenía agua destilada (35 ml.), hidrato de cloral (20 g), goma arábica (20 g), glicerina (20 ml.), jarabe de glucosa (3 ml) y fucsina básica (10 gotas); se montaron siguiendo la técnica de Doetchman (1) y se observaron por microscopia óptica. Una vez identificados como *Taenia solium*, 8 proglótidos grávidos se rompieron con la ayuda de 2 agujas de disección y un microscopio estereoscópico; los detritos se separaron y los huevos se transfirieron con pipetas Pasteur a un tubo de polipropileno que contenía una solución de glicerol al 10% en agua destilada. Se agitaron vigorosamente, se contaron 6 veces en un hemocitómetro, se calculó la media y el error estándar.

### 5. Pruebas de inmunidad

Para probar la inmunidad en el primer experimento, 15 días después de la segunda inmunización, los 6 cerdos inmunizados y los 5 controles se infectaron por vía oral usando una pipeta Ependorff con 8400 huevos de *T. solium* resuspendidos en 0.5 ml de glicerol al 10% directamente instilados en la garganta de cada animal. A partir del día 24 después de la infección, 1 ó 2 cerdos se sacrificaron semanalmente y se examinaron todos sus músculos esqueléticos así como el corazón y la lengua, por cortes seriados finos (2-3 mm de espesor) para localizar cisticercos. Los tejidos se revisaron completamente y se contaron todos los cisticercos de todos los cerdos.

En el segundo experimento, con el propósito de estudiar la cinética de la reacción inflamatoria alrededor de las larvas de animales naturalmente parasitados e inmunizados, uno de los cerdos inmunizados se sacrifico a las 4 semanas y el otro a las 8, después de la primera inmunización. Una vez sacrificados, se les examinaron todos los músculos esqueléticos, cerebro, corazón y lengua en las mismas condiciones del experimento anterior.

### 6. Estadística

Los resultados del primer experimento se evaluaron estadísticamente usando la prueba de T de Student.

### *7. Estudios histopatológicos*

Para los estudios de histopatología, se disecaron larvas de los tejidos (músculos, lengua y corazón) de cerdos tanto controles como inmunizados y se extrajeron también piezas de músculo conteniendo cisticercos, se fijaron en formaldehído al 10% y se incluyeron en parafina. Se hicieron cortes de 6  $\mu$ g de grosor y se tiñeron con hematoxilina y eosina.

En el caso de los cerdos parasitados naturalmente e inmunizados, además del material anterior, se incluyeron cisticercos de cerebro, así como fragmentos de este órgano conteniendo larvas.

### *8. Eosinofilia*

Para estimar la eosinofilia en los cerdos parasitados naturalmente, se obtuvo sangre periférica de la base de la oreja de cada cerdo antes y después de la inmunización; cada semana durante 8 semanas, se hicieron frotis, se tiñeron con Giemsa, se observaron y cuantificaron los eosinófilos por microscopía óptica.

### *9. inhibición de la migración de leucocitos*

La prueba de inhibición de la migración de los leucocitos (LIF) se llevó a cabo en células de sangre periférica de cada cerdo a 3 intervalos, siguiendo el método descrito (25). La primera prueba fue un control realizado antes de que cualquier procedimiento experimental se llevara a cabo; la segunda, justo antes de la infección con huevos de *T. solium* y la última al momento del sacrificio de cada animal.

### *10. Titulación de anticuerpos*

Se cuantificaron anticuerpos utilizando la prueba de fijación de complemento al 50% de hemólisis (26). Se utilizaron para este propósito sueros obtenidos de los cerdos antes de la inmunización con el extracto antigénico de cisticercos y en el momento del sacrificio.

### 11. *Determinación de pesos moleculares*

El peso molecular de las proteínas del extracto antigénico de larvas de *T. solium* se estimó por electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (27). Las proteínas de referencia usadas para estimar los pesos moleculares fueron: galactosidasa (116000 d), albúmina bovina (66000 d), albúmina de huevo (45000 d), gliceraldehido 3. fosfato deshidrogenasa (36000 d), anhidrasa carbónica (29000 d), tripsinógeno (24000 d), inhibidor de la tripsina (20100 d) y lactoalbúmina (14200 d) (Sigma).

### 12. *Antisuero*

Se preparó antisuero anti-extracto antigénico de cisticerco de *T. solium*, inoculando 2 conejos blancos, de la raza Nueva Zelanda, con 120 ug de proteína del extracto antigénico resuspendidos en 0.1 ml de agua desionizada estéril y mezclados con hidróxido de aluminio (Melox 1 :1) como adyuvante. Los conejos se inocularon semanalmente durante 6 semanas por vía intradérmica, usando adyuvante solo las 2 primeras semanas. Siete días después de la última inmunización, los conejos se sangraron por la vena de la oreja, la sangre se dejó coagular 3 hrs. a 4<sup>0</sup> C y el suero se separó por centrifugación.

### 13. *Inmunoelectroforesis*

Para saber cuantos componentes inmunológicos contenía el extracto de larvas de *T. solium*, se realizó una microtécnica de inmunoelectroforesis (28). Se usaron diferentes concentraciones del extracto antigénico de cisticercos de *T. solium* resuspendidos en 10 ul de amortiguador de fosfatos de sodio 0.05 M, pH 8.6. La electroforesis se llevó a cabo con 2.5 mA por portaobjetos durante 2 hrs, después se depositaron 200 ul de antisuero antiextracto de larvas de *T. solium* en cada canal y se incubaron en cámara húmeda 48 hrs. a temperatura ambiente. Los geles se lavaron, secaron, tiñeron y destiñeron en la forma habitual.

*I. Primer experimento* **III. Resultados**

El análisis de los cerdos controles e inmunizados e infectados con huevos de *Taenia solium*, reveló que el número de cisticercos implantados en los primeros fue mayor que en los animales inmunizados. Los resultados se resumen en el Cuadro 1, en el que se observa que en 2 de los cerdos inmunizados no se encontraron cisticercos y en el resto se encontraron 71 cisticercos en total, mientras que en el grupo control se encontró un total de 397 larvas. El porcentaje de cisticercos implantados sobre el número de huevos inoculados fue de 0.14% en los cerdos inmunes y de 0.945 en los controles.

**CUADRO 1**

PORCENTAJE DE CISTICERCOS IMPLANTADOS EN CERDOS INMUNIZADOS CON 2 DOSIS DE 120 UG DE ANTÍGENOS DE LARVAS DE *TAENIA SOLIUM* Y EN CERDOS CONTROLES, DESPUÉS DE LA INFECCIÓN CON 8400 HUEVOS DE *T. SOLIUM*

Cerdo No.	CERDOS INMUNIZADOS		CERDOS CONTROLES	
	Sacrificio (días después infección)	Cisticercos implantados No. (%)'	Sacrificio (días después infección)	Cisticercos Implantados No. (%) *
1	24	0 0.0	32	50 0.59
2	60	2 0.02	45	59 0.70
3	65	0 0.0	79	70 0.83
4	72	7 0.08	87	2 0.02
5	96	45 0.53	93	216 2.57
6	99	17 0.20	—	—
	Total:	71 0.14	Total:	397 0.945

\*% de larvas implantadas = (número de cisticercos implantados/ número de huevos administrados) X 100.

**Nota:** Diferencia estadística entre las medias de cisticercos de cerdos inmunizados y controles, P < 0.025.

En el grupo de cerdos inmunizados se encontró una media de 12 cisticercos por cerdo, mientras que en el control una media de 79.4 cisticercos por cerdo.

La respuesta celular en los cerdos inducida por los antígenos de las larvas de *T. solium* se analizó mediante la prueba de inhibición de la migración de leucocitos. Los resultados se observan en el Cuadro 2.

La administración de antígenos de cisticercos indujo un incremento en el por ciento de inhibición de la migración de leucocitos que alcanzó niveles altos antes de la infección. Después de la infección con huevos de *T. solium*, los niveles de respuesta celular se incrementaron ligeramente y permanecieron altos hasta el momento del sacrificio. Los animales controles no dieron respuesta celular antes del desafío con huevos de *T. solium* y después de la infección desarrollaron una respuesta menor que la de los cerdos inmunizados (Cuadro 2).

CUADRO 2

INHIBICIÓN DE LA MIGRACIÓN DE LEUCOCITOS A ANTÍGENOS DE *CYSTICERCUS CELLULOSAE*. RESPUESTAS COMPARATIVAS DE LEUCOCITOS DE CERDOS INMUNIZADOS CON ANTÍGENOS DE LARVAS DE *T. SOLIUM* Y CERDOS CONTROLES

<i>Cerdo</i>	% DE INHIBICIÓN DE LA MIGRACIÓN DE LEUCOCITOS			
	CERDOS INMUNES		CERDOS CONTROLES	
<i>No.</i>	<i>Antes de la</i> <i>infección</i>	<i>Antes del</i> <i>sacrificio</i>	<i>Antes de la</i> <i>infección</i>	<i>Antes del</i> <i>sacrificio</i>
1	85	95	5	65
2	75	85	0	ND
3	63	75	0	35
4	90	95	0	53
5	0	29	3	45
6	63	ND		

**ND = no determinado.**

La presencia de anticuerpos no fue detectada en ningún animal antes del desafío. En el momento del sacrificio, la prueba de fijación de complemento al 50% de hemólisis evidenció la presencia de anticuerpos en ambos grupos no habiendo diferencia significativa entre ellos.

Los estudios histopatológicos mostraron que los cisticercos implantados en animales no inmunes estaban bien preservados, aunque rodeados de una reacción inflamatoria discreta, constituida por monocitos, linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos (Fotografías 1 y 2). En algunos sitios, estas células se observaban en contacto directo con la parte más externa de los tegumentos del parásito, los cuales aparentemente estaban intactos.

En contraste, 8 de 45 y 11 de 17 de los cisticercos obtenidos de los cerdos inmunizados números 5 y 6, estaban completamente degenerados y habían perdido su apariencia normal, teniendo un aspecto de material caseoso de color ámbar rodeado por una cápsula gruesa firmemente adherida a la larva. En general, en los cerdos inmunes, más del 40% de las larvas estaban degeneradas. Microscópicamente, estas larvas estaban rodeadas de una reacción inflamatoria mucho más intensa que la inducida por las larvas en los cerdos controles.

El proceso inflamatorio que rodeaba a las larvas de los cerdos inmunes estaba formado por varias capas celulares; la interna, localizada principalmente en los polos de la larva, era muy gruesa, densa y compuesta de eosinófilos, monocitos, células plasmáticas y linfocitos. Muchos eosinófilos habían infiltrado el tegumento del parásito. La capa intermedia estaba compuesta por material fibroso diseminado entre las células inflamatorias. Y finalmente, en la capa externa de esta reacción inflamatoria intensa, se encontraron fibras musculares rotas e infiltradas por células mononucleares, eosinófilos y fibroblastos (Fotografías 3 y 4). La larva en esta preparación estaba completamente destruida y la mayoría de sus estructuras habían desaparecido; sin embargo, los ganchos, el rostelo necrosado y los corpúsculos calcáreos podían ser vistos todavía, como se observa en la Fotografía 5.

Una larva obtenida del cerdo inmune N° 5 que estaba completamente destruida, puede ser observada en la foto-

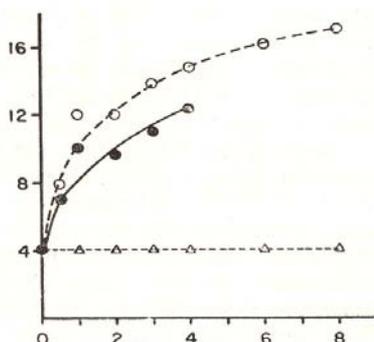
grafía 6. En este caso, la reacción inflamatoria fue también muy intensa y sus características son las de una reacción granulomatosa, la cual rodea parcialmente a la larva degenerada. Esta reacción estaba formada por 3 capas celulares. La capa interna estaba compuesta de eosinófilos, y en menor grado por células mononucleares; la capa intermedia por células epitelioides, monocitos y eosinófilos; y la externa por linfocitos, muchos de los cuales estaban aglomerados en un polo de la larva (Fotografía 6). Además, las fibras musculares estaban infiltradas por todo tipo de células inflamatorias como las descritas anteriormente. Los remanentes de la larva estaban invadidos por un infiltrado abundante que contenía principalmente eosinófilos y células mononucleares (Fotografía 6). En este caso, las estructuras de la larva estaban destruidas y digeridas por las células inflamatorias (Fotografía 7).

Otros cisticercos de cerdos inmunizados que macroscópicamente no parecían estar degenerados fueron también estudiados por microscopia. Todos estos, mostraron algún grado de infiltración por eosinófilos y células mononucleares, así como signos de daño en sus estructuras como se puede observar en la Fotografía 8.

## *2. Segundo experimento*

Los frotis de sangre periférica de los 3 cerdos con cisticercos mostraron un 4% de eosinófilos antes de la inmunización, después de ésta, los eosinófilos se incrementaron hasta el 12 y 17% en estos cerdos, mientras que permanecieron en 4% en el cerdo control durante todo el periodo experimental (Fig. 1).

El cerdo sacrificado 4 semanas después de la primera inmunización estaba masivamente parasitado, los cisticercos eran demasiados para poder cuantificarlos y estaban diseminados en casi todos los músculos esqueléticos. En el corazón, se encontraron muchas larvas debajo del pericardio; en el cerebro, las larvas se localizaron principalmente en la corteza y el espacio subaracnoideo. En la lengua se encontraron muchas larvas, Microscópicamente, el fluido de las vesículas de todos los cisticercos estaba turbio.



**FIG. 1.** Cinética de la eosinofilia de sangre periférica en cerdos infectados naturalmente con larvas de *T. solium*. Cerdos inmunizados (O , ●.) y cerdo control (Δ).

En general, el estudio histopatológico mostró que todos los cisticercos estaban infiltrados por eosinófilos, tenían daño estructural y había una intensa infiltración celular rodeándolos. Este infiltrado celular estaba compuesto por eosinófilos, macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, muchas de estas células estaban incluidas en una matriz de colágena. Una capa densa de eosinófilos se encontraba en íntimo contacto con la parte externa de la vesícula de la larva. Algunos cisticercos estaban completamente destruidos. Un ejemplo representativo se observa en la Fotografía 9 donde tenemos un corte a través de una larva obtenida de cerebro, mostrando al cisticerco parcialmente rodeado por una intensa reacción inflamatoria y una densa capa de eosinófilos en íntimo contacto con la vesícula. Más externamente se encontraron linfocitos, monocitos, células plasmáticas y fibroblastos incluidos en un gran depósito de colágena. El daño fue evidente en la vesícula, principalmente en áreas donde las células inflamatorias eran más numerosas. Este daño puede ser descrito como un proceso degenerativo que involucra el tegumento de la vesícula, el cual se había contraído formando una superficie ondulada. En contraste, el tegumento de la vesícula estaba aparentemente intacto en aquellas áreas donde las células inflamatorias eran menos abundantes (Fotografía 9).

En otro corte, se observa el daño en las estructuras de una larva; muchos eosinófilos han infiltrado el canal espiral, el tegumento de la larva está dañado en muchas áreas y el parénquima está degenerado (Fotografía 10).

En otros casos, la reacción inflamatoria fue menos pronunciada que la descrita anteriormente. Se observaron 2 capas celulares que formaban el granuloma: la capa interna estaba compuesta de eosinófilos y monocitos y la externa de monocitos, células plasmáticas células epitelioides, linfocitos y eosinófilos, esparcidos todos estos en una matriz de colágena. Más externamente, las fibras musculares estaban infiltradas por linfocitos y eosinófilos. El tegumento de la vesícula se hallaba seriamente alterado, mostrando muchas vesículas membranales que parecían desprenderse de él.

Otros cisticercos tomados de este cerdo, mostraron daño generalizado del tegumento e infiltración de eosinófilos en el canal espiral de la larva; muchas de las células del huésped estaban en íntimo contacto con la parte más externa del tegumento de la larva. Las ventosas se observaban severamente dañadas.

La necropsia del cerdo control mostró que este animal estaba masivamente parasitado. Todos los cisticercos extraídos de este cerdo estaban aparentemente bien preservados. La necropsia del cerdo sacrificado 8 semanas después de la primera inmunización, mostró gran cantidad de larvas en casi todos los músculos esqueléticos, en el cerebro y en la lengua. El cerebro contenía 42 cisticercos, mientras que el corazón no estaba parasitado. Macroscópicamente, todos los cisticercos analizados del cerdo inmunizado mostraron turbidez en su fluido vesicular y eran más pequeños que las larvas del cerdo control.

El análisis histopatológico de las larvas del cerdo inmunizado, sacrificado 8 semanas después, mostró que las reacciones granulomatosas fueron mas intensas que aquellas observadas 4 semanas después de la inoculación. Una reacción inflamatoria representativa puede observarse en la Fotografía 11, en la que el granuloma fue más prominente en un polo del parásito. Este granuloma estaba compuesto de varias capas celulares; la capa interna consistía de eosinófilos en contacto directo con o dentro de la vesícula de la larva, al-

gunos eosinófilos se habían degranulado (Fotografía 12). Los restos de la larva estaban afuera de la vesícula y rodeados por numerosos eosinófilos. Pocas estructuras del parásito permanecían reconocibles, casi todas estaban completamente destruidas y solo los restos de la vesícula podían ser vistos. La capa intermedia del granuloma estaba compuesta de material fibroso con eosinófilos diseminados y muchas células plasmáticas y epitelioides (Fotografía 11). La capa más externa estaba formada por linfocitos y monocitos, con unos cuantos eosinófilos diseminados (Fotografías 11 y 12).

Otras larvas estaban completamente destruidas, como se observa en la Fotografía 13 que muestra los restos de una larva que estaban fuera de la vesícula. Los remanentes estaban compuestos de material caseoso rodeado por una gran masa de eosinófilos. El granuloma era como el descrito anteriormente. Más del 90% de las larvas se encontraron en varios estados de degeneración.

La Fotografía 14 muestra una larva en la que se observan algunos eosinófilos que han invadido el canal espiral y que están en íntimo contacto con el tegumento de una ventosa. Algunos eosinófilos se han degenerado y degranulado, se observan gránulos en las superficies rotas de la ventosa. Las estructuras de esta larva muestran signos de deterioro, los tegumentos están rotos en muchos sitios y la vacuolización se observa en el citoplasma distal (tegumento). También se observan cavidades debajo del tegumento, así como muchos espacios vacíos entre las fibras de la ventosa.

Los cortes de cisticercos del cerdo control mostraron larvas bien desarrolladas y rodeadas por una reacción inflamatoria discreta. Las estructuras larvales estaban intactas, el tegumento de la larva parecía estar ligeramente dañado en varios sitios y el canal espiral estaba invadido por unos cuantos eosinófilos.

Con el fin de caracterizar el extracto antigénico obtenido de larvas de *T. solium*, se realizaron electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio e inmunoelectroforesis. Los resultados de la electroforesis revelaron la existencia de, por lo menos, 24 componentes proteicos: 5 de los cuales tienen pesos moleculares superiores a 116000 daltones y los restantes, pesos moleculares que van

de 13000 a 116000. Desde el punto de vista antigénico, se evidenciaron por inmunoelectroforesis, un mínimo de 8 sistemas antígeno-anticuerpo del complejo antigénico obtenido de cisticercos de *T. solium*, que migraron hacia ambos lados del sitio de aplicación de la muestra.

#### IV. Discusión

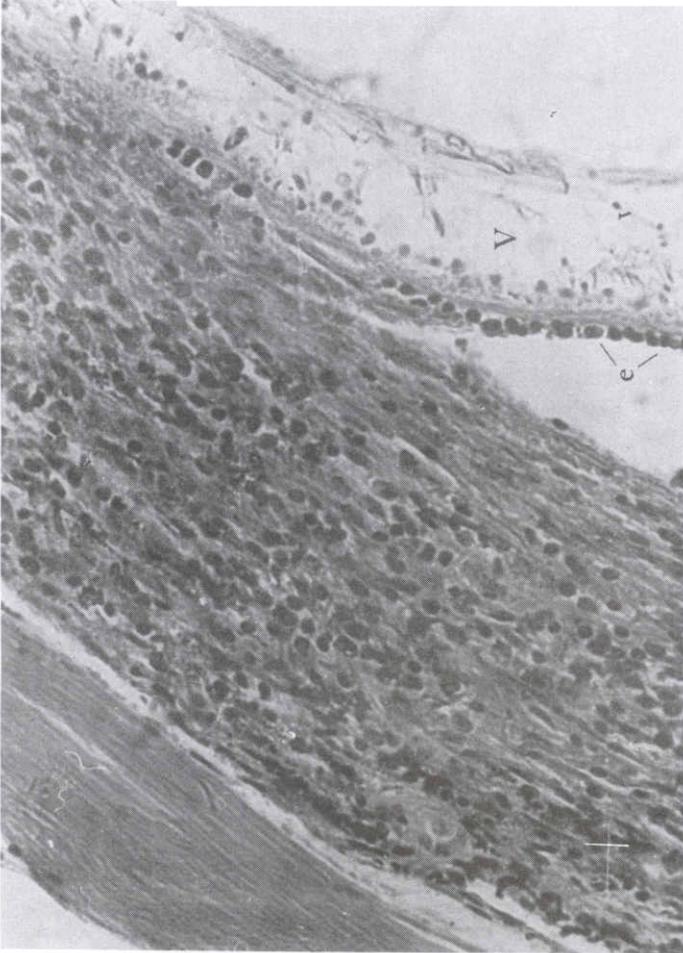
Los resultados mostraron que se indujo un alto grado de inmunidad en cerdos contra la infección con huevos de *Taenia solium*, usando un complejo inmunológico obtenido de larvas de *T. solium*. Se ha encontrado inmunidad contra cisticercosis de otras especies de *Taenia* en ratas, ovejas y terneras (14, 15, 16, 17, 18). Sin embargo, es importante hacer notar que en todos estos trabajos emulsificaron sus antígenos con adyuvante completo o incompleto de Freund, mientras que en estos experimentos los antígenos indujeron protección sin el uso de adyuvantes.

En los presentes resultados, se observó una diferencia significativa entre la media de larvas encontradas en cerdos inmunizados y controles, Este hallazgo sugiere que los procesos inmunes fueron capaces de eliminar muchas larvas antes de su implantación, quizá debido a la acción de los anticuerpos y el complemento, porque es conocido que las larvas de cestodos son susceptibles a la acción de anticuerpos y complemento solo en estadios tempranos, ya que en los cestodos que se han enquistado se encuentran altos niveles de un factor anticomplementario en el fluido del quiste (13).

Las observaciones histopatológicas en los cisticercos de cerdos controles fueron similares a las descritas en otros reportes (20, 21). Las mismas características del proceso inflamatorio han sido descritas en cisticercosis humana (29, 30). Márquez-Monter (31), encontró que las lesiones microscópicas en el sistema nervioso central varían de acuerdo a la viabilidad de los cisticercos, así cuando el parásito es viable, prácticamente no hay reacción inflamatoria y solamente se observan algunos fibroblastos. Por otro lado, cuando el parásito muere, se ha descrito infiltrado pleomórfico con neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas, histiocitos y células



FOTOGRAFÍA 1. Corte del músculo esquelético de cerdo control con una larva de *T. solium* de 12 semanas de desarrollo. La vesícula está rodeada de una reacción inflamatoria característica; sin embargo, se observa intacta y bien preservada. Las demás estructuras de la larva se observan completamente desarrolladas e intactas. (25x).

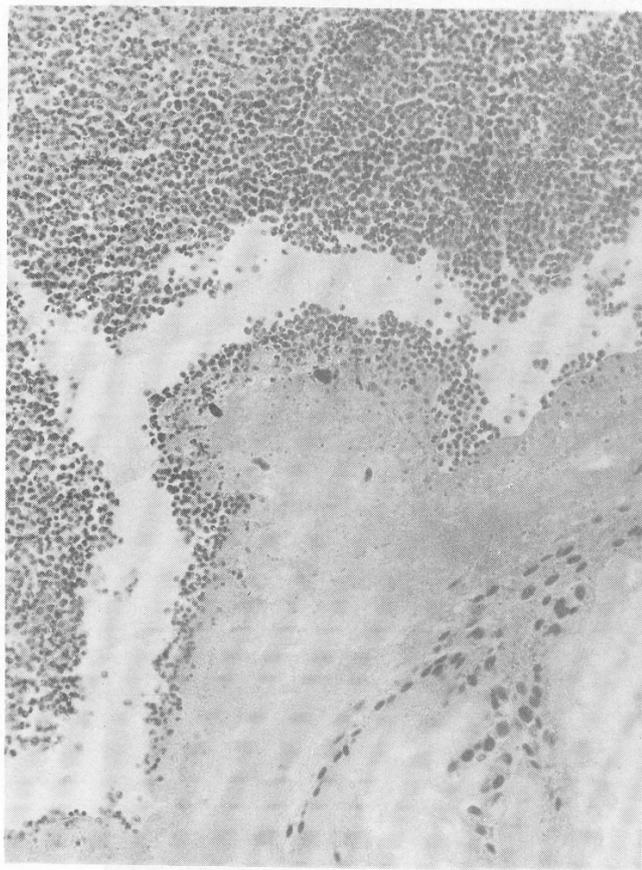


FOTOGRAFÍA 2. Porción de la fotografía 1, donde se puede observar a la derecha la vesícula del parásito intacta y bien preservada, con algunos eosinófilos en contacto con ella, hacia el centro una reacción inflamatoria discreta donde las células están esparcidas en una matriz de colágena y a la izquierda tejido muscular (250x). V = vesícula, e = eosinófilos.



FOTOGRAFÍA 3. Corte de un cisticerco de 12 semanas de desarrollo obtenido de un cerdo inmune. La larva degenerada está rodeada por una reacción inflamatoria intensa. La vesícula está degenerada y completamente infiltrada por eosinófilos. El parénquima está completamente necrosado (25x).

## Cisticerco de *T. solium*

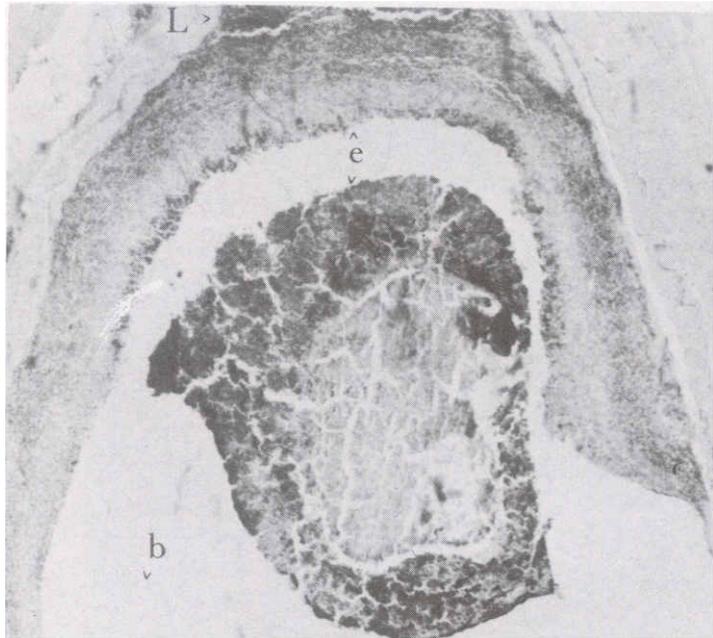


FOTOGRAFÍA 4. Porción de la fotografía 3 mostrando la reacción inflamatoria intensa que rodea al parásito, cuya vesícula se observa completamente degenerada e infiltrada por eosinófilos, el parásito está totalmente necrosado y caseificado (100x).

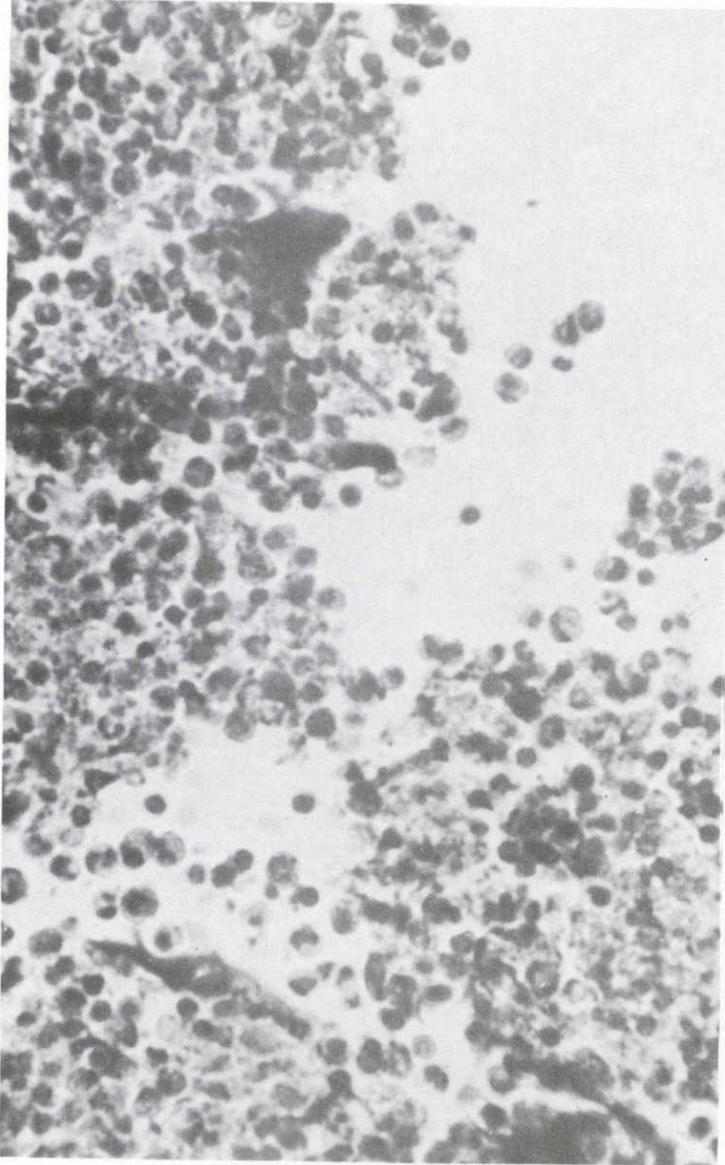


Fotografía 5. Porción de la fotografía 3 mostrando la destrucción completa del escólex, rostelló, ventosas, parénquima y tegumento del parásito. Los ganchos en el rostelló necrosado pueden todavía ser observados en el parénquima destruido (100x).

## Cisticerco de *T. Solium*

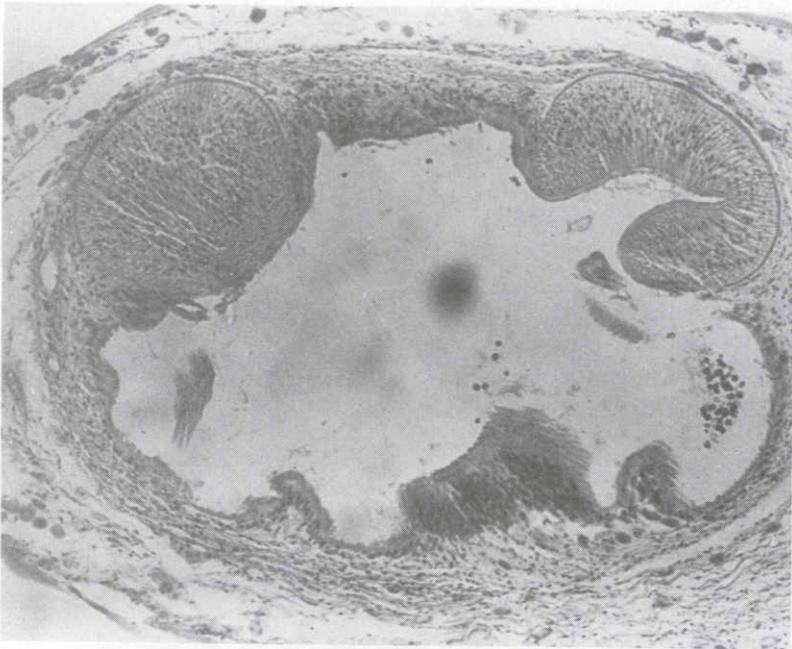


FOTOGRAFÍA 6. Corte de un cisticerco encontrado en músculo esquelético de un cerdo inmunizado. Los remanentes de la larva se observan entre una gran masa de eosinófilos y células mononucleares. Las 2 terceras partes de este proceso están rodeadas de una reacción inflamatoria intensa con una capa interna compuesta de eosinófilos y células mononucleares. Esta reacción granulomatosa está también formada por linfocitos, células plasmáticas, epitelioides y fibroblastos, muchos empaquetados en tejido conectivo. L = linfocitos; b = remanentes de la vesícula; e = eosinófilos (25x).

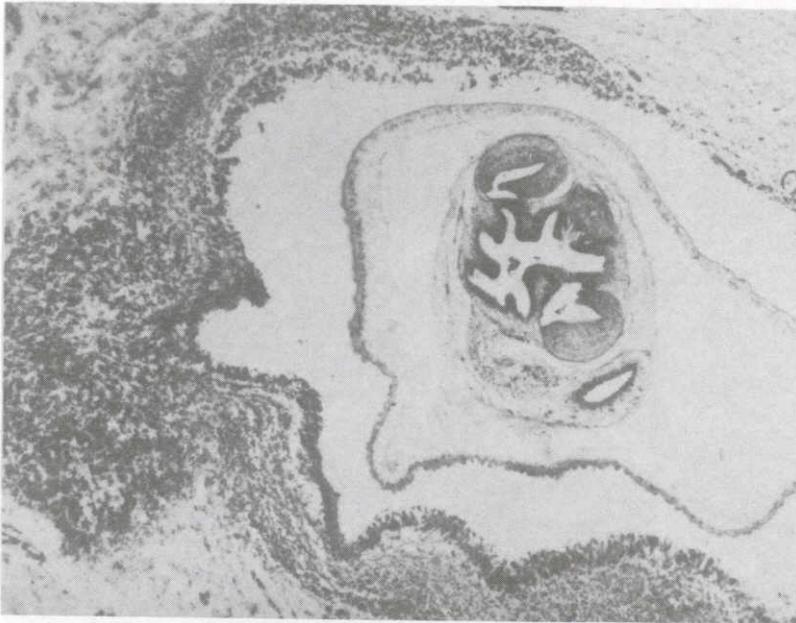


FOTOGRAFÍA 7. Porción de la fotografía 6, en la que se observa que ya no hay estructuras del parásito sino solamente células inflamatorias principalmente eosinófilos (400x).

## Cisticerco de *T. Solium*

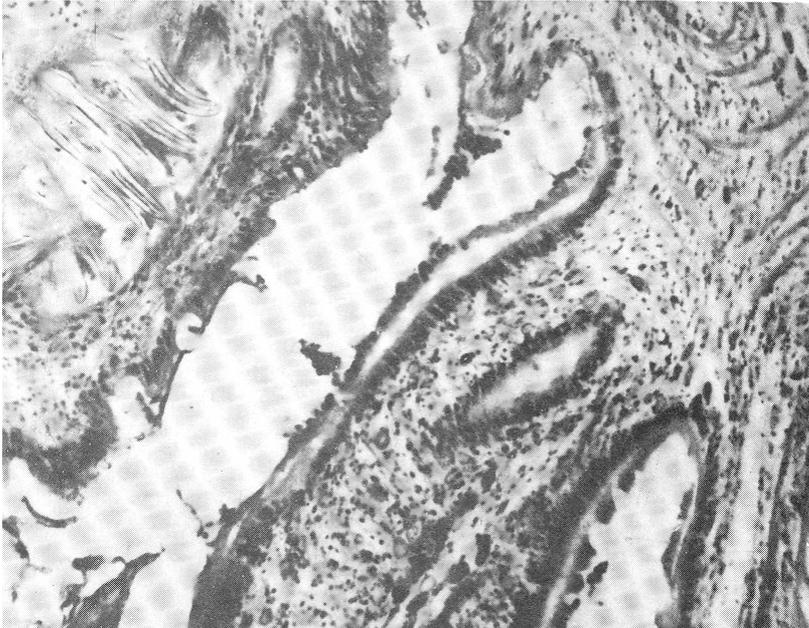


FOTOGRAFÍA 8. El corte muestra los restos de una larva de *Taenia solium* obtenida de un cerdo inmunizado, los restos están en un estado muy avanzado de necrosis y digestión, se nota en el interior infiltración por eosinófilos (100x).

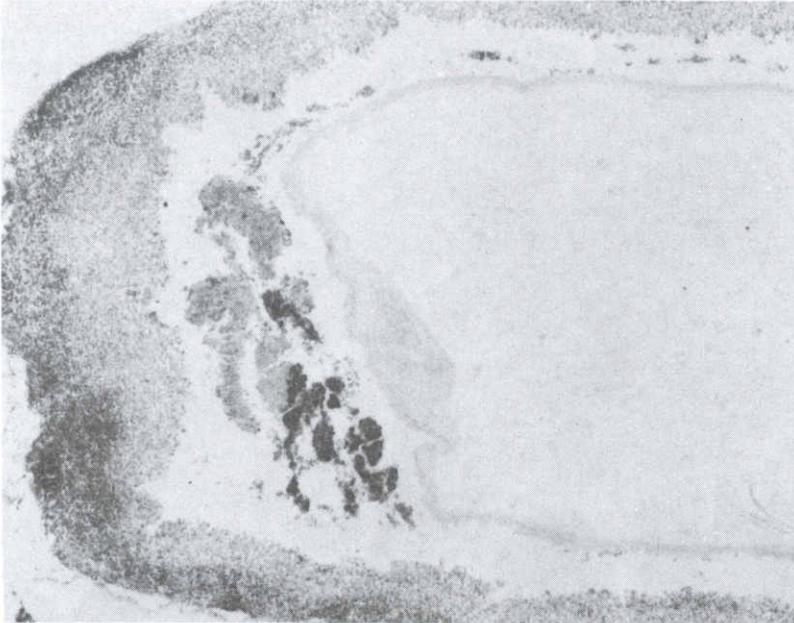


FOTOGRAFÍA 9. Corte a través de una larva de *Taenia solium* obtenido del cerebro de un cerdo inmune 4 semanas después de la primera inmunización. Las estructuras larvales muestran signos de deterioro, principalmente en la superficie externa de la vesícula y en el tegumento de la larva. La larva está rodeada por una reacción granulomatosa intensa. Una capa densa de eosinófilos está en contacto directo con la vesícula. Muchos eosinófilos pueden ser vistos en el canal espiral de la larva (25x).

### Cisticerco de *T. Solium*



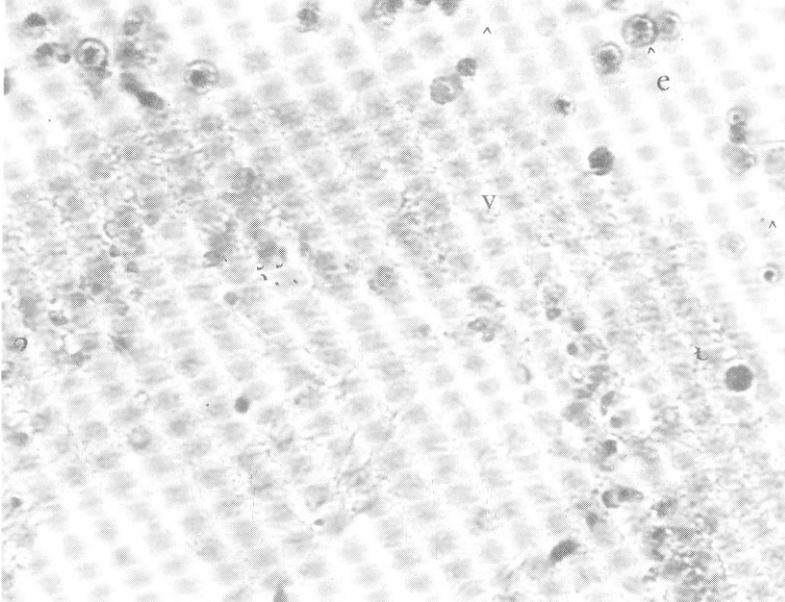
FOTOGRAFA 10. Se muestra la degeneración del tegumento de una larva de *Taenia solium* y la necrosis en algunas partes del parénquima. Muchos eosinófilos pueden ser vistos en el canal espiral del gusano (100x).



FOTOGRAFÍA 11. Corte de una larva de *T. solium* completamente destruida del cerdo sacrificado 8 semanas después de la inmunización. Se nota la intensa reacción granulomatosa rodeando los restos de la larva, los cuales están afuera de la vesícula y rodeados por una gran masa de eosinófilos (25x). En la parte inferior se observa que los restos de la larva están infiltrados por muchos eosinófilos.

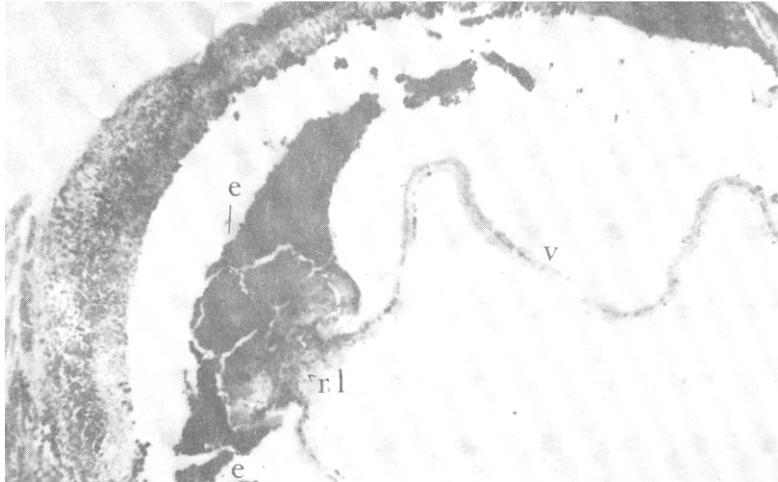
## Cisticerco de *T. Solium*

15.



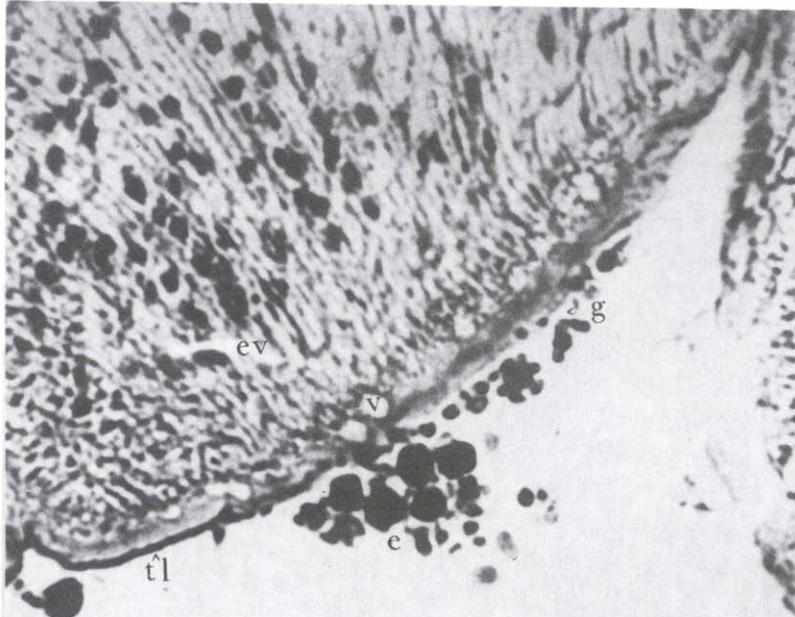
FOTOGRAFÍA 12. Una ampliación de la Fotografía 11 mostrando una porción de la vesícula degenerada infiltrada por eosinófilos, algunos de los cuales se habrán degranulado (400x). v = vesícula; e = eosinófilos flechas = gránulos de los eosinófilos.

16.



FOTOGRAFÍA 13. Corte de una larva de *T. solium* totalmente destruida de un cerdo 8 semanas después de la inmunización. Se notan los restos de la larva afuera de su vesícula y rodeados de una gruesa masa de eosinófilos. Una intensa reacción granulomatosa rodea los restos de la larva, la vesícula esta degenerada (100x). e = eosinófilos; rl = restos de la larva; v = vesícula.

## Cisticerco de *T. Solium*



FOTOGRAFÍA 14. Corte de una larva de *Taenia solium* del cerdo sacrificado 8 semanas después de la inmunización donde se muestra una porción de la ventosa. Los tegumentos de la larva están rotos en muchos sitios y pueden ser vistas grandes vacuolas, hay varias cavidades debajo de esta estructura y espacios vacíos entre las fibras de las ventosas. Los eosinófilos y sus gránulos están en íntimo contacto con la membrana externa del tegumento larval y sus membranas rotas (450x). e = eosinófilos; g = gránulos; v ::::: vacuolas; ev = espacios vacíos; tl= tegumento de la larva.

gigantes multinucleadas del tipo de cuerpo extraño, además de fibroblastos y fibras de colágena en grado variable y de acuerdo a la intensidad de la inflamación.

En el presente estudio los cisticercos obtenidos de los cerdos inmunizados estaban rodeados por un infiltrado celular más intenso que el observado en cerdos no inmunes. Es importante hacer notar que esta infiltración fue producida en menos de 3 meses. La intensidad inflamatoria de este granuloma y su papel en la destrucción de los cisticercos en tan corto plazo no habían sido descritos antes. Otros piensan con base en las evidencias histopatológicas en animales y humanos, que el daño al parásito puede ocurrir sólo después de largos periodos y que probablemente depende de múltiples factores; pero no mencionan cuales (21).

La presencia de varios tipos de células y su gran número formando el granuloma deben ser el resultado de las actividades efectoras de estas células inducidas por los antígenos del cisticerco para rechazar al parásito.

Se ha enfatizado que los macrófagos son las únicas células que pueden actuar directamente como efectoras en la inmunidad celular antimicrobiana, debido a que estas células pueden ponerse en contacto directo con los microbios, fagocitarlos, inhibirlos y destruirlos (32). Sin embargo, en este trabajo se observó que los eosinófilos fueron las células que estaban en contacto directo con el cisticerco, que lo infiltraron y que probablemente lo destruyeron. Apoyando esta idea, encontramos que Hsü (33) estableció que los eosinófilos pueden desempeñar un papel importante en la destrucción de la cercaria de *Schistosoma japonicum* y Butterworth y cols. (34, 35) observaron que el eosinófilo fue la principal célula en sangre periférica capaz de producir daño dependiente de anticuerpos e independiente de complemento a la esquistosomula de *Schistosoma mansoni* y que preparaciones enriquecidas de células mononucleares o neutrófilos; pero sin eosinófilos eran inactivas.

La inhibición de la migración de leucocitos pudiera ser una expresión de la hipersensibilidad de tipo retardado inducida por los inmunógenos de cisticercos en *T. solium* los cuales pudieran estar correlacionados con la formación del granuloma. Boros y cols. (36) observaron que en animales

sensibilizados con antígenos solubles derivados de huevos de *S. mansoni*, la formación del granuloma correlacionaba bien con otros parámetros de hipersensibilidad de tipo retardado, incluyendo la inhibición de la migración de macrófagos.

Los resultados presentes muestran que inmunógenos importantes pueden ser extraídos de larvas de *T. solium* por el método de Tato y col. (23). Este concepto es apoyado por el hallazgo de una ribonucleoproteína de *Salmonella typhi* involucrada en inmunidad obtenida por este método (37).

Los datos obtenidos muestran también que los procesos inmunes, inducidos con el extracto antigénico de larvas de *T. solium*, en cerdos naturalmente parasitados, fueron evidentemente mediados por células. Esta respuesta estuvo caracterizada por reacciones granulomatosas intensas que se observaron alrededor de las larvas en varios estados de degeneración.

Es importante hacer notar que el infiltrado celular en el granuloma que rodea la larva, debería ser interpretado como el resultado de una acción combinada de todas las células que están involucradas en estos procesos. Otro hallazgo importante fue que el incremento de eosinófilos en la sangre parece ser una fuente importante de eosinófilos para el granuloma. Este hallazgo se puede relacionar con los resultados de Colley (38) en que células linfoides de animales infectados con *S. mansoni* producen una linfocina promotora de la estimulación de eosinófilos. También algunos productos derivados de los parásitos pueden influenciar marcadamente la acumulación de eosinófilos tanto circulantes como en tejidos; se han descrito factores quimiotácticos para eosinófilos como el de 30000 daltones de peso molecular aislado de *Ascaris* (39). Una glicoproteína de alto peso molecular aislada de extractos de huevos de *S. japonicum* (40) y más recientemente una proteína de aproximadamente 10400 daltones derivada de larvas de *Taenia taeniaeformis* (41).

Los resultados también están de acuerdo con que los eosinófilos pueden ser las células efectoras para la destrucción de huevos de *S. mansoni* de ratones infectados (42); se reportó que los huevos o miracidios estaban infiltrados por eosinófilos indicando una posible relación entre la invasión del eosinófilo y la muerte del miracidio en el huevo. Nues-

tras observaciones en la liberación de gránulos y su posible acción en dañar a los cisticercos, puede ser relacionado con aquellas descritas por Butterworth y cols. (42) en que la proteína básica principal puede unirse y dañar la esquistosómula.

Los datos previos sobre cisticercosis de *T. solium* se han obtenido exclusivamente de observaciones microscópicas de larvas encontradas en cerdos naturalmente parasitados. Se ofrece la explicación de que los cerdos destinados al rastro tienen un periodo de vida corto, en promedio 3 años, tiempo en el cual los cisticercos pueden sobrevivir fácilmente y no son destruidos por una reacción inflamatoria de cuerpo extraño (20) y de que en cerdos el estado larval de *T. solium* induce una reacción inflamatoria importante que, al momento del sacrificio (entre 6 y 8 meses de edad) no ha producido cambios morfológicos apreciables en el parásito (21). En contraste, los resultados de este trabajo muestran que en los cerdos inmunizados, la reacción inflamatoria fue suficiente para infiltrar y dañar seriamente la larva hasta su destrucción completa en muy corto tiempo (44, 45).

Los experimentos descritos mostraron un alto grado de inmunidad en cerdos contra el cisticercos, inducido por antígenos obtenidos de larvas de *T. solium*. Esta idea de inmunidad mediada principalmente por células, es apoyada por los resultados del primer experimento, en que se hicieron las siguientes consideraciones: (i) El número de larvas implantadas en los cerdos inmunizados fue menor que en los cerdos controles; probablemente esta reducción se debió a la acción de anticuerpos y complemento sobre las larvas jóvenes ( $P < 0.025$ ). (ii) Muchas larvas fueron encontradas en varios estados de degeneración y el resto estaban completamente destruidas. (iii) Todas estas larvas estaban rodeadas por una reacción granulomatosa intensa e infiltradas por eosinófilos, los cuales parecían ser las células efectoras en la degeneración y destrucción de los cisticercos.

En el segundo experimento de este trabajo, se muestra que la destrucción fue debida a la respuesta inmune de tipo celular del huésped, la cual fue inducida por la inmunización con antígenos larvales de *T. solium*. La cinética de este proceso pudiera ser descrita como sigue: un incremento en la

eosinofilia de sangre periférica; un incremento en la formación del granuloma que rodea a la larva (eosinófilos, linfocitos, monocitos y células plasmáticas); infiltración por eosinófilos de las estructuras del parásito; liberación de gránulos; daño funcional y estructural; muerte de la larva; y finalmente, su completa destrucción.

Estos resultados confirman que los antígenos larvales de *Taenia solium* son capaces de inducir una respuesta en el huésped intermediario que produce la destrucción de los cisticercos.

También sería interesante estudiar los antígenos oncosferales de *T. solium* en cerdos para saber si estos son capaces de mejorar la inmunidad obtenida con los antígenos larvales, ya que Aguilar (46) en nuestro laboratorio indujo inmunidad en el ratón contra la infección de oncosferas de *T. solium* y *T. saginata* utilizando antígenos oncosferales de dichas tenias.

Sería conveniente purificar los inmunógenos contenidos en el complejo obtenida de larvas de *T. solium* con el fin de inducir mejores niveles de protección, caracterizarlos y estudiar a que estructuras del parásito corresponden. Se necesita, además, estudiar el papel de las diferentes células en la reacción granulomatosa, dilucidar los mecanismos de los eosinófilos como células efectoras en la destrucción del cisticerco, la participación de los anticuerpos y de las células epitelioides en esta destrucción, así como la participación de la inmunidad humoral y el complemento en la posible eliminación de oncosferas y larvas jóvenes.

En teoría, el uso racional y sistemático de un producto inmunogénico obtenido de *C. cellulosa*, sobre todo en países con altas tasas de cisticercosis, ayudaría a resolver el serio problema de importantes pérdidas en la producción animal y disminuiría las tasas de teniasis y cisticercosis humana.

#### REFERENCIAS

1. Faust, E. C., Russell, P. F. and Jung, R. C.: Técnicas Entomológicas. In "Craig y Faust, Parasitología Clínica", Salvat Editores, México. pp. 533, 822, 1981.
2. Nieto, D.: Historical Notes on Cysticercosis. In "Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives". pp. 1-7. (Flisser, A., Willms, K., Lactette, J. P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltren, F.). Eds. Academic Press, New York, 1982.

## Ciencia Veterinaria 4-1987

3. Sotelo, J.: XIV. Cisticercosis y Epilepsia. En "*Epilepsia, principios y Práctica*". (Editores Velásco, M., Vega, G. y Romano, V.) Editorial Camelice, IM.S.S. México. pp. 199-205, 1984.
4. Aseñjo, A.: Consideraciones sobre Cisticercosis Cerebral. *Cirugía y Cirujanos*. Agosto, 433-445, 190.
5. Costero, I.: *Tratado de Anatomía Patológica*. Vol. II. Editorial Atlante. México, D. F. pp. 148-1495, 1946.
6. Briseño, C. E., Biagi, F. y Martínez, B.: Cisticercosis. Observaciones sobre 9 casos de autopsia. *Prensa Médica Mexicana*, 26:192107, 1961.
7. Albores, S. J. y Altamirano, D. M.: Algunas consideraciones sobre 9412 autopsias realizadas en el Hospital General de México. *Revista de Investigación en Salud Pública*. 31:1-7, 1961.
8. Rabiela, M. T., Rivas, H. A. y Rodríguez, L. J.: Consideraciones anatomopatológicas sobre la cisticercosis cerebral como causa de muerte. *patología Mexicana*. 17:119-123, 1979.
9. Woodhouse, E., Flisser, A. and Larralde, C.: Seroepidemiology of Human Cysticercosis in Mexico. In "*Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives*". (Flisser, A., Willms, K., Laclette, J. P., Ridaura, C. and Beltran, F.) Eds. Academic Press. New York. pp. 11-23, 1982.
10. Aluja, A. S.: Frequency of porcine cysticercosis in Mexico. In "*Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives*". (Flisser, A., Willms, K., Laclette, I. P., Ridaura, C. and Beltran, F.) Eds. Academic Press. New York, pp. 3-62, 1982.
11. Rickard, M. D. and Adolph, A. J.: Vaccination of lambs against infection with *Taenia ovis* using antigens collected during short term in vitro cultivation of activated *T. ovis* oncospheres. *Parasitology*. 75:183-188, 1977.
12. Lloyd, S. and Souisby, E. J. L.: The role of IgA immunoglobulins in the passive transfer of protection to *Taenia taeniformis* in the mouse. *Immunology*. 34:939-945, 1978.
13. Musoke, A. J. and Williams, J. F.: The immunological response of the rat to infection with *Taenia taeniformis*. V. Sequence of appearance of protective immunoglobulins and the mechanism of action of 7δ2a. antibodies. *Immunology*. 29:855-866, 1975.
14. Kwa, B. H. and Liew, F. Y.: Immunity in Taeniasis Cysticercosis. I. Vaccination against *Taenia taeniformis* in Rats using Purified Antigen. *The Journal of Experimental Medicine*. 46:118-131, 1977.
15. Hickard, M. D. and Adolph, A. J.: Vaccination of lambs against infection with *Taenia ovis* using antigens collected during shortterm in vitro incubation of activated *T. ovis* oncospheres. *Parasitology*. 75:183-188, 1977.
16. Hickard, M. D., Boddington, E. B. and Mc. Quade, M.: Vaccination of lambs against *Taenia ovis* infection using antigens collected during in vitro cultivation of larvae: passive protection via colostrum from vaccinated ewes and the duration of immunity from a single vaccination. *RCB. Vet. Sci*, 23:368-371, 1977.

17. Rickard, M. D., Arundel, J. H. and Adolph, A. J.: A preliminary field trial to evaluate the use of immunization for the control of naturally acquired *Taenia saginata* infection in cattle. *Res. Vet. Sci.* 30:104-108, 1981.
18. Rickard, M. D. and Brumley, J. L.: Immunization of calves against *Taenia saginata* infection using antigens collected by *in vitro* incubation of *T. saginata* oncospheres or ultrasonic desintegration of *T. saginata* and *T. hydatinena* oncospheres *Res. Vet. Sci.* 30:99-103, 1981.
19. Rajasekariah, G. R., Rickard, M. D., Mitchell, G. F. and Anders, R. F.: Immunization of mice against *Taenia taeniformis* using solubilized oncospherical antigens. *International Journal of Parasitology.* 12: 111-116, 1982.
20. Hernández-Jauregui, P. A., Márquez-Monter, H. and Sastré-Ortiz, S.: Cysticercosis of the Central Nervous System in Hogs. *Am. J. Vet. Res.*, 34:451-453, 1973.
21. Willms, F. and Merchant, M. T.: The inflammatory reaction surrounding *Taenia solium* larvae in pig muscle: ultrastructural and light microscopic observations. *Parasite Immunology.* 2:261-275, 1980.
22. Herbert, I. V. and Oberg, C.: Cysticercosis in pigs due to infection with *Taenia solium*. Linneaus, 1958. In "*Parasitic Zoonoses*" (E. J. I. Soulsby, ed.) Academic Press, New York. 199-212, 1974.
23. Tato, P., FÜsser, A., Gavilanes, M. and Molinari, J. I.: Immunogenic complexes obtained from *Salmonella tiphy-mtrium* and *Salmonella typhi* Ty2 by the bacterial acetone powder method. *Annales de Microbiologie* (Institute Pasteur). 130A:47-60, 1979.
24. Lowry, O. H., Rosebrough, J. J., Fan, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin serial reagent. *Journal of Biological Chemistry.* 193 :265-275, 1951.
25. Bloom, B. R. and Bennett, B.: Mechanism of a reaction *in vitro* associated with delayed-type hypersensitivity. *Science.* 153:80-82, 1966.
26. Fulton, F. and Dumbell, K. R.: The serological comparison of strains of influenza virus. *Journal of General Microbiology.* 3:97107, 1949.
27. Weber, K. and Osborn. M.: The Reliability of Molecular Weight Determinations by Dodecyl Sulfate-Polycrylamide Gel Electrophoresis. *The Journal of Biological Chemistry.* 244 :4406-4412, 1969.
28. Clausen, V.: Immunochemical techniques for the identification and estimation of macromolecules. In "*Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*". (T. S. Work and E. Work). North Holland, Amsterdam. 447-463, 1971.
29. Trelles, J. O., Palomino, L. and Caceres, A.: Histopatologie de la cysticercose cerebrale. *Acta Neuropathologica.* 8:115-132, 1967.
30. Slais, J.: "*The Morphology and Pathogenicity of the Bladder worms*". Publishing House of Czechoslovak Academy of Sciences, Prague. 139-144, 1970.

31. Márquez-Monter, H.: Patología de la Cisticercosis. En "*Cisticercosis Cerebral como Problema de Salud Pública*", *Gaceta Médica de México*. 103:230-242, 1972.
32. Pearsall, N. N. and Weiser, R. S.: "*The Macrophage*", Lea & Febiger, Philadelphia. 115-136, 1970.
33. Hsù, S. Y. L., Lust, G. L. and Hsù H. F.: The fate of challenge schistosome cercariae in a monkey immunized by cercariae exposed to high doses of X-irradiation. *Proceedings of the Society of Experimental Biology*. 136:727-731, 1971.
34. Butterworth, A. E., Sturrock, R. F. and Houba, V.: Eosinophils as mediators of antibody-dependent damage to schistosomula. *Nature (London)*. 256:727-729, 1975.
35. Butterworth, A. E., David, J. R. and Franks, D., Mahmoud, A. A. David, P. H., Sturrock, R. F. and Houba, V.: Antibody dependent eosinophil-mediated damage to <sup>51</sup>Cr-labeled schistosomula of *Schistosoma mansoni*: Damage by purified eosinophils. *The Journal of Experimental Medicine*. 145: 136-150, 1977.
36. Boros, D. L., Schwartz, H. J., Powell, A. E. and Warren, K. S.: Delayed hypersensitivity, as manifested by granuloma formation, dermal reactivity, macrophage migration inhibition and lymphocyte transformation, induced and elicited in guinea pigs with soluble antigens of *Schistosoma mansoni* eggs. *Journal of Immunology*. 110:1118-1125, 1973.
37. Molinari, J. L., Yépez, L., Tato, P. and Méndez, L.: Ribonucleic acid-protein purified obtained from *Salmonella typhi* involved in experimental immunity. *Annales de Immunologie (Institute Pasteur)*. 132D: 25-41, 1981.
38. Colley, D. G.: Eosinophils and immune mechanism. I. Eosinophil stimulation promoter (ESP): A lymphokine induced by specific antigen or phytohemagglutinin. *Journal of Immunology*. 110:1419-1423, 1973.
39. Tanaka, J., Baba, T. and Torisu, M.: Ascaris and eosinophil. II. Isolation and characterization of eosinophil chemotactic factor and neutrophil chemotactic factor of parasite in ascaris antigen. *Journal of Immunology*. 122:302-308, 1979.
40. Owhashi, M. and Ishii, A.: Purification and characterization of a high molecular weight eosinophil chemotactic factor from *Schistosoma japonicum* eggs. *Journal of Immunology*. 129:2226-2230, 1982.
41. Potter, K. A. and Leid, R. W.: Isolation and Partial Characterization of an Eosinophil Chemotactic Factor from Metacestodes of *Taenia taeniformis* (EC-Tt). *Journal of Immunology*. 136:1712-1717, 1986.
42. James, R. L. and Colley, D. G.: Eosinophil-mediated destruction of *Schistosoma mansoni* eggs. *Journal of Reticuloendothelial Society*. 20:359-374, 1976.
43. Butterworth, A. E., Vasson, D. L., Gleich, G. L., Loegering, D. A. and David, J. R.: Damage to schistosomula of *Schistosoma mansoni* induced directly by eosinophil major basic protein. *Journal of Immunology*. 122:221-229, 1979.

44. Molinari, J. L., Meza, R., Suárez, B., Palacios, S., Tato, P. and Retana, A.: *Taenia solium*; Immunity in Hogs to the Cysticercus. *Experimental Parasitology*. 55:340-357, 1983a.
45. Molinari, J. L., Meza, R. und Tato, P.: *Taenia solium*: Cell Reactions to the larva (*Cysticercus cellulosae*) in Naturally Parasitized, Immunized Hogs. *Experimental Parasitology*. 56:327-338, 1983b.
46. Aguilar, M. T.: Inmunidad inducida en el ratón con antígenos oncosferales de *Taenia solium* y *Taenia saginata*. Tesis de Maestría, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México, 1986.