

ANALISIS POR INMUNODIFUSION E INMUNOELECTROFORESIS EN GEL DE AGAR, DE DIVERSOS PREPARADOS ANTIGENICOS DE QUISTES HIDATIDICOS DE PROCEDENCIA BOVINA

POR

(1) J. Tormo, A. Chordi y (2) J. González Castro

INTRODUCCION

Líquido hidatídico (LH), obtenido de larvas localizadas en diferentes especies animales o en el hombre, ha venido utilizándose como antígeno en reacciones inmunodiagnósticas de precipitación ¹¹, cutirreacción ⁷, fijación del complemento ¹³, ³², floculación con bentonita ¹⁵ o látex ¹⁴ y hemaglutinación indirecta ⁸, ¹², ¹⁴, ⁵. Aunque algunos investigadores ¹², ² no han encontrado diferencias entre los antígenos hidatídicos procedentes de diversas especies, otros, ¹⁷, ²⁶, por el contrario, sí las han hallado. El análisis antigénico de LH humano ²³ y LH ovino ²⁵, ⁹, ha demostrado que existen componentes no parasitarios, sino propios del huésped.

Por otra parte, los métodos de inmunodifusión e inmunoelectroforesis han sido utilizados con éxito en el análisis antigénico de parásitos ³⁰, ³. Siguiendo estas técnicas, estamos interesados en conocer la composición antigénica de diferentes preparados, obtenidos a partir de quistes hidatídicos bovinos, así como la influencia que las proteínas séricas del huésped puedan tener en la composición de estos extractos antigénicos complejos.

MATERIAL Y METODOS

El LH utilizado en este trabajo fue obtenido de quistes hepáticos y pulmonares de vaca, en los que previamente se había comprobado su fertilidad. Dos litros de LH hepático (LHV-H) y otros dos de LH

(1) Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Navarra.

(2) Instituto "López-Neyra" de Parasitología. Sección de Inmunología.

pulmonar (LHV-P), fueron centrifugados a 3.500xg durante 15 minutos y a 4°C para separar la arena hidatídica, dializados después y, por último, concentrados diez veces por evaporación a 30°C y a presión reducida.

Los escolex se obtuvieron por centrifugación del LHV-H. Cada volumen de sedimento de escolex se suspendió en dos volúmenes de suero fisiológico y fue sometido a la acción de ultrasonidos (1) (20 Kc por segundo) durante 5 minutos, fraccionados en sesiones de 30 segundos y en condiciones de refrigeración. El período de extracción se efectuó a 4°C a lo largo de cuatro días. Por último, se centrifugó a 7.000xg durante 15 minutos y a 4°C y el líquido sobrenadante fue utilizado como antígeno (EHV).

Las membranas germinativas de varios quistes hepáticos se suspendieron en dos volúmenes de suero fisiológico, y se trituraron finamente en condiciones de refrigeración. A continuación fue efectuada la ultrasonación, extracción y centrifugación, del mismo modo que para EHV. El sobrenadante que se empleó como antígeno fue denominado MHV.

Ejemplares adultos de *Echinococcus granulosus* fueron obtenidos del intestino de uno de los perros, en el que la infestación experimental, a partir de quistes bovinos fértiles, fue positiva. Los pequeños Cestodes, una vez recogidos y lavados, fueron suspendidos en suero fisiológico y tratados de modo análogo al descrito para el antígeno EHV. El extracto antigénico preparado se denominó Eg.

El suero de vaca normal (SVN) se obtuvo de un animal que no presentaba ninguna lesión ni signo de enfermedad. Los quistes hidatídicos hepáticos y pulmonares, así como el SVN, procedían de ganado vacuno sacrificado en el Matadero Municipal de Pamplona.

Fueron preparados antisueros frente a LHV-H, LHV-P y SVN, por inmunización de dos conejos machos con cada antígeno. Los inmunosueros anti-LHV-H y anti LHV-P fueron obtenidos mediante inyección subcutánea de una primera serie de seis dosis de 2 ml de LH y 2 ml de coadyuvante incompleto de Freund, administradas a lo largo de 15 días. La segunda serie consistió en 12 inyecciones de 4 ml de LH y 2 ml de coadyuvante, en un período de 48 días. El inmunosero anti-SVN se obtuvo por inyección subcutánea de 20 dosis de 1 ml de suero y 1 ml de coadyuvante, durante un período

de inmunización de 68 días. La sangría total de los conejos se efectuó 8 días después de la última inoculación.

El antisuero anti-proteína C reactiva (CRPA), fue obtenido comercialmente (1) y utilizado para la investigación de proteína C reactiva en los inmunosueros anti-LHV-H, anti-LHV-P y anti-SVN. Un suero humano que dió una lectura de +++ frente a CRPA, por precipitación en tubo capilar, fue empleado como fuente de proteína C reactiva (CRP) y utilizado para estudiar la presencia de sustancia C en los antígenos LHV-H, LHV-P, Eg y SVN.

Tanto los antígenos como los inmunosueros, y el suero humano rico en CRP, se conservaron liofilizados en ampollas de 1 ml hasta el momento de su utilización.

Las pruebas de inmunodifusión en gel de agar fueron realizadas de acuerdo con el método de OUCHTERLONY²⁵, modificado por ABELEV¹, en portaobjetos de 5 x 7,5 cm. y sobre agar Noble al 1 % en buffer fosfato salino pH 7,2 y fuerza iónica 0,0175.

La técnica de inmunoelectroforesis, sobre portaobjetos de 2,5 x 7,5 cm ha sido efectuada según el micrométodo de SCHEIDEGGER²⁶, con algunas modificaciones¹⁰. El medio semisólido fue agar Noble al 2 % en buffer veronal pH 8,6 y fuerza iónica 0,035. Una placa control con dextrano y suero humano normal, sirvió para la determinación de movibilidades electroforéticas de los siete componentes del LHV-H procedentes del huésped (figura 11 y Tabla V).

El tiempo de duración de la electroforesis se reguló en cada placa, por la emigración visible de solución de azul de bromofenol. El canal para el inmunosero, de 2 mm. de anchura, y la excavación central para el antígeno, de 2 mm de diámetro, dejaban entre antígeno e inmunosero 3 mm de agar como zona de inmunoprecipitación. Una vez concluída la difusión a 37°C se procedió al lavado con buffer-fosfato pH 7,8 y por último al secado de las placas bajo papel de filtro.

Las bandas de precipitación, obtenidas por inmunodifusión e inmunoelectroforesis, se tiñeron por rojo thiazina al 0,2 % en buffer-acetato y posterior decoloración con ácido acético y glicerol al 1 %.

La lectura de la precipitación para investigación de CRPA y CRP se realizó después de mantener los capilares durante dos horas a 37°C y, a continuación, toda la noche a 4°C. En estas condiciones un precipitado de 1 mm de altura se evaluó como +, 2 mm como ++ y así sucesivamente.

(1) Desintegrador Ultrasonidos M. S. E. 100 W. 50 C.

(1) Schieffelin & Co., New York 3. N. Y.

RESULTADOS

De los conejos inmunizados con LHV-H, LHV-P y SVN se seleccionaron los inmunosueros que presentaron títulos más elevados por precipitación en tubo capilar. El inmunosero anti-LHV-H elegido dió precipitación al 1/48.000; el anti-LHV-P al 1/32.000 y el inmunosero anti-SVN diluido al 1/128.000 precipitó con su antígeno homólogo. Estos antisueros fueron utilizados para efectuar el análisis de los antígenos hidatídicos y estudiar sus relaciones con las proteínas séricas del huésped.

A.—Por Inmunodifusión.

En la Tabla I y en las figuras 1 a 6, se representaron los componentes de diversos antígenos de la larva hidatídica de *Echinococcus granulosus* adulto y de suero de vaca normal, obtenidos en placa de Ouchterlony, frente a los inmunosueros seleccionados.

Frente al inmunosero anti-LHV-H (figs. 1 y 2) se observaron cuatro componentes en el antígeno homólogo. Además fueron evidenciadas comunidades antigénicas entre LHV-H y LHV-P, EHV, MHV y SVN.

Frente al inmunosero anti-LHV-P (figs. 3 y 4) se pusieron de manifiesto cuatro componentes en el antígeno homólogo. Comunidades antigénicas fueron observadas entre LHV-P y LHV-H, EHV, MHV y SVN. Apareció clara reacción de identidad entre uno de los componentes de LHV-P, LHV-H y SVN.

Frente al inmunosero anti-SVN (figs. 5 y 6), el antígeno homólogo mostró cinco componentes y comunidades antigénicas con todos los antígenos preparados a partir de la larva hidatídica.

En ningún caso (figs. 2, 3 y 6), se observó comunidad entre los inmunosueros analizados y el extracto salino de ejemplares de *Echinococcus granulosus*, que constituye el estado parasitario adulto de esta zoonosis.

La Tabla II recogió los resultados de la investigación de CPR en los inmunosueros, que fueron positivos por precipitación en capilar y negativos por inmunodifusión en placa de Ouchterlony.

En la Tabla III se observó que, únicamente, el extracto antigénico de *Echinococcus granulosus* presentaba en su composición sustancia C. La banda en Ouchterlony es soluble en citrato trisódico al 5 %.

La técnica de inmunodifusión en placa resulta ser mucho menos

sensible que la de la precipitación en tubo capilar, para la investigación de sustancia C o de CPR.

B.—Por Inmunoelectroforesis.

En la Tabla IV se expuso el número de componentes totales de los cuatro extractos, obtenidos a partir de la larva hidatídica, frente al inmunosero anti-LHV-H, así como el número de componentes procedentes del huésped, detectados frente al inmunosero anti-SVN. Es de destacar que los cuatro preparados de la larva hidatídica presentaron abundantes componentes comunes con las proteínas séricas del huésped.

En la figura 7, se representaron los 15 componentes del LHV-H, siete de los cuales parecen ser del huésped, puesto que también aparecieron en la inmunoelectroforesis desarrollada frente a anti-SVN. De acuerdo con sus movibilidades electroforéticas relativas a la albúmina humana (Tabla V), los siete componentes del huésped se repartieron entre las zonas Albúmina, α_1 , α_2 , β_1 y γ -globulinas séricas. Por inmunoelectroforesis del LHV-P frente al inmunosero anti-LHV (fig. 8), se detectaron 10 componentes antigénicos, de los que cinco eran procedentes del huésped. En idénticas condiciones, EHV presentó cuatro componentes del parásito y seis del huésped (fig. 9). Por último, MHV mostró nueve componentes en total, de los cuales dos eran parasitarios y los siete restantes del huésped (fig. 10).

DISCUSION

El LH bovino, empleado en el presente trabajo, se ha comportado con menor capacidad antigénica que el LH ovino, utilizado con anterioridad, por uno de nosotros ¹³, en el proceso de inmunización del conejo. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos "in vitro" por PAULUZZI ¹⁹ que, por medio de la reacción de fijación del complemento, consigue un título mucho más alto con LH ovino que con LH bovino. Por otro lado, la Escuela francesa de BIGUET ²⁰, en contra de la opinión de otros investigadores ^{12, 2, 18}, considera la diferente actividad antigénica de LH procedencia diversa, llegando incluso a controlar por inmunoelectroforosis cada lote de LH, antes de ser utilizado como antígeno.

En nuestra experiencia, el LH bovino —tanto de hígado como de pulmón—, presenta cuatro componentes antigénicos frente a los in-

munisueros homólogos, cuando se analiza por inmunodifusión. En la bibliografía no hemos hallado ningún trabajo que se ocupe de los componentes del LH bovino demostrados por esta técnica, pero otros autores ²² sí han encontrado dos componentes en LH humano, 4-5 en el ovino y hasta ocho en el porcino.

El LH bovino de hígado y de pulmón, no tienen una composición antigénica totalmente idéntica, pues existe al menos un componente que es propio del LH pulmonar (figs. 3 y 4). En relación con los componentes antigénicos de procedencia tisular, KAGAN ²⁰ ha demostrado, por técnicas de difusión en agar, que LH de larvas de *Echinococcus granulosus* y *Echinococcus multilocularis* tienen componentes antigénicos comunes con homogeneizados totales del órgano del huésped, donde se localiza la larva.

En este trabajo queda demostrado que el componente propio del LHV-P no es común con las proteínas séricas del huésped que indudablemente forman parte de los homogeneizados hepáticos y pulmonares. Este planteamiento parece indicar que el componente propio del LHV-P está relacionado precisamente con las proteínas específicas del pulmón.

El número de componentes antigénicos de EHV y MHV, procedentes de larvas hepáticas, no varía cuando estos preparados son enfrentados a inmunosueros anti-LHV-H y anti-LHV-P. Estos resultados indican que, tanto el LH hepático como el pulmonar, recogidos de larvas fértiles, contienen sustancias antigénicas que están presentes en los escolex y en la membrana germinativa.

Comunidades antigénicas entre los estados adulto y larvario, han sido descritas en las clases Nematodes ²³ y Cestodes. Dentro de este último grupo, sujetos con cisticercosis han demostrado poseer anticuerpos precipitantes y fijadores del complemento, que reaccionaban con extractos de *Taenia solium* ⁴. En la presente experiencia, referida a la hidatidosis bovina, no hemos encontrado comunidad antigénica entre LH hepático y pulmonar y *Echinococcus granulosus*, a pesar de que los lotes de LH empleados en el proceso de inmunización, procedían de quistes fértiles.

La presencia en LH de componentes antigénicos del huésped ya ha sido demostrada a través de fenómenos de anafilaxia en el co-baya ¹⁶, así como por reacciones de precipitación ² y hemaglutinación ²⁴. También por inmunodifusión se han identificado componentes antigénicos del huésped ¹⁹, ²¹, ²⁵, llegándose incluso a comprobar la

identidad de la albúmina y γ -globulina del suero humano con diversos componentes del LH del hombre ¹². En nuestra experiencia ha quedado claro que, no sólo el LH, sino también los escolex y membranas germinativas, poseen componentes procedentes de las proteínas séricas del huésped.

En el estudio de la especificidad de estas reacciones de precipitación en gel, es preciso considerar los componentes antigénicos del huésped, así como la posible presencia, en los extractos parasitarios, de sustancias de tipo C. En el presente trabajo, hemos encontrado por inmunodifusión, una banda de precipitación entre *Echinococcus granulosus* adulto y un suero humano rico en CPR. BIGUER y col., ³ citan la presencia de sustancias de tipo C en todos los antígenos de helmintos, analizados por OUCHTERLONY. Estos últimos investigadores ⁶ han encontrado, en el LH del caballo, un arco inmunolectroforético identificado como sustancia de tipo C, mientras que nuestros resultados, por OUCHTERLONY y precipitación en tubo capilar, han sido negativos para LH bovino.

Por inmunolectroforesis, hemos encontrado 15 componentes antigénicos en el LHV-H, mientras que otros autores encuentran 19 componentes en el LH de caballo ⁶ y 9 en el LH ovino ²¹.

De todos los extractos antigénicos preparados, a partir de las diferentes estructuras de la larva hidatídica, LHV-H es el que presenta mayor número de componentes parasitarios. Este resultado está de acuerdo con los de KAGAN y col., ²¹, e indudablemente parece correcto considerar al LHV-H, recogido de larvas fértiles, como el antígeno larvario más completo y representativo.

El antígeno MHV da la cifra proporcionalmente más elevada de componentes del huésped y, por ello, su utilización como antígeno en pruebas diagnósticas puede ser causa de numerosas reacciones inespecíficas.

El número de componentes del huésped presentes en los diferentes extractos antigénicos, preparados a partir de las diversas estructuras larvarias, parece guardar una cierta relación con la proximidad entre el tejido del huésped y la estructura parasitaria considerada. La alta proporción de componentes del huésped, hallados en MHV sugiere la idea de que en la membrana germinativa podrían quedar retenidas muchas proteínas séricas del animal hospedador.

En EHV hemos encontrado también abundantes componentes del huésped, resultados que no concuerdan con los de otros autores ¹⁹,

²¹, ²⁰, que sostienen que el extracto de escolex contiene únicamente componentes propiamente parasitarios. Sin embargo, BIGUET ⁵ encuentra en la arena hidatídica de caballo, en la que indudablemente hay gran abundancia de escolex, cuatro componentes propios del huésped.

En las regiones electroforéticas α_1 y α_2 se encuentran seis de los ocho componentes antigénicos parasitarios y que por lo tanto tienen importancia en el serodiagnóstico de la hidatidosis. Ninguno de los extractos antigénicos, obtenidos a partir de la larva, está libre de componentes del huésped en las regiones señaladas. De acuerdo con estos hechos no consideramos conveniente intentar un fraccionamiento a nivel de estas zonas, pues no presentaría ventajas sobre el LH completo. Por otra parte, los intentos de fraccionamiento de LH a través de Sephadex G-200 M, DEAE celulosa y DEAE Sephadex (1), no han conseguido separar componentes antigénicos parasitarios y del huésped.

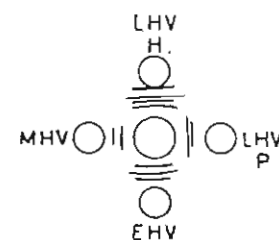


Fig. 1.- ANTI-LHV-H

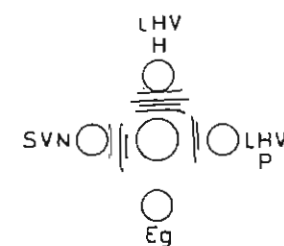


Fig. 2.- ANTI-LHV-H

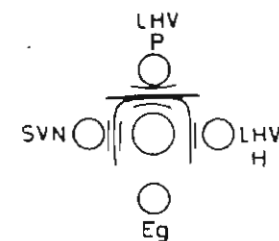


Fig. 3.- ANTI-LHV-P

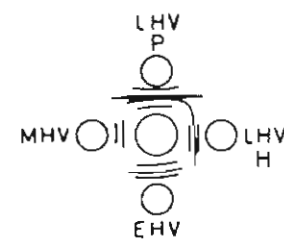


Fig. 4.- ANTI-LHV-P

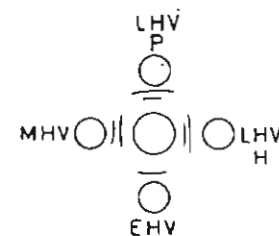


Fig. 5.- ANTI-SVN

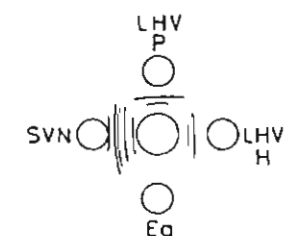


Fig. 6.- ANTI-SVN

Figuras 1 a 6.—Esquema de los componentes de diferentes antígenos hidatídicos, "*Echinococcus granulosus*" adulto, y suero de vaca normal, frente a los inmunosueros anti-LHV, anti-LHV-P y anti-SVN, por inmunodifusión según el método de Ouchterlony, modificado por Abelev

(1) Efectuados por KAGAN y col., ²⁴.

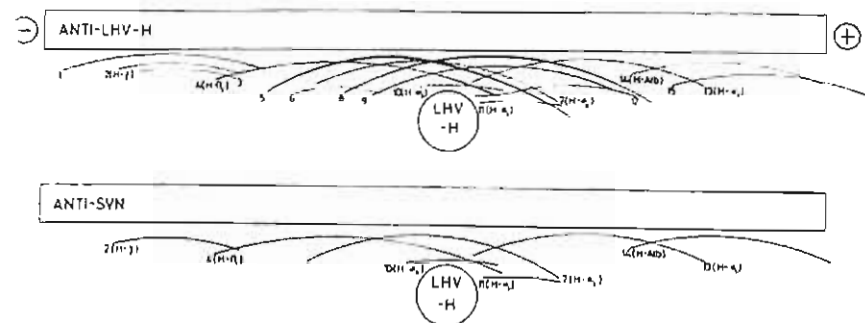


Figura 7.—Esquema de la inmuno-electroforesis del líquido hidatídico de hígado (LHV-H), frente al inmunosuero homólogo (anti-LHV-H) y al antisuero de vaca normal (anti-SVN)

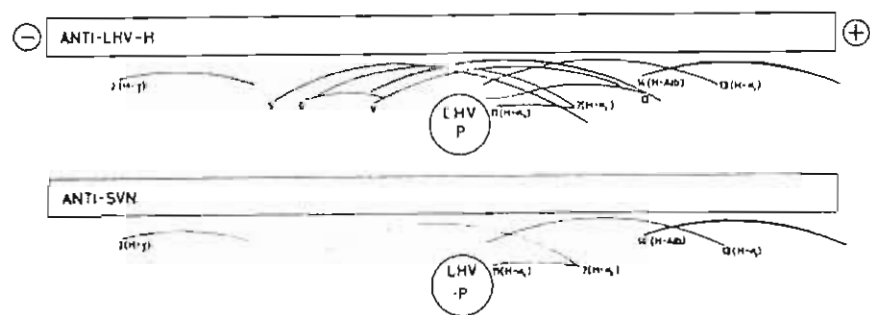


Figura 8.—Esquema de la inmuno-electroforesis del líquido hidatídico del pulmón (LHV-P), frente al inmunosuero obtenido por inoculación de líquido hidatídico de hígado (anti-LHV-H) y al antisuero de vaca normal (anti-SVN)

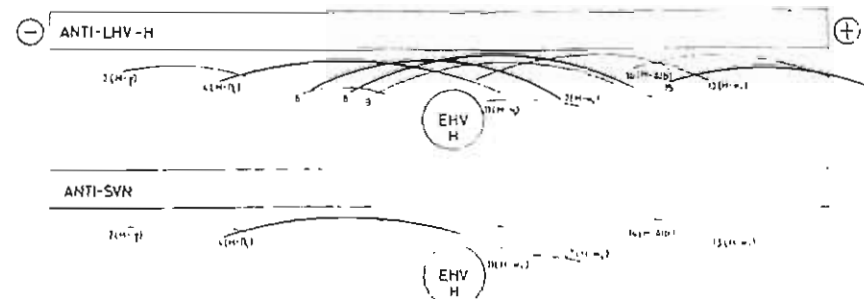


Figura 9.—Esquema de la inmuno-electroforesis del extracto antigénico de escolex de hígado de vaca (EHV-H), frente al inmunosuero obtenido por inoculación de líquido hidatídico (anti-LHV-H) y al antisuero de vaca normal (anti-SVN)

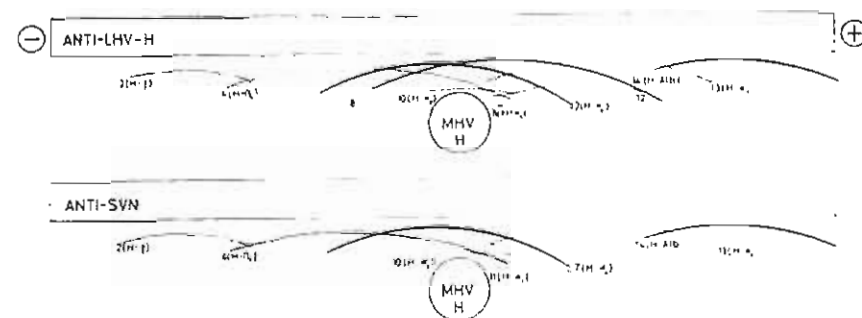


Figura 10.—Esquema de la inmuno-electroforesis del extracto antigénico de membranas germinativas de larvas hepáticas (MHV-H), frente al inmunosuero obtenido por inoculación de líquido hidatídico de hígado (anti-LHV-H) y al antisuero de vaca normal (anti-SVN)

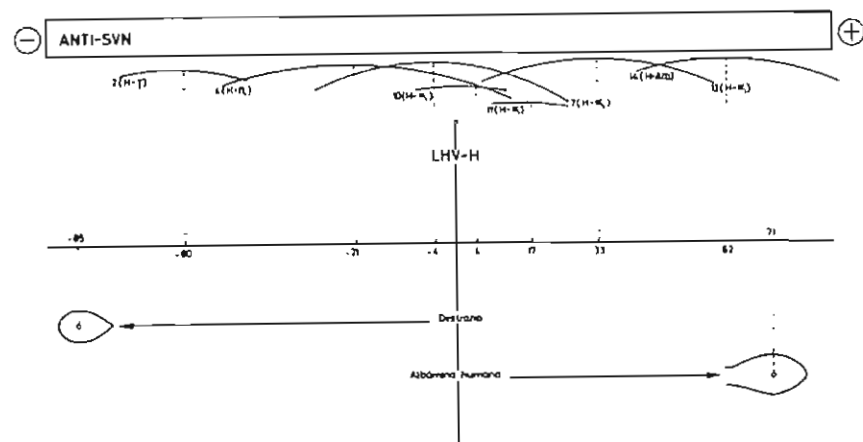


Figura 11.—Emigración electroforética del dextrano, de la albúmina del suero humano y de los siete componentes antigénicos del líquido hídrico de hígado de vaca (LHV-H), procedentes del huésped. De acuerdo con estos datos, han sido determinadas las movilidades electroforéticas relativas ($U_x/U_{alb. h.}$) y las posiciones electroforéticas comparadas con las del suero humano (Tabla V)

TABLA I

Número de componentes antigénicos de la larva hidatídica y del suero bovino normal, hallados por inmunodifusión, según la técnica de OUCHTERLONY, modificada por ABELEV

Antígenos	I N M U N O S U E R O S		
	Anti-LHV-P	Anti-LHV-H	Anti-SVN
LHV-H	4	3	2
LHV-P	2	4	2
EHV	3	3	1
MHV	2	2	2
Eg	0	0	0
SVN	3	3	5

TABLA II

Resultados de la investigación de CPR en inmunosueros, por el método de inmunodifusión de OUCHTERLONY y por precipitación en tubo capilar

	C P R A	
	OUCHTERLONY	Precipitación en tubo capilar
Anti-LHV-H	—	+++
Anti-LHV-P	—	++
Anti-SVN	—	++

TABLA III

Resultados de la investigación de sustancia C en antígenos, por el método de inmunodifusión de OUCHTERLONY y por precipitación en tubo capilar

C P R		
	OUCHTERLONY	Precipitación en tubo capilar
LHV-H	—	—
LHV-P	—	—
Eg	+ (1 banda)	+++
SVN	—	—

TABLA IV

Número de componentes antigénicos de la larva hidatídica frente a los inmunosueros anti-LHV-H y anti-SVN, hallados por inmunoelectroforesis, según el micrométodo de SCHEIDEGGER modificado

Antígenos	I N M U N O S U E R O S	
	Anti-LHV-H	Anti-SVN
LHV-H	15	7
LHV-P	10	5
EHV	9	6
MHV	9	7

TABLA V

Movilidad relativa a la albúmina humana (Ux/alb. h.) y posición electroforética, de los siete componentes antigénicos de la larva hidatídica procedentes del huésped

Componente antigénico	Desplazamiento en mm.	Desplazamiento real en mm.	Movilidad relativa Ux/alb. h.	Posición electroforética
Dextrano	—85	0	0	
2	—60	25	0,16	γ
4	—21	64	0,41	β_1
7	—4	81	0,52	α_3
10	4	89	0,57	α_2
11	17	102	0,65	α_1
13	33	118	0,75	α_1
14	62	147	0,94	Albúmina
Albúmina humana	71	156	1	

RESUMEN

Se analiza por inmunodifusión e inmunoelectroforesis la composición de diversos preparados antigénicos de quistes hidatídicos fértiles de procedencia bovina.

En el proceso de inmunización, el líquido hidatídico bovino tiene menor capacidad antigénica que el líquido hidatídico ovino, utilizado en un trabajo anterior.

Por inmunodifusión ha sido demostrado un componente antigénico propio del líquido hidatídico de quistes pulmonares. No hemos encontrado comunidad antigénica entre estados parasitarios adultos y larvarios. Se detecta la presencia de sustancias de tipo C en *Echinococcus granulosus*, pero no en líquido hidatídico.

Todos los preparados antigénicos de las diferentes estructuras de la larva están contaminados con proteínas séricas del huésped. En líquido hidatídico

hepático se diferencian 15 componentes antigénicos, de los que 8 son parasitarios y 7 del huésped. Seis de los 8 componentes propiamente parasitario; se encuentran en las regiones electroforéticas α_1 y α_2 y son consideradas de gran interés en el diagnóstico de la hidatidosis. Por último, no se cree conveniente intentar un fraccionamiento a nivel de las zonas electroforéticas α_1 y α_2 ya que en ellas también se han identificado componentes del huésped.

SUMMARY

The antigenic composition of various preparations of fertile hydatid cysts are analysed by immunodiffusion and immunoelectrophoresis.

In the immunization process the bovine hydatid fluid showed a lesser antigenicity compared to the ovine one used in a previous work.

An antigenic component proper to the pulmonary hydatid cyst fluid has been shown by immunodiffusion. We have been unable to demonstrate any common antigenicity between both the adult and larval parasitic states. The presence of type C substance has been detected in *Echinococcus granulosus* but not in the hydatid fluid.

Althe antigenic preparations different larval structure are contaminated with the host serum proteins. In the hepatic hydatid cyst fluid 15 antigenic components were differentiated, 8 of which are parasitic and the 7 of the host. Six of the 8 parasitic components are found in the electrophoretic zones α_1 and α_2 and are considered of great interest in the diagnosis of hydatidosis. Lastly no attempt has been made to fractionate the α_1 and α_2 electrophoretic zones because in these, host components too have been identified.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—ABELEV, G. I. y ZVETKOV, U. S. (1960).—Extraction d'un antigène spécifique d'hépatome transplantable de souris par la méthode d'immunofiltration. *Voprosyi Onkologii*, 6: 57.
- 2.—BENSTED, H. J. y ATKINSON, J. D. (1953).—Hydatid disease. Serological reactions with standardized reagents. *The Lancet*, 264: 265-268.
- 3.—BIGUET, J., ROSE, F., CAPRON, A. y TRAN VAN KY, PH. (1965).—Contribution de l'analyse immunoélectrophorétique a la connaissance des antigènes vermineux. Incidences pratiques sur leur standardisation, leur purification et le diagnostic des helminthiases par immunoélectrophorèse. *Revue d'Immunologie*, 29: 5-30.
- 4.—BURROWS, W. (1965).—Tratado de Microbiología. Editorial Interamericana, S. A. Decimooctava edición, pág. 752.
- 5.—CAPRON, A., BIGUET, J., VERNES, A. y AFCHAIN, F. (1968).—Structure antigénique des Helminthes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite. *Path. Biol.*, 16: 121-138.

- 6.—CAPRON, A., VERNES, A. y BIGUET, J. (1967).—Le kyste hidatique du foie. *Journées Lyonnaises d'Hydatidologie*, 27-40.
- 7.—CASONI, T. (1912).—La diagnosi biologica dell'echinococcosi umana mediante l'intradermoreazione. *Folia Clin. Chim. Micros.*, 4: 5-16.
- 8.—CHORDI, A., GONZALEZ-CASTRO, J., TORMO, J. y DIAZ, R. (1962).—Hemaglutinación indirecta con células formoladas en el serodiagnóstico de la Hidatidosis. *Rev. Med. E. G. de Navarra*, 1: 27-39.
- 9.—CHORDI, A. y KAGAN, I. G. (1965).—Identification and characterization of antigenic components of sheep hydatid fluid by immunoelectrophoresis. *J. Parasitol.*, 51, 1: 63-71.
- 10.—CHORDI, A., WALLS, K. W. y KAGAN, I. G. (1964).—Analysis of *Toxoplasma gondii* antigens by agar diffusion methods. *J. Immunol.*, 93: 1034-1044.
- 11.—FAIRLEY, K. D. (1923).—The investigations of the immunity reactions in hydatid disease. A preliminary report. *Med. J. Austral.*, 2: 27-37.
- 12.—GARABEDIAN, G. A., MATOSSIAN, R. M. y DJANIAN, A. Y. (1957).—An indirect hemagglutination test for hydatid disease. *J. Immunol.* 78: 269-272.
- 13.—GHEDINI, G. (1906).—Ricerche sul siero del sangue. *Gazzetta degli Ospedali, Milano*, 27: 1916.
- 14.—GONZALEZ-CASTRO, J. (1964).—Fijación de los antígenos hidatídicos por los hematíes de cordero formolizados o tratados con tanino antes, simultáneamente o después de la formolización. *Rev. Iber. Parasitol.*, 24: 255-282.
- 15.—GONZALEZ-CASTRO, J. y CHORDI, A. (1960).—Benthid, un nuevo antígeno para el serodiagnóstico de la hidatidosis. *Rev. Med. E. G. de Navarra*, IV: 45-55.
- 16.—GRAETZ, F. (1912).—Sind die bei Punktionen oder rupturen von hydatidencysten auftretenden schock zustände als Anaphylaxie zu deuten? *Ztschr. Immunität. und Exper. Therap.*, 15: 60-96.
- 17.—GRAÑA, A. (1945).—Alergia y diagnóstico biológico de la hidatidosis. *Arch. Uruguayos de Med., Cirug. y Especialidades*, 26: 538-559.
- 18.—HARIRI, M. N., SCHWABE, C. W. y KOUSSA, M. (1965).—Host-parasite relations hip in echinococcosis. XI. The antigen of the indirect hemagglutination test for hydatid disease. *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.*, 14: 592-604.
- 19.—KAGAN, I. G. (1961).—Gel-diffusion technique for the analysis of parasitic materials. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, 28: 97-102.
- 20.—KAGAN, I. G. (1963).—Seminar on immunity to parasitic helminths. VI. Hydatid diseases. *Exp. Parasitol.*, 13: 57-71.
- 21.—KAGAN, I. G. y NORMAN, L. (1961).—Antigenic analysis of *Echinococcus* antigens by agar diffusion techniques. *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.*, 10: 727-734.
- 22.—KAGAN, I. G. y NORMAN, L. (1963).—The isolation and characterization of two host antigens in hydatid fluid of *Echinococcus granulosus*. *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.*, 12: 346-357.
- 23.—KAGAN, I. G., NORMAN, L., ALLAIN, D. S. y GOODCHILD, C. G. (1960).—Studies on echinococcosis: non specific serologic relations of hydatid-fluid antigen with serum of patients ill with diseases other than echonococcosis. *J. Immunol.*, 84: 635-640.
- 24.—NORMAN, L. y KAGAN, I. G. (1966).—Preparation and evaluation of anti-

RECIENTES TECNICAS PARA EL SERODIAGNOSTICO DE LA HIDATIDOSIS

V. IMPORTANCIA DE LAS PRUEBAS DE LA BENTONITA, LATEX Y HEMAGLUTINACION INDIRECTA, EN LAS CAMPAÑAS SANITARIAS CONTRA LA HIDATIDOSIS

POR

José González Castro

La salud humana cuenta actualmente en su haber con una crecida suma de ganancias, como consecuencia del continuo progreso habido en los últimos años. Como en todo progreso, son múltiples y complejos los factores que lo promueven; sus raíces asientan y se nutren en las más diversas ciencias. A veces, paradójicamente, se cataliza por la concurrencia de acontecimientos de signo negativo, como las guerras, pero donde el ansia desmedida de poder, o el instinto de supervivencia, aguza el ingenio, estimula el trabajo, y pone a disposición de los hombres de ciencia, recursos inmensos, de los que carecían en condiciones ordinarias.

Pero dentro de esa complejidad, dos causas más destacadas contribuyeron a ese superávit de salud: el descubrimiento de fármacos extraordinariamente activos sobre los agentes de muchas enfermedades transmisibles, y la puesta a punto de nuevos métodos profilácticos, así como el perfeccionamiento y más racional aplicación de otros ya clásicos.

Si, descendiendo al detalle, analizamos la cifra de morbilidad y mortalidad para cada enfermedad transmisible, a escala mundial, notaremos, que, en algunas, realmente hubo poco progreso. Incluso aumentó en los últimos años su casuística, ya porque realmente ocurrió así, bien, porque permaneciendo estacionarias mejoraron los medios de diagnóstico, o por ambas causas. Entre este tipo de enfermedades podría incluirse la hidatidosis.

Contrasta este hecho, con que el conocimiento de su agente productor y ciclo evolutivo, aunque ha incorporado valiosos descubrimientos en los últimos años, el grueso del mismo cuenta ya con más

- gens for use in the serologic diagnostic of human hydatid disease. I. Identification and partial purification of the reactive elements in *Echinococcus granulosus* antigen prepared from sheep hydatid fluid. *J. Immunol.*, 96: 814-821.
- 25.—NORMAN, L., KAGAN, I. G. y CHORDI, A. (1964).—Further studies on the analysis of sheep hydatid fluid by agar gel methods. *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.*, 13: 816-821.
- 26.—NORMAN, L., SADUN, E. H. y ALLAIN, D. S. (1959).—A bentonite flocculation test for the diagnosis of hydatid disease in man and animals. *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.*, 8: 46-50.
- 27.—OUCHTERLONY, O. (1958).—Diffusion in gel methods for immunological analysis. *Ann. Allergy*, 5: 1-78.
- 28.—PAULUZZI, S. (1964).—La fissazione del complemento per l'idatidosi. I. Un micrometodo semiquantitativo. *Boll. Ist. Sieroted. Milán*, 43: 1-10.
- 29.—SCHEIDEGGER, J. J. (1955).—Une microméthode de l'immunoélectrophorèses. *Int. Arch. Allergy*, 7: 103-110.
- 30.—TORMO, J. (1965).—Componentes antigénicos de *Ascaris suum* (GOEZE, 1782), por inmunodifusión e inmunoelectroforesis. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria de la Universidad de Madrid.
- 31.—VAN DER HOLDEN, J. (1924).—Der Echinokokkenuntigen und der Eiweisgehalt der Echinokokkenflüssigkeit, *Münch. Med. Woch.*, 71: 77.
- 32.—WEINBERG, M. (1909).—Séro-diagnostic de l'echinococcose. *Ann. Inst. Pasteur*, 23: 472-502.