

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA – LABORATORIO CLINICO

**"Evaluación de una Prueba Inmunológica  
para el Diagnóstico de Cisticercosis Humana"**

SEMINARIO DE GRADUACION

PRESENTADO POR:

ELSA RAQUEL FUNES GUERRERO  
ANA DILCIA MORALES ROMAGOZA

*PREVIA OPCION AL TITULO DE  
LICENCIADA EN LABORATORIO CLINICO*

ASESOR  
T.M. JAIME SOUNDY CALL



AGOSTO 1985

6-96  
78/e



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA - LABORATORIO CLINICO

"EVALUACION DE UNA PRUEBA INMUNOLOGICA  
PARA EL DIAGNOSTICO DE CISTICERCOSIS HUMANA"

POR: :

ELSA RAQUEL PUNES GUERRERO  
ANA DILCIA MORALES ROMAGOZA

SEMINARIO PRESENTADO ANTE EL JURADO CALIFICADOR  
DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE  
EL SALVADOR EN SATISFACCION PARCIAL DE LOS RE -  
QUERIMIENTOS PREVIOS A LA OPCION DEL TITULO DE  
LICENCIADO EN LABORATORIO CLINICO.

AGOSTO 1985

## AGRADECIMIENTO

Nuestro Profundo Agradecimiento al Sr. T.M. Jaime Soundy Call, por su valiosa ayuda y acertada asesoría; a los miembros del Jurado, doctores, Carlos Flores Menéndez, Ernesto Navarro Marín y Sarvelio Navarrete, por su desinteresada colaboración en la revisión y corrección de este Seminario y a todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible la realización de este Trabajo.

D E D I C A T O R I A

A DIOS TODOPODEROSO

CON FE Y ETERNA GRATITUD

A NUESTROS PADRES

CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO

A NUESTROS ESPOSOS E HIJOS

CON TODO NUESTRO AMOR

A NUESTROS HERMANOS

CON FRATERNAL CARIÑO

A NUESTROS FAMILIARES

Y AMIGOS QUE EN UNA U

OTRA FORMA NOS AYUDARON

A CORONAR NUESTRO IDEAL.

A TODOS, GRACIAS.-

ELSA RAQUEL

ANA DILCIA

EVALUACION DE UNA PRUEBA  
INMUNOLOGICA PARA EL DIAGNOSTICO  
DE CISTICERCOSIS HUMANA

# I N D I C E

	PAGS.
I. RESUMEN .....	1
II. INTRODUCCION .....	3
III. OBJETIVOS .....	9
IV. MATERIALES Y METODOS .....	10
V. RESULTADOS .....	18
VI. DISCUSION .....	25
VII. CONCLUSIONES .....	28
VIII. RECOMENDACIONES .....	29
IX. APENDICE .....	30
X. BIBLIOGRAFIA .....	31

## R E S U M E N

El objetivo del presente trabajo fué el de evaluar una prueba de inmunodifusión en gel que fuera de utilidad para el diagnóstico de cisticercosis en humanos.

Se efectuó un estudio en 525 muestras de suero, de las cuales 500 fueron tomadas al azar de pacientes que consultaron por diferentes enfermedades cuya sintomatología en ningún momento correspondía a la de una cisticercosis y las 25 restantes fueron de pacientes con diagnóstico presuntivo de esta última.

La edad de los pacientes osciló entre los 2 y los 97 años, de los cuales el 72.9% pertenecían al Hospital Rosales, el 3.8% al Hospital de Niños Benjamín Bloom, el 19.1% a la División de Laboratorio del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y el 4.2% a clínicas particulares.

Los pacientes procedían de diferentes lugares de la República de El Salvador y el estudio se efectuó durante un período comprendido entre 1982 y 1984.

La muestra de cada paciente fué montada en cajas de petri conteniendo agarosa al 1%<sup>\*</sup>; ésta se perforó para obtener los pozos: uno en el centro, que contenía el antígeno preparado a partir de cisticercos macerados y 6 pozos alrededor y a igual distancia del antígeno, en los que se colocaron 5 sueros de pacientes en estudio y un control positivo que consistía en un antisuero obtenido de un conejo previamente estimulado con el antígeno de cisticerco.

Los resultados demuestran que a pesar de haber obtenido un bajo porcentaje de positividad 0.4%, en pacientes tomados al azar y 8% en pacientes con diagnóstico presuntivo de cisticercosis, la prueba podría ser de gran utilidad al médico para orientarlo en su diagnóstico de una manera rápida, a bajo

costo y sin comprometer el estado físico del paciente.

La prueba de inmunodifusión en gel es sencilla de realizar y sólo requiere: agarosa al 1%, cajas de petri, un antígeno y un antisuero y no necesita de personal altamente especializado; por lo tanto se puede verificar en cualquier laboratorio del país.

## INTRODUCCION

La cisticercosis humana es una enfermedad sistémica que se produce cuando el hombre funciona como huésped intermediario - de la Taenia solium al albergar en sus tejidos el estado larvario del parásito. Esto ocurre al ingerir los huevecillos - presentes en alimentos o bebidas contaminadas con material fecal o por contacto directo entre manos y boca en personas que padecen teniasis. También puede ocurrir por fuentes endógenas como sucede en los casos en que hay un peristaltismo retrógrado; el vómito es el ejemplo clásico y puede ser peligroso en las personas con infección intestinal de Taenia solium (13). La cisticercosis afecta a pacientes de cualquier edad; sin embargo, la mayoría de ellos están entre los 20 y los 50 años (1, - 10,36,45).

Los huevecillos de Taenia solium deglutidos eclosionan en el intestino delgado, donde las larvas libres penetran a la circulación que irriga la mucosa intestinal y son transportadas a diferentes partes del cuerpo, desarrollándose allí los cisticercos (4,15,31). Las partes más frecuentemente afectadas son: el cerebro en un 60% de los casos estudiados, el ojo en un 3% y el músculo esquelético en un 5% (20,21). El cisticercos completamente desarrollado es una pequeña vesícula llena de líquido que mide alrededor de 5 a 10 mm; su pared interna presenta un escólex invaginado que se localiza sobre un pequeño pedúnculo y que puede ser visto a simple vista; (4,15).

Los cisticercos dan lugar a una intensa reacción inflamatoria que sobreviene después de la muerte del escólex, aproximadamente 18 meses después de la infección. El cisticercos y el nódulo formado pueden calcificarse a diferencia de los del músculo esquelético, los cuales calcifican casi invariablemente dentro de los 5 años siguientes a la infección, los cisticercos cerebrales calcifican con menos frecuencia y lo hacen más tarde, aproximadamente 10 años después de la infección y no com-

pletamente (20,28,38).

Los cisticercos en la base del cerebro pueden ser causa de meningitis basal crónica con anormalidades nerviosas, hidrocefalia y signos de irritación meníngea. Las lesiones difusas en el parénquima pueden causar lipotimias, cambios mentales, hipertensión intracraneana, dolor de cabeza, náuseas, vómitos y pérdida de la visión (27). En general los síntomas dependen del número de cisticercos y de su localización en el huésped.

En nuestro país en referencia al problema de la cisticercosis porcina en 1959 Mateu Llort reportó un 2.5% de incidencia de la enfermedad (32), en 1964 Soriano y Cedillos reportaron un 2.1% (44); en 1974 se reportó un 1.36% de incidencia en un documento publicado por CONAPLAN y en 1984 Lara reportó un 2.52% en un trabajo no publicado aún, realizado en cerdos de abasto en rastros de Ciudad Arce, Mejicanos y San Miguel (26). Debido a que nuestro medio ambiente está muy contaminado por las heces tanto de animales como de personas enfermas y a los malos hábitos higiénicos practicados por la mayoría de nuestra población podemos suponer que la cisticercosis porcina está distribuida en todo el territorio Nacional; sin embargo a pesar de que el porcentaje de incidencia en porcinos según los estudios antes mencionados es bajo, debemos tomar en cuenta que dichos trabajos fueron realizados en mataderos públicos lo que hace que estos porcentajes no sean reales, ya que los cerdos cuando llegan al matadero han sido previamente examinados de la lengua, en donde pueden observarse con cierta facilidad los cisticercos, por personas que se dicen conocedoras de esta enfermedad llevando a los rastros solamente los que ellos consideran sanos y destazando los enfermos fuera del control sanitario. Si a esto agregamos que debido a la rapidez con que se practica el registro en los mataderos, los cerdos que padecen una infección leve son considerados sanos, esto aumenta las posibi

dades de que estos porcentajes no correspondan a la realidad (32).

Con respecto a la incidencia de cisticercosis en humanos tanto el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social como la Dirección General de Estadística y Censos nos informaron que no existen en el país datos sobre la prevalencia de la enfermedad ni de la mortalidad por esta causa. Sin embargo Ramírez Amaya (37) afirma que el 10% de los síndromes cráneo hipertensivos diagnosticados como tumores cerebrales, sobre todo de fosa posterior corresponde a cisticercosis cerebral. Además el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Rosales en un período de 4 años (1978-1981) registró 17 biopsias y una autopsia positivas (3).

Actualmente en El Salvador el diagnóstico de la cisticercosis humana se hace por medio de la radiología, por tomografía axial computarizada, clínicamente y por cirugía. Los tres primeros métodos a pesar de que proporcionan una información rápida y de que no comprometen el estado físico del paciente tienen desventajas como por ejemplo el diagnóstico radiológico es poco probable antes de haber transcurrido 4 ó 5 años a partir del momento de la infección (13). Con la tomografía axial computarizada el reporte es confirmativo de cisticercosis si el cisticerco se encuentra en su fase activa (33) además de que es un examen que resulta de altísimo costo por lo que usualmente no está al alcance de la mayoría de pacientes; en cuanto al diagnóstico clínico Ramírez Amaya (37) afirma que el *Cisticercus cellulosae* ocasiona en el sistema nervioso cuadros diversos de muy difícil diagnóstico, o sea que los tres únicamente orientan al médico indicándole la presencia de un cuerpo extraño en el cerebro. El último procedimiento, la cirugía, permite un diagnóstico seguro de la cisticercosis pero es un método que tiene la desventaja de que además de ser de alto costo, si los cisticercos comprometen órganos vitales puede poner en peligro

la vida del paciente o puede dejarle graves secuelas. En vista de las dificultades antes mencionadas, en otros países se ha evaluado la sensibilidad y especificidad de diversas pruebas serológicas para el diagnóstico de la cisticercosis como la hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia y precipitación en agar (8,45), así como fijación de complemento (13,37) y el ensayo inmunosorbente enzima conjugada (ELISA) (47) ambas en suero y en líquido cefalorraquídeo. Todos estos métodos inmunológicos son útiles en el diagnóstico de la cisticercosis aunque se ha demostrado que su efectividad no es óptima (8,17); por ejemplo por medio de la inmunoelectroforesis sólo se detecta el 50% de los pacientes que padecen cisticercosis y resultados similares se obtuvieron con la prueba de doble inmunodifusión (43,50). Asimismo Rydzewski y col. (41) observaron que algunos sueros de pacientes con cisticercosis reaccionaron con antígenos preparados de *T. crasiceps*, *T. saginata* y *E. granulosus*; por lo cual los resultados de estas pruebas como todas las pruebas inmunológicas deben ser interpretadas en base a los hallazgos clínicos. Sin embargo en otros países estas pruebas se usan rutinariamente (41) ya que existe mucho interés en usarlos en enfermedades en las cuales un diagnóstico directo y definitivo se logra con dificultad o bajo circunstancias especiales (22) tal es el caso de la cisticercosis.

A pesar de los esfuerzos hechos en otros países para encontrar una prueba serológica más específica para el diagnóstico de la cisticercosis, en nuestro país no se cuenta con una prueba de laboratorio que ofrezca un diagnóstico confirmativo de cisticercosis humana que no comprometa la integridad física del paciente y que no menoscabe su economía familiar. La falta de este tipo de prueba se hace más evidente ante la demanda por esta prueba, que existe en los hospitales de todo el mundo y en particular en los del país por parte del gremio médico.

Tomando en cuenta lo anterior y a pesar de que los casos de cisticercosis son pocos creemos que una prueba inmunológica sería de gran utilidad para orientar al médico en su diagnóstico. Por esta razón la finalidad del presente trabajo es la de evaluar parcialmente la sensibilidad y especificidad de la prueba de inmunodifusión en gel en el diagnóstico de la cisticercosis humana. Debe de advertirse que la evaluación es parcial porque este procedimiento no se ha comparado con la especificidad y sensibilidad de otro método serológico cuya bondad sea bien conocida. Esta prueba anteriormente ha sido usada por otros investigadores en el diagnóstico de diferentes enfermedades sistémicas tales como: triquinosis, hidatidosis, filariasis, ascaridiasis, equinococosis, etc. (22,41) y muy pocas veces en cisticercosis, posiblemente porque la cisticercosis no representa un problema en los países donde dichos trabajos fueron realizados. En estos últimos sin embargo, los resultados fueron discrepantes ya que algunos investigadores obtuvieron buena sensibilidad y especificidad en uno de sus estudios, pero en trabajos posteriores sus resultados no fueron los mismos (22). A pesar de lo anterior, nosotros escogimos esta prueba porque posee cualidades que son muy apreciadas en nuestro medio como son que es sencilla, de bajo costo, no pone en peligro la vida del paciente y se adapta a las condiciones existentes en los laboratorios del país.

La prueba de inmunodifusión en gel es una prueba serológica basada en la técnica de Ouchterlony para la cual usamos como medio la agarosa al 1%, ésta en forma de gel no posee carga eléctrica, no inactiva antígenos y no demuestra afinidad por ninguna macromolécula en consecuencia el antígeno y el anticuerpo difunden en ella con mayor libertad (51). Esta agarosa fué vertida en cajas de petri y posteriormente perforada con el objeto de obtener los pozos donde se colocaron los sueros en estudio, el antisuero y el antígeno. Nuestro antígeno consistió en un extracto crudo preparado a partir de cisticer-

cos vivos y solución de thimerosal en solución salina 0.85%, pues a pesar de que algunos investigadores han hecho esfuerzos por fraccionar y obtener antígenos purificados y específicos de cisticerco (21) y de otros parásitos semejantes (23), estos métodos no han sido ampliamente aceptados debido a las limitaciones del equipo que la mayoría de laboratorios tienen y que son necesarias para dicho fraccionamiento (23). Además, hasta ahora ha habido falta de uniformidad y de reproducibilidad de los resultados obtenidos por los diferentes investigadores cuando se ha querido cuantificar estos resultados. Como el propósito de este trabajo no es el de obtener datos cuantificables, sino el de simplemente dar una orientación diagnóstica de la enfermedad y especialmente debido a las limitaciones de equipo y materiales existentes, en este estudio el antígeno no fué fraccionado; al respecto Kent (23) recomienda que cuando no sea posible obtener antígenos aislados se podría expresar la concentración antigénica en términos del total de proteínas o por lo menos el de su peso seco. Este autor cree que esto conduciría a resultados más uniformes; además de que ya otros investigadores han obtenido resultados adecuados con antígenos preparados a partir de organismos completos (2,22,-43,47).

## OBJETIVOS

1. Desarrollar una prueba inmunológica confiable, sencilla, de bajo costo y específica para el diagnóstico de cisticercosis humana que esté al alcance de los laboratorios del país.
2. Evaluar parcialmente la sensibilidad y especificidad de la prueba de inmunodifusión en gel para detectar cisticercosis en humanos y recomendar su aplicación en el laboratorio.

## MATERIALES Y METODO

### Población estudiada:

En un período de 20 meses se estudiaron 525 muestras de suero humano provenientes de igual número de pacientes, de los cuales 383 pertenecían al Hospital Rosales, 100 a la División de Laboratorio del Ministerio de Salud Pública, 22 a clínicas particulares y 20 al Hospital de Niños Benjamín Bloom. De la totalidad de las muestras; 500 pertenecían a pacientes tomados al azar; 210 eran del sexo masculino y 290 del sexo femenino (Cuadro 3). Las edades oscilaron entre los 2 y los 97 años (Cuadro 2).

Los 25 restantes tenían diagnóstico presuntivo de cisticercosis; 12 pertenecían al sexo masculino y 13 al sexo femenino (Cuadro 3). Sus edades oscilaban entre los 2 y los 50 años, pero la mayoría de ellos (14 pacientes) estaban en la primera década de la vida (Cuadro 2). Veinte y tres de estos pacientes estaban bajo tratamiento con los medicamentos que usualmente se administran cuando existe sospecha de cisticercosis como son: anticonvulsivos (fenobarbital, Epamín y Tegretol) y análgescos (Ponstan y Robaxisal). De estos 23 pacientes solamente 15 de ellos al momento de efectuar la prueba estaban además siendo tratados con prednisona o dexametasona las cuales alteran el sistema inmunológico (39). Los 2 restantes no habían recibido ningún tipo de tratamiento del que usualmente se administra en la cisticercosis.

De cada paciente incluido en el estudio se obtuvieron los siguientes datos: nombre, edad, sexo, diagnóstico y tratamiento.

### Obtención de la Muestra:

La muestra se obtuvo por punción venosa de pacientes con un ayuno previo de por lo menos 4 horas; para esto se usó una jeringa descartable de 5 cc y aguja No. 21 x 1 1/2; la sangre se dispensó en tubos de ensayo de 13 x 100 mm sin anticoagulante y se dejó coagular a temperatura ambiente. Una vez retraído el coágulo se removió con un palillo y luego se centrifugó a 400 rpm durante 5 minutos. Luego se extrajo el suero cuidadosamente con pipeta Pasteur y se colocó en otro tubo debidamente identificado. Las muestras de suero fueron procesadas inmediatamente; posteriormente se guardaron en congelación.

### Obtención del Antígeno:

El antígeno se obtuvo a partir de cisticercos vivos extraídos de cerdos sacrificados en los rastros municipales de Ciudad Delgado y Mejicanos, en la Sección de Inspección y Control de Carnes de la Alcaldía Municipal de San Salvador y de cerdos sacrificados sin ninguna inspección sanitaria en casas particulares.

Los cisticercos colectados fueron extraídos cuidadosamente de las fibras musculares usando bisturí y pinzas procurando que su envoltura no se rompiera para evitar perder el líquido contenido en él. Una vez limpios fueron puestos en solución preservadora de thimerosal al 1:1000 y luego triturados con un macerador\*, obteniendo una suspensión que posteriormente fue centrifugada a 3000 rpm x 5 minutos, con el objeto de eliminar partículas gruesas. El sobrenadante fue esterilizado por medio de un filtro de membrana miliporo\*\* con poro de 0.62 micras de diámetro, luego se le hizo una dosificación de proteínas por el método de Biuret obteniendo un resultado de 12 mg/ml; a continuación se colocó el sobrenadante en un saquito para diálisis,

el cual posteriormente fué colocado frente a un ventilador y en refrigeración por un tiempo de aproximadamente 12 horas - con el fin de concentrarlo. Transcurrido ese tiempo se le hizo una nueva dosificación de proteínas obteniendo un resultado de 80 mg/ml la cual es semejante a la concentración de proteínas del suero humano lo que es necesario para que se produzca la banda de precipitación (51). Este antígeno así preparado se mantuvo congelado hasta su uso.

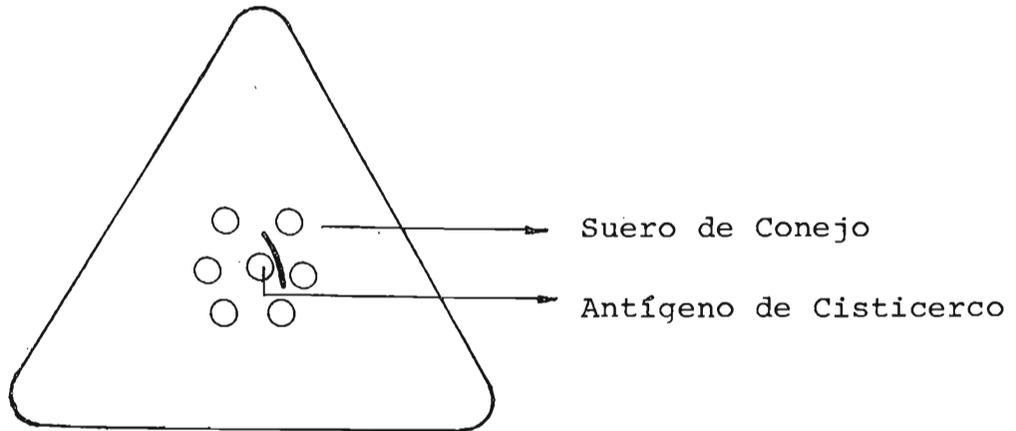
En nuestro estudio no verificamos diluciones del suero porque nos basamos en el trabajo realizado por Yarzabal (51) en el cual usando la prueba de inmunodifusión en gel aplicada a enfermedades micóticas sistémicas, reportó que las concentraciones óptimas las obtuvo concentrando el suero por 2 y usando una solución de antígeno que contenía 200 mg/ml. Si la concentración del suero no es posible recomienda emplear una solución de antígeno con una concentración semejante a la del suero humano normal (51).

#### Obtención del Antisuero:

El antisuero usado consistió en un suero hiperinmune anticisticercos, obtenido de un conejo de castilla al cual se le habían practicado 3 inoculaciones con intervalos de 4 días cada una; en la primera se le inyectó 0.1 ml de antígeno, en la segunda 0.2 ml y en la tercera 0.4 ml. Estas inoculaciones se le hicieron al conejo en la vena del dorso de la oreja que había sido previamente depilada y desinfectada con alcohol de 90°. Para efectuar tales inoculaciones se usaron jeringas de tuberculina.

A los 8 días de la tercera inoculación se le practicó al conejo la primera sangría para investigar si ya había o no formación de anticuerpos. Para comprobarlo se utilizó la prueba de inmunodifusión en gel, enfrentando el suero del conejo contra el antígeno preparado y se obtuvo una banda de precipitación

lo cual nos indicaba la presencia de anticuerpos.



Posteriormente se procedió a extraer en su totalidad la sangre al conejo directamente del corazón utilizando una jeringa de 20 cc con aguja 18; esta sangre fué centrifugada a 1500 rpm x 15 minutos para separar el suero, al cual una vez separado se le agregaron 15 gotas de azida sódica 1:1000 para preservarlo y luego fué dispensado en viales de 5 ml, los cuales se congelaron hasta su uso.

Lo ideal es preparar los antisueros en animales de la misma especie de la cual se obtiene el antígeno. De esta manera, el animal inmunizado no forma anticuerpos contra sus propios componentes y se obtiene un antisuero que reacciona exclusivamente con los antígenos de origen parasitario presentes en el cisticerco. Cuando no es factible la preparación de antisueros contra cisticerco en la misma especie animal de la cual proviene el antígeno, estos pueden prepararse en el conejo como se hizo en el presente trabajo, pero puede hacerse en cualquier otro animal de Laboratorio como el cobayo, ratón, etc. Sin embargo, en este caso es recomendable realizar pruebas de especificidad al suero (49). En nuestro estudio comprobamos su especificidad poniendo a reaccionar el antígeno obtenido al ma-

cerar carne de cerdo sano en solución salina, contra el antisuero de conejo, para investigar si el conejo había formado anticuerpos contra la carne de cerdo. Para esta prueba se utilizó la técnica de inmunodifusión en gel, no obteniendo bandas de precipitación; de esta manera comprobamos que los anticuerpos presentes en el antisuero no reaccionaban con los antígenos de carne de cerdo y presumiblemente eran específicos para cisticercos.

Asimismo se efectuaron pruebas de especificidad al antígeno de cisticercos, poniéndolo a reaccionar contra sueros de personas que padecían enfermedades parasitarias sistémicas como son: amibiasis extraintestinal, uncinariasis, paludismo, enfermedad de chaqas y toxoplasmosis; al no haber obtenido con esos sueros bandas de precipitación confirmamos de esta manera la especificidad del antígeno. Lamentablemente en este estudio no incluimos sueros de personas con otras enfermedades parasitarias como triquinosis; que también podrían dar resultados falso positivos.

#### Procedimiento :

El método usado fué el de inmunodifusión en gel, el cual fué escogido por ser una prueba sencilla, de fácil reproducción, apta para una adecuada estandarización y susceptible de ser usada en laboratorios que no poseen alta especialización (49,51).

La prueba de inmunodifusión en gel es una prueba serológica basada en la técnica de doble difusión desarrollada principalmente por Ouchterlony, la cual consiste en poner soluciones de antígeno y anticuerpo en pocillos separados dispuestos en una placa agarosa. La agarosa al 1% fué vertida en moldes templados triangulares<sup>1</sup> ó en cajitas de petri<sup>2</sup> en forma tal que alcanzan

1 Moldes templados de Alpha, Gamma, Lab.

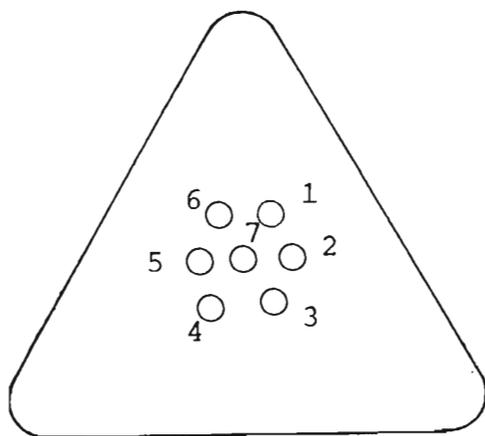
2 Cajas de petri de 50 x 12 mm de Becton Dickinson.

una altura de 2 a 3 mm; luego usando el molde para labrar orificios en gel se hicieron los pozos de manera tal que queden: uno al ~~centro~~ y 6 distribuidos alrededor, separados entre sí por una distancia de 2 mm y numerados del 1 al 6; los pozos se llenaron usando tubos capilares, el del centro con el antígeno de cisticerco, los pozos del 1 al 5 con los sueros de los pacientes a investigar y el pozo 6 con el antisuero de conejo como control positivo.

Posteriormente se colocaron los moldes en cámara húmeda y en refrigeración para permitir la difusión. Los reactivos se difunden a partir de los pocillos y se forman bandas de precipitación en los lugares donde se encuentran en proporciones de equivalencia (12).

A las 24 horas se observaron las placas en busca de líneas de precipitación colocándolas sobre una lámpara de tal manera que la luz pasara a través de la agarosa poniendo de manifiesto las bandas.

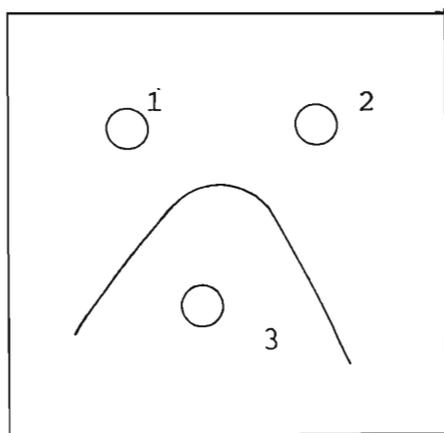
La obtención de bandas de precipitación entre los pares de pozos que contienen, uno el antígeno y el otro el anticuerpo correspondiente, fué interpretada como una reacción positiva. El suero control positivo nos sirvió para demostrar reacciones de identidad según la técnica de Ouchterlony (12). La ausencia de bandas fué interpretada como una reacción negativa. Ante un resultado negativo a las 24 horas es aconsejable observar las placas 5 días más, antes de dar un reporte negativo; tal como se hizo en este estudio.



- 1,2,3,4,5 : Sueros en estudio
- 6 : Antisuero de conejo
- 7 : Antígeno

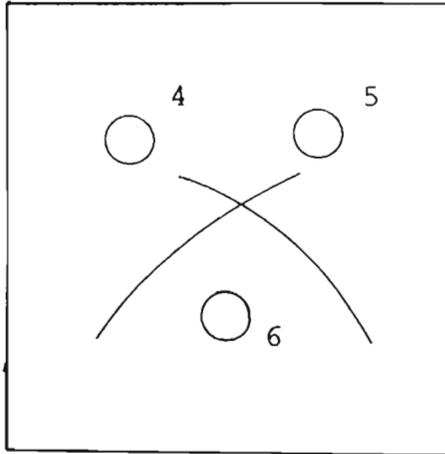
Reacciones de precipitación por doble difusión en gel de agar que muestran reacciones de identidad, no identidad e identidad parcial (12).

IDENTIDAD



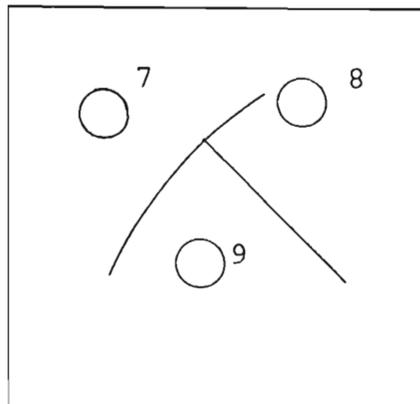
1 y 2 el mismo antígeno  
y en el 3 Antisuero

NO IDENTIDAD



En el 4 y 5 distintos Antígenos, en el 6 el Antisuero para ambos Antígenos.

IDENTIDAD PARCIAL



Antígeno y su correspondiente Antisuero en los pocillos 7 y 9 y en el 8 Antígeno de reacción cruzada.

## RESULTADOS

De las 525 muestras estudiadas usando la prueba de inmunodifusión en gel, 25 fueron de pacientes con diagnóstico presuntivo de cisticercosis y 500 de pacientes tomados al azar y sin alguna sintomatología que hiciera sospechar una cisticercosis; 222 pertenecían al sexo masculino y 303 al sexo femenino, -- las edades oscilaron entre los 2 y los 97 años; pero la mayoría de personas estudiadas estaban entre los 11 y los 30 años de edad (Cuadro 1).

La prueba de inmunodifusión en gel fue positiva en 2 (8%) de las 25 muestras de pacientes con diagnóstico presuntivo de cisticercosis: uno de ellos consultó por un quiste que presentaba en la pared abdominal del hipocondrio derecho desde hacía aproximadamente 3 años; éste le fue extraído y enviado al departamento de patología del Hospital de Niños Benjamín Bloom donde fue reportado como un cisticerco; a los 3 días de extirpado el quiste se le extrajo una muestra de sangre para verificar la prueba de inmunodifusión habiendo obtenido bandas de precipitación. El otro paciente ingresado en el mismo hospital presentaba fiebre, vómitos, hipertensión intracraneana, cefaleas, convulsiones, mirada vaga, etc. habiéndose diagnosticado meningitis bacteriana por lo que se le dió tratamiento para dicha enfermedad; un mes más tarde continuó presentando los mismos síntomas debido a lo cual los médicos sospecharon que se trataba de un cuadro de cisticercosis cerebral; por esta razón enviaron muestra de suero para que se realizara una prueba de inmunodifusión, la cual resultó positiva.

Ninguno de los 2 pacientes había recibido tratamiento inmunosupresor previo a la prueba, ambos tenían 5 años de edad (Cuadro 2) y pertenecían al sexo masculino (Cuadro 3).

Los 23 restantes (92.0%) fueron negativos a la prueba de inmunodifusión en gel (Cuadro 3) y estaban bajo tratamiento en el momento de extraerles la muestra de sangre para verificarla.

Para facilitar su caracterización los distribuiremos en 2 grupos:

- a) Quince de los pacientes presentaban síntomas de compromiso del Sistema nervioso tales como: hipertensión intracraniana, convulsiones, vómito, proceso febril leve, cefalea, etc. y estaban en el momento de efectuarse la prueba bajo tratamiento con analgésicos, anticonvulsivos y además con esteroides. Estos últimos medicamentos son los que tienen mayor importancia porque influyen sobre los mecanismos de inmunidad del individuo (19,39). Por esta razón en el cuadro 4 se detallan los períodos de tiempo que tenían los pacientes de estarlos recibiendo. A dos de los pacientes de este grupo se les había sometido previamente a tomografía axial computarizada la cual resultó positiva en ambos casos. A otros 3 pacientes se les había confirmado el diagnóstico de cisticercosis por medio de la cirugía efectuada, 12 días, 3 años y 5 años antes de realizar la prueba.
  
- b) De los otros 8 pacientes negativos, seis presentaban cefalea y vómito, otro edema generalizado y solamente uno tenía hidrocefalia, hemiparesia y convulsiones que son los síntomas más comunes de la cisticercosis (13). Todos estaban bajo tratamiento únicamente con analgésicos y anticonvulsivos.

De las 500 muestras de pacientes tomadas al azar solamente 2 (0.4%) fueron positivas a la prueba de inmunodifusión en gel, uno de ellos pertenecía al sexo masculino y tenía 20 años y el otro era del sexo femenino y tenía 23 años (Cuadro 3) y nin-

gundo de ellos presentaba sintomatología característica de cisticercosis cerebral. Los 498 restantes fueron negativos a la prueba (Cuadros 2 y 3).

C U A D R O

CARACTERISTICAS DE LA POBLACION ESTUDIADA EN CUANTO A EDAD, SEXO Y DIAGNOSTICO.

GRUPOS ETAREOS	S E X O		D I A G N O S T I C O		T O T A L
	M	F	CISTICERCOSIS	AZAR	
2 - 10	9	10	14	5	19
11 - 20	45	58	5	98	103
21 - 30	44	61	3	102	105
31 - 40	37	46	2	81	83
41 - 50	33	45	1	78	78
51 - 60	22	46	0	67	68
61 - 70	17	23	0	40	40
71 - 80	12	10	0	22	22
81 - 90	2	4	0	6	6
91 - 97	1	0	0	1	1
<b>TOTALES</b>	<b>222</b>	<b>303</b>	<b>25</b>	<b>500</b>	<b>525</b>

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS 525 PACIENTES ESTUDIADOS EN RELACION CON LA EDAD.

GRUPOS ETAREOS	PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CISTICEROSIS		PACIENTES AL AZAR	
	POSITIVOS	NEGATIVOS	POSITIVOS	NEGATIVOS
A Ñ O S				
2 - 10	2 (8.0)*	12 (48.0)*	-	.5 (1.0)*
11 - 20	-	5 (20.0)	1 (0.2)*	97 (19.4)
21 - 30	-	3 (12.0)	1 (0.2)	101 (20.2)
31 - 40	-	2 ( 8.0)	-	81 (16.2)
41 - 50	-	1 ( 4.0)	-	78 (15.6)
51 - 60	-	-	-	67 (13.4)
61 - 70	-	-	-	40 ( 8.0)
71 - 80	-	-	-	22 (4.0)
81 - 90	-	-	-	6 (1.2)
91 - 97	-	-	-	1 (0.2)
TOTALES	2 (8.0)	23 (92.0)	2 (0.4)	498 (99.6)

: Porcentajes calculados considerando como 100%: Los 25 en pacientes con diagnóstico de cisticercosis y los 500 en pacientes tomados al azar.

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS 525 PACIENTES ESTUDIADOS RELACIONANDOLOS CON EL SEXO

SEXO	CON DIAGNOSTICO DE CISTICERCOSIS		A L A Z A R	
	P O S I T I V A S	N E G A T I V A S	P O S I T I V A S	N E G A T I V A S
MASCULINO	2 (8.0) *	10 (40.0) *	1 (0.2) *	209 (41.8) *
FEMENINO	-	13 (52.0)	1 (0.2)	289 (57.8)
T A L	2 (8.0)	23 (92.0)	2 (0.4)	498 (99.6)

\* Porcentajes calculados considerando como 100%: Los 25 en pacientes con diagnóstico de cisticercosis y los 500 en pacientes tomados al azar.

PACIENTES QUE ESTABAN SIENDO TRATADOS CON ESTEROIDES Y TIEMPO DE ADMINISTRACION PREVIO A LA REALIZACION DE LA PRUEBA.

No. DE PACIENTES	TIEMPO DE TRATAMIENTO CON - ESTEROIDES PREVIO A LA PRUEBA
1	1 día
1	4 días
1	6 días
2	8 días
1	10 días *
6	1 mes **
1	5 meses **
1	3 años **
1	5 años **
T O T A L 15	

\* Dos de estos **pacientes** tenían historia de Tomografía axial computarizada positiva.  
 \*\* Períodos de tiempo que tenían los pacientes de haber sido intervenidos quirúrgica-

## DISCUSION

El porcentaje de positividad obtenido en las 25 muestras de pacientes con diagnóstico presuntivo de cisticercosis fue del 8% pues unicamente 2 muestras resultaron positivas, ambas pertenecían a pacientes que no habían recibido el tratamiento que usualmente se administra para aliviar la sintomatología de la cisticercosis.

Las 23 muestras restantes (92%) fueron negativas. Estos 23 pacientes que resultaron negativos estaban recibiendo tratamiento con analgésicos y anticonvulsivos pero solamente 15 de ellos estaban además recibiendo esteroides los cuales eran administrados por alguna de las diferentes vías (endovenosa, oral e intramuscular) y en diferentes dosis de acuerdo al peso y a la edad del paciente. Los períodos de tiempo en que habían estado recibiendo los esteroides previamente a la realización de la prueba pueden verse en el cuadro 4; y todos ellos estaban recibéndolos al momento de efectuarse la prueba. De los 8 restantes solamente uno presentaba hidrocefalia, hemiparesia y convulsiones que son los síntomas más frecuentes de la cisticercosis (13).

Este alto porcentaje de negatividad pudo deberse a diversos factores tales como que las pruebas de precipitación para ser positivas necesitan de altos niveles de anticuerpos en el suero (48) lo cual indica que son poco sensibles; esta baja sensibilidad fue demostrada por Rydzewski y col en 1975 después de comparar las pruebas serológicas de hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia y precipitación en gel (41) y por Blanco del Cid, quien utilizó esta prueba para detectar presencia de cisticercos en carnes procesadas (8). Por lo tanto factores tales como: Tratamiento con esteroides; los cuales como ya mencionamos deprimen la respuesta inmunológica del individuo (19,39) bajando los niveles de anticuerpos circulantes, o la deficiencia natural de anticuerpos, en individuos que genéticamente son malos formadores de ellos (16,25) conducirían a resultados --

falso-negativos. Al respecto es de hacer notar que cinco de los pacientes que estaban siendo tratados con esteroides tenían poco tiempo (Cuadro 4) de estarlos recibiendo por lo que es poco probable que esta haya sido la causa de su negatividad.

No debe descartarse sin embargo que el diagnóstico podría haber estado mal orientado por lo menos en 7 de los casos estudiados ya que entre los síntomas presentados por ellos no se observaba ninguno de los más característicos como son hidrocefalia, convulsiones e hipertensión intracraneana (13). Existe la posibilidad asimismo de que alguna cepa de cisticercos poco frecuente en los cerdos se establezca frecuentemente en humanos, o bien que la cisticercosis sea causada por larvas de más de una especie de tenias (43). Además sería importante conocer hasta que punto el cisticercos es capaz de estimular producción de anticuerpos en el huésped ya que para que se produzca una reacción visible es necesaria una buena cantidad de ellos y esto dependerá del estímulo antigénico y de la capacidad de formarlos por parte del huésped (25).

De los 500 pacientes tomados al azar 2 (0.4%) fueron positivos a la prueba, como eran pacientes que no presentaban ninguna sintomatología, suponemos que los cisticercos estaban localizados en partes no vitales del cuerpo o que este resultado obedecía a pruebas cruzadas debido a otras parasitosis; desgraciadamente no nos fué posible localizar a los pacientes para confirmar la causa. Resultados similares fueron obtenidos en México por Woodhouse y col. (50) en sus estudios seroepidemiológicos, usando la técnica de inmunoelectroforesis, demostrando una frecuencia de 0.43% de individuos con anticuerpos séricos al antígeno de *Cysticercus cellulosae* de cerdo. Asimismo usando la misma técnica Tarazona y col. en una muestra de 2.172 sueros obtenidos al azar encontraron 14 individuos con anticuerpos al antígeno larvario, indicando que un 0.64% de la población ha tenido contacto con el antígeno (46). Las 498 restantes fue-

ron negativas a la prueba de inmunodifusión en gel. El porcentaje obtenido por nosotros, podría ser un índice de que la incidencia de la cisticercosis humana es baja en nuestro país, sin dejar de tomar en cuenta que algunas pruebas inmunológicas más exactas sólo detectan el 50% de los casos (43,50). El hecho de que la cisticercosis no sea tan frecuente en este país podría deberse a que aunque los consumidores de carne de cerdo no conocen la enfermedad si saben por tradición que la carne de cerdo es "mala" y por eso la cocinan bien, disminuyendo así la posibilidad de contaminación.

En conclusión la prueba de inmunodifusión en gel reúne condiciones que son importantes en nuestro medio como son la de ser sencilla y económica, pues para su realización solo se requiere agarosa al 1%, cajitas de petri o moldes templados, antígeno, antisuero y thimerosal al 1:1000 por lo que se apega a las condiciones de trabajo con que cuentan la mayoría de laboratorios de nuestro país, además esta prueba no es traumática para el paciente y proporciona un reporte rápido. Sin embargo, después de analizar los resultados obtenidos creemos que esta técnica tiene un valor diagnóstico limitado ya que su sensibilidad es poca como ya fué mencionado; y sobre su especificidad podemos decir que aunque en este estudio no hubo reacciones cruzadas con los sueros de pacientes que padecían otras enfermedades sistémicas, anteriormente se ha demostrado que reacciones cruzadas con sueros de pacientes que padecían equinocosis (41) u otras parasitosis pueden ocurrir (22).

Por todo lo anterior consideramos que una prueba positiva tendrá más valor diagnóstico que una negativa, toda vez que - aquella se acompañe de la sintomatología que usualmente se observa en la cisticercosis. Para terminar esperamos que el presente trabajo haga surgir nuevas inquietudes para que se realicen en nuestro país más estudios tendientes a mejorar esta -- técnica.

## CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos sugieren que la prueba de inmunodifusión en gel es más efectiva en pacientes que no han recibido tratamiento inmunosupresor previo a la realización de la prueba. Los sueros positivos a la prueba pertenecían a pacientes que no habían sido tratados.
2. El presente estudio indica que la prueba de inmunodifusión en gel proporciona alguna información que podría ser de alguna ayuda al médico ya que lo orientaría en el diagnóstico de la enfermedad. Además es una técnica de bajo costo, sencilla, que ofrece resultados rápidos y no es traumática para el paciente, por lo que podría ser usada como una prueba tamiz y estaría al alcance de cualquier paciente.
3. Creemos que un resultado positivo, dada la baja sensibilidad de la prueba, sería de mucho valor para el diagnóstico de la enfermedad si es relacionada con la sintomatología presentada por el paciente.
4. Hasta la fecha parece que el método más confiable es el de ELISA tal como lo reporta Téllez Girón (48).
5. La obtención de un antígeno del cisticerco que no sea compartido por otros parásitos sigue siendo un problema de difícil solución. Demás está decir que una preparación antigénica tan cruda como la usada en el presente trabajo difícilmente sería una solución a este problema.

## RECOMENDACIONES

1. Dadas las características que reúna la prueba de inmunodifusión en gel podemos recomendar su uso en los laboratorios del país.
2. Es recomendable que el médico envíe al paciente antes de iniciar cualquier tipo de tratamiento para verificar esta prueba.  
En caso de resultar la prueba negativa no se debe descartar que sea una cisticercosis, pues podría deberse a que el sistema inmunológico del paciente esté débil por diversas causas y la reacción no pueda ser visible.
3. Desafortunadamente en este estudio no fué posible purificar más el antígeno, por lo que quisieramos recomendar que se efectuaran trabajos posteriores que incluyan la purificación del antígeno y más pruebas de especificidad si es posible.

- Thimerosal 1: 1000

1 gramo de thimerosal

1 litro de solución salina 0.85%

Mezclar y guardar en refrigeración

- Azida Sódica 1: 1000

1 gramo de Azida Sódica

1 litro de solución salina al 0.85%

Mezclar y guardar en refrigeración

- Agarosa 1%

1 gramo de agarosa

100 ml de solución salina con thimerosal al 1: 10.000

Preparación:

La mezcla se coloca en un erlenmeyer y luego se calienta en Baño de María o directamente al fuego hasta que clarifique, posteriormente se esteriliza en el autoclave.

Se deja enfriar un poco y luego se dispensan 2 cc de la solución en frasquitos de vidrio estériles y se guardan en refrigeración hasta su uso.

Al momento de su uso, licuar por medio de calor para luego verter en los moldes templados o en cajas de Petri.

## BIBLIOGRAFIA

1. Acha, P.N. et al. Studies on Cysticercosis in Central América and Panamá. Am. J. Trop. Med. Hyg. 13: 48-53, 1964.
2. Anderson, R. I. Current and Potential Value of Inmuno diagnostic Tests Employing Whole Organisms. In Inmunodiagnosis of Helminthic Infections. Am. J. of Hy. Mon. Series 22: 97-107, 1963.
3. Archivos del Departamento de Patología del Hospital Rosales de El Salvador. 1978-1981
4. Beck, J.W. y col. Parasitología Médica. 3a. ed. México D.F. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1983.
5. Bellanti, J.A. Inmunología II. 2a. ed. México D.F., Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1980.
6. Biagi, F. Enfermedades Parasitarias. 2a. ed. México D.F., Editorial La Prensa Médica Mexicana, 1975.
7. Binford, C.H. et al. Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C., 1976.
8. Blanco del Cid, N.H. Uso de la Inmunoprecipitación para el Diagnóstico de la Cisticercosis Porcina en Carnes Procesadas. Tesis Médico Veterinario. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Dic. 1979.

9. Calderón Jaimes, E. Conceptos clínicos de Infectología. 3a. ed, México, Editorial Méndez Cervantes, 1976.
10. Canelas, H.M. Tropical Neurology. Argentina López Libreros Editores S.R.L., 1963
11. Carbajal, J.R., et al. Radiology of Cysticercosis of the Central Nervous System Including Computed Tomography. Radiology 125 (1): 127-3, 1977.
12. Davis, D.B., et al. Tratado de Microbiología con Inclusión de Inmunología y Genética Molecular. 2a. ed. Masschusetts, Harper International Edition, 1983.
13. De la Torre, J., y col. Cisticercosis Cerebral en el Niño. Bol. Med. Hosp. Inf. 2: 643-654, 1954.
14. Dixon, H.B.F., et al. Cysticercosis: An Analysis and follow-up of 450 cases. Med. Res. Counc. Spec. Rep. Ser. 299: 1-59, 1951
15. Faust, E.C., y col. Parasitología Clínica. 1a. ed. España, SALVAT EDITORES, S.A., 1974.
16. Flisser, A. col. Antígenos y Anticuerpos que participan en la Respuesta Inmune del Hombre a la Cisticercosis. Segundo Congreso Nacional de Inmunología. México, 1-5 de Octubre 1978,
17. ----- . Inmunidad a la Cisticercosis. Segundo Congreso Nacional de Inmunología. México, 1978.

18. García Castro, R. Información sobre Tomografía Axial Computarizada. San Salvador, El Salvador, 1984. Comunicación Personal.
19. Goth, A. Farmacología Médica. 8a. ed. España, Ediciones DOYMA, S.A., 1979.
20. Grisolia, J.S., et al. Central Nervous System Cysticercosis. Arch. Neurol. 39: 540-544, 1982.
21. Guerra Sánchez, O., y col. Características Bioquímicas e Inmunológicas del Antígeno de Cysticercus cellulosae más frecuentemente reconocido por los humanos. Segundo Congreso Nacional de Inmunología. México, 1978.
22. Kent, J.F. Current and Potential Value of Immunodiagnostic Tests Employing Soluble Antigens. In Immunodiagnosis of Helminthic Infections. Am. J. of Hy., Monogr. Series 22: 68-83, 1983.
23. Kent, J.F., Fractionation, Isolation and Definition of Antigens from Parasitic Helminths. In Immunodiagnosis of Helminthic Infections. Am J. of Hy. Monogr. Series 22: 30-43, 1963.
24. Kistler, J.P., et al. Computerized Axial Tomography: Clinicopathologic Correlation. Neurology. 25: 201-209, 1975.
25. Knierim, F. El valor de las Reacciones Serológicas en el Diagnóstico de algunas Infecciones Parasitarias. Bol. Chile. Parasit. 19: 119-123, 1964

26. Lara Estrada, A. Prevalencia de Cisticercosis en Cerdos Criollos de Abasto. El Salvador, Departamento de Investigación Veterinaria Centro de Desarrollo Ganadero MAG. 1984. (No Publicado)
27. Latovitzki, N., et al. Cerebral Cysticercosis. *Neurology* 28: 832-842, 1978.
28. Lee, L.H., et al. Cranial Computed Tomography. Editors - McGraw Hill Book Company, 1983.
29. Lynch, M.J., y col. Métodos de Laboratorio. 2a. ed. México. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1972.
30. Manson Bahr, F.H. Enfermedades Tropicales. 14a. ed. España, SALVAT EDITORES, S.A., 1960.
31. Markell, E.K., y col. Parasitología Médica. 3rd. ed. México, Talleres de Tipografía Barsa, S.A., 1973.
32. Matheu Llord, T. La cisticercosis en el país. Valor de una reacción de Precipitación para el Diagnóstico de la Cisticercosis Cellulosa. *Arch. Col. Med. El Salvador*. 14: 101-114, 1961.
33. Maza Brizuela, G. Información sobre Radiología. San Salvador, El Salvador, 1984. Comunicación Personal.
34. McCormick, G.F., et al. Cysticercosis Cerebri. *Arch. Neurol.* 39: 534-539, 1982.

35. OIRSA/BID/Conaplan. Análisis y Complementación del Diagnóstico de la Situación Sanitaria de la Ganadería en la República de El Salvador, 1975.
36. Pinto Pupo, P. Cysticercosis of the Nervous System Cal-Manifestations. Rev. Neuropsiquiatr. 27: 70-82, 1964.
37. Ramírez Amaya, J. Cisticercosis Cerebral Humana. Arch. Col. Med. El Salvador. 13 (1) : 20-44, 1960
38. Ramsey, R.G. Neuroradiology With Computerized Tomography. Editorial W.B. Sanders Company, 1981.
39. Rosenstein, E. Diccionario de Especialidades Farmaceuticas. 13a. ed. México, Impresora y Editora Mexicana, S.A. de C.V., 1981.
40. Russell, M. Los Nemátodos. En Todd-Sanford. Diagnóstico Clínico para el Laboratorio. 6a. ed. Barcelona, Salvat Editores, 1978. Pag. 1081-1086.
41. Rydzewski, A.K., et al. Comparison of Serologic tests for human Cysticercosis by Indirect, Immunofluorescent Antibody, and Agar Gel Precipitin Tests. J. Parasitol. 61 (1) : 154-5, 1975.
42. Sawhney, B.B., et al. Pseudohypertrophic Miopathy in Cysticercosis. Neurology 26: 270-272, 1976.
43. Sierra, A., y col. Diferencias Antigénicas en Cysticercus cellulosae. Segundo Congreso Nacional de Inmunología. México, 1978.

44. Soriano, E.G. y col. Incidencia de Hidatidosis y Cisticercosis en porcinos en El Salvador. Arch. Col. Med. El Salvador. 21: 31-35, 1968
45. Stepien, L. Cerebral Cysticercosis in Poland: Clinical -- Symptoms and Operative Results in 132 cases. J. Neurosurg. 19: 505-513, 1962.
46. Tarazona, M. y col. Teniasis-Cisticercosis: Frecuencia de Anticuerpos Humanos a la larva de T. solium y de portadores de la forma adulta de Taenia sp. en Ciudad Nezahualcoyotl, México, D.F. Segundo Congreso Nacional de Inmunología. México, 1978.
47. Téllez Girón, E. y col. Aplicación del Método ELISA para el Diagnóstico de la Cysticercosis. Bol. of Sanit. Panam. 97 (1). 1984
48. Thorson, R. The use of "Metabolic" and Somatic Antigens in the Diagnosis of Helminthic Infections. In Immunodiagnosis of Helminthic Infections. Am. J. of Hy. Monogr. Series 22: 60-65, 1963.
49. Varela, D.M. y col. Técnicas para el Diagnóstico Inmunológico de Hidatidosis Humana. Bol. Ofi. Sanit. Panamer. 7, 1974.
50. Woodhouse, E. y col. Seroepidemiología de la Cisticercosis Humana en la República Mexicana. Segundo Congreso Nacional de Inmunología. México, 1978.
51. Yarzabal, L. Técnicas de Inmunoprecipitación para el Diagnóstico de Micosis. Centro para Investigaciones y Adiestramiento de Lepra. Caracas, Venezuela, 1978.