

**UNIVERSIDAD
AUTONOMA DE BARCELONA**

Departamento de Genética y Microbiología
FACULTAD DE MEDICINA
(Unidad Docente *Sant Pau*)

**CARACTERIZACION,
PURIFICACION
Y LOCALIZACION
INMUNOHISTOQUIMICA
DE LOS
ANTIGENOS MAYORITARIOS
DE
Echinococcus granulosus
ANTIGENO 5 Y ANTIGENO B**

Tesis que para optar al Grado de Doctor presenta

Fernando Sánchez Reus

Bajo la dirección de

Dra. Dña. Carmen Muñoz Batet
Profesor Asociado de Microbiología y Parasitología Médica
Departamento de Genética y Microbiología
Facultad de Medicina
(Unidad Docente de *Sant Pau*)
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA

Barcelona, Marzo de 1992

INMUNOLOCALIZACION DE LAS FRACCIONES ANTIGENICAS

El primer marcaje de anticuerpos, y consecuentemente la primera descripción de una técnica de inmunoquímica se remonta a 1934 (Marrack 1934), aunque realmente la inmunohistoquímica, tal y como se conoce hoy en día, no aparece hasta unos años mas tarde con los trabajos de Coons *et al.* (Coons, Creech, Jones & Berliner 1942), los cuales basándose en las experiencias de Marrack marcan anticuerpos con conjugados fluorescentes, y describen un protocolo útil para demostrar, mediante el empleo de anticuerpos específicos marcados, la presencia de antígenos en tejidos.

Tras la descripción de este primer método de inmunofluorescencia directa, en una posterior publicación, Coons & Kaplan (1950) nos introducen en los sistemas de marcaje indirecto con la preparación de conjugados y la descripción de una técnica de inmunofluorescencia indirecta.

El marcaje enzimático aparece unos años mas tarde con los trabajos de Nakane (1968) y de Avrameas (1969a, 1969b), los cuales marcan los anticuerpos con peroxidasa de rábano picante y emplean para su detección el método de la diaminobencidina descrito con anterioridad por Graham y Karnovsky (1966).

Posteriormente, se hacen múltiples intentos con el fin de amplificar la respuesta e incrementar así la sensibilidad, y en 1970 Sternberger *et al.* (Sternberger, Hardy, Cuculis & Meyer 1970) describen la técnica de la peroxidasa-antiperoxidasa.

Finalmente, en 1979 Guesdon *et al.* (Guesdon, Ternynck & Avrameas 1979), introducen en la inmunohistoquímica los métodos basados en la afinidad entre la avidina y la biotina, y posteriormente Hsu *et al.* (Hsu, Raine & Fanger 1981a, 1981b) mejoran la técnica y describen un método basado en el complejo avidina-biotina-peroxidasa (ABC).

El desarrollo de las técnicas de marcaje con oro coloidal se inicia, ya a nivel de la microscopía electrónica, en 1971 con Faulk & Taylor, pero el verdadero auge de esta metodología data de 1977, cuando Horisberger & Rosset consiguen marcar lectinas con oro coloidal y emplearlas para la tinción de secciones ultrafinas de microscopía electrónica de transmisión.

Es bien conocido que la especificidad de una reacción inmune depende mayoritariamente de la disponibilidad de unos antisueros específicos, pero también de la sensibilidad de la técnica empleada. Así en inmunohistoquímica, mediante el empleo de antisueros muy diluidos se consigue minimizar el marcaje de fondo inespecífica, aunque muchas veces es en detrimento de la sensibilidad.

Tras revisar la literatura sobre técnicas inmunohistoquímicas en microscopía óptica, diversos estudios comparativos (Hsu, Raine & Fanger 1981a, 1981b; Bergroth 1983) concluyen que, la técnica más sensible y que requiere para la inmunolocalización el empleo de una menor cantidad de antisuero primario, es la del complejo avidina-biotina-peroxidasa (ABC); de tal forma que mediante el empleo de la técnica ABC, la amplificación que se obtiene de la reacción antígeno-anticuerpo permite, sin que se reduzca la sensibilidad, trabajar con bajas concentraciones de antisueros.

A nivel de la microscopía electrónica, el oro coloidal debido a su alta densidad, es el marcador que consigue una mejor resolución para la localización de los antígenos, y es prácticamente imposible confundirlo con cualquier estructura biológica.

La presencia de antígenos parasitarios en las membranas quísticas o en los protoscólex de *E. granulosus* o *E. multilocularis* es un hecho bien conocido. En 1963 Fraga de Azevedo & Rombert introdujeron las técnicas de inmunofluorescencia indirecta sobre material parasitario para el diagnóstico serológico de la hidatidosis. Numerosos autores son los que han empleado protoscólex como antígeno particulado en la elaboración de pruebas serológicas que permitiesen detectar la presencia de anticuerpos específicos en sueros de pacientes afectos de hidatidosis (Sanchez, Sanchez & Albain 1977; Guisantes & Vicente 1983; Casado, Rodríguez-Cuabeiro & Jimenez 1985), y más recientemente la presencia de antígenos parasitarios ha sido propuesta para el diagnóstico histológico de la hidatidosis alveolar (Condon, Rausch & Wilson 1988).

Las comunidades antigénicas existentes entre los diferentes componentes estructurales presentes en los quistes hidatídicos de *E. granulosus*

(líquido hidatídico, membrana laminar, membrana germinativa y protoscólex), fueron estudiadas mediante doble difusión e inmunolectroforesis por Varela-Díaz & Torres en 1977, empleando antisueros específicos obtenidos por inmunización experimental de conejos con cada uno de los componentes estructurales antes mencionados. Estos autores, encontraron antígenos comunes entre la membrana germinativa, la membrana laminar y los protoscólex, entre los protoscólex y el líquido hidatídico y entre la membrana germinativa y el líquido hidatídico, pero no entre la membrana laminar y el líquido hidatídico.

La localización tisular de los antígenos mayoritarios de *E. granulosus* (antígeno 5 y antígeno B), ya fué previamente estudiada, por técnicas de inmunofluorescencia indirecta (Yarzabal, Dupas, Bout & Capron 1976; Yarzabal, Dupas, Bout, *et al.* 1977) y peroxidasa-antiperoxidasa (Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), sobre protoscólex y membranas quísticas de procedencia equina y ovina, pero no sobre material parasitario de procedencia humana. El estudio comparativo de los resultados obtenidos por los diferentes autores, conjuntamente con los resultados obtenidos en esta experiencia se encuentran resumidos en la tabla XVIII.

En trabajos previos se ha demostrado la presencia del Ag 5 en el parénquima (Yarzabal, Dupas, Bout & Capron 1976; Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978)

y en la pared de los conductos colectores (Yarzabal, Dupas, Bout & Capron 1976; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978) de protoscólex de *E. granulosus*, habiéndose implicado a las células parenquimatosas en la producción y almacenaje del Ag 5 (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), y al sistema excretor como posible responsable del transporte y liberación de este antígeno (Yarzabal, Dupas, Bout & Capron 1976; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), que tras su producción en las células parenquimatosas sería liberado a la substancia intersticial para alcanzar el sistema osmorregulador (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978). También se han apuntado otras posibles vías para la liberación del Ag 5 en el contenido de la cavidad quística, como pueden ser los

procesos de degeneración y lisis que, en proporción variable, sufren los protoscólex en el interior de la cavidad quística (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), la liberación por degeneración de células indiferenciadas de la región conectiva de la membrana germinativa (Bortoletti & Ferretti 1973), o la síntesis a nivel de estas mismas células (Yarzabal, Dupas, Bout & Capron 1976).

En nuestra experiencia, el empleo del antisuero monoespecífico anti-Ag 5 en la inmunolocalización sobre protoscólex de *E. granulosus* de procedencia humana, también ha permitido la detección del Ag 5 a nivel del parénquima parasitario (Figs 65 y 70) y en la pared de los túbulos colectores (Fig 73) pero en ningún momento se ha localizado en la luz tubular ni en las células flamíferas, así como tampoco en el tegumento, corpúsculos calcáreos ni estructuras musculares.

La observación de que a nivel del parénquima, el Ag 5 se asocia a áreas extracelulares no contrastadas (Fig 70), sin que pueda detectarse su presencia en las células parenquimatosas, apuntaría hacia un probable origen del antígeno relacionado con los procesos de lisis o remodelación de la matriz extracelular. De hecho, la matriz extracelular es un producto de origen, naturaleza y organización heterogéneos, secretado por las células de diferentes tejidos, que se encuentra en constante remodelación debido a la producción enzimática de las células colindantes, estimuladas por diferentes factores externos o por la misma matriz extracelular (Alexander & Werb 1989), esta formada por una intrincada red de macromoléculas estrechamente interrelacionadas, siendo su alta capacidad de hidratación una de las características más relevantes (Alberts, Bray, Lewis, *et al.* 1989). En nuestra experiencia, la constante remodelación de la matriz extracelular, ha sido indirectamente puesta en evidencia durante el desarrollo *in vitro* de los protoscólex (ver: Desarrollo de protoscólex cultivados *in vitro*), siendo ya bien conocido que son múltiples los procesos de remodelación que acompañan el desarrollo de un protoscólex y la diferenciación de éste ya sea en dirección quística o estrobilar (Ubelaker 1983a; Rogan & Richards 1986a; Mehlhorn, Taraschewski, Franz, *et al.* 1988b; Rogan & Richards 1989).

Hipóticamente, el Ag 5 derivaría de la remodelación de la matriz extracelular consecuente a la acción enzimática que sobre ella ejerce-

rían las células parenquimatosas, las cuales serían especialmente estimuladas por aquellos factores que fuesen capaces de inducir la diferenciación quística del parásito. El antígeno se encontraría en el interior de las vesículas hijas debido al propio proceso de remodelación ocurrido en el desarrollo de éstas a partir de los protoscólex. También sería liberado al contenido quístico a través del sistema excretor de aquellos protoscólex que no estuviesen en fase de diferenciación quística, y por último provendría de la lisis enzimática del parénquima parasitario de los protoscólex degenerados.

Apoyando esta hipótesis estaría la observación de las diferentes localizaciones demostradas del Ag 5, tanto en los protoscólex viables como a nivel de los degenerados, la caracterización química del Ag 5 como glucoproteína (Al-Yaman & Knobloch 1989; March, Enrich, Mercader, *et al.* 1991) y la baja antigenicidad de los grandes quistes acéfalos (Musiani, Piantelli, Lauriola, *et al.* 1978). El no haber podido localizar el Ag 5 a nivel de la luz tubular, podría estar relacionado con la elución de éste antígeno en los procesos de lavado una vez separado completamente de la trama de la matriz extracelular, lo que vendría reafirmado por el hecho (ver más adelante) de no haber detectado la presencia del antígeno en el contenido quístico, cuando en realidad la fuente empleada para la obtención de los antisueros ha sido este propio contenido quístico.

Experiencias previas habían localizado al Ag B en el tegumento de los protoscólex (Yarzabal, Dupas, Bout, *et al.* 1977; Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), especialmente asociado a las células tegumentarias de la región del escólex (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978) y a la cubierta PAS positiva que recubre el tegumento de la región del soma (Yarzabal, Dupas, Bout, *et al.* 1977; Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), aunque ya había sido apuntada la posibilidad de que este antígeno estuviese simplemente adsorbido sobre la cubierta PAS positiva (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), debido a las propiedades adhesivas de ésta (Morseth 1967). También se había descrito la localización del Ag B a nivel de las células parenquimatosas subtegumentarias (Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978) y en la superficie de los corpúsculos calcáreos (Rickard, Davies, Bout &

Smyth 1977), asociándose ésta última localización, conjuntamente con la descrita en la cubierta PAS positiva del tegumento, con la posible participación del Ag B en la actividad anticomplementaria (Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977) demostrada en estas estructuras (Kassis & Tanner 1976; Rickard, Mackinlay, Kane, *et al.* 1977), aunque estudios posteriores realizados por los mismos autores, mediante microscopía electrónica, no pudieron demostrar la presencia del Ag B a nivel de los corpúsculos calcáreos (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978).

La síntesis del Ag B se había propuesto a nivel del citoplasma perinuclear del tegumento anterior, y a través de los puentes citoplasmáticos alcanzaría la región del citoplasma distal, en donde el antígeno sería almacenado y posteriormente secretado hacia el interior de la cavidad quística (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978). Al igual que ocurría con el Ag 5, también se ha apuntado la posibilidad de que el Ag B se acumulase en el líquido hidatídico tras los procesos de degeneración de los protoscólex y de las células indiferenciadas asociadas a la membrana germinativa (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978).

En nuestra experiencia, la inmunolocalización del Ag B a nivel de los protoscólex, ha estado limitada a las áreas extracelulares no contrastadas del parénquima parasitario (Figs 70 y 71), pero a diferencia de lo que ocurría con el Ag 5, este antígeno no se ha localizado en la pared de los túbulos colectores, quizás por una mayor solubilidad del Ag B respecto al Ag 5 o un pase más rápido a través de la pared tubular justificado por su menor peso molecular (120-150.000 Da frente a los 400.000 Da del Ag 5) (Oriol, Williams, Perez-Esandi & Oriol 1971; Pozzuoli, Musiani, Arru, *et al.* 1972; Oriol & Oriol 1975; Piantelli, Pozzuoli, Arru & Musiani 1977). La misma hipótesis de producción y excreción expuesta con anterioridad para el Ag 5 podría ser asimilable a este antígeno, aunque el sistema sustrato-enzima pudiera ser diferente y por tanto el producto resultante. De todas formas, el hecho de no haber detectado la presencia de Ag B en los protoscólex degenerados excluiría esta procedencia, y sugeriría algún proceso activo de secreción como vía principal para la liberación del Ag B en el contenido quístico.

Los trabajos previos localizaban tanto el Ag 5 como el Ag B, a nivel de la membrana germinativa (Yarzabal, Dupas, Bout & Capron 1976;

Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978) de las vesículas prolíferas y vesículas hijas, si bien Yarzabal (Yarzabal, Dupas, Bout, *et al.* 1977) no pudo observar la presencia del Ag B en esta membrana. Los trabajos realizados mediante microscopía electrónica (Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978) los localizaban en las células parenquimatosas de la región conectiva de la membrana germinativa, sin que se apreciase marcaje a nivel de los citoplasmas distal ni perinuclear. A nivel de la membrana laminar, se coincide en demostrar la presencia del Ag B (Yarzabal, Dupas, Bout, *et al.* 1977; Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977), y no así la del Ag 5 que tan solo es observado en las capas más superficiales por Rickard (Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977). La presencia del Ag B en el contenido quístico y la ausencia del Ag 5 en el mismo, son otras observaciones en las que también coinciden los trabajos previos (Yarzabal, Dupas, Bout & Capron 1976; Yarzabal, Dupas, Bout, *et al.* 1977; Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978).

En nuestra experiencia, ambos antígenos se observan a nivel de la membrana germinativa y no de la membrana laminar (Figs 63, 64 y 66), demostrándose, mediante la microscopía electrónica, en áreas no contrastadas extracelulares situadas en la región conectiva de la membrana germinativa (Fig 69), hecho este que, teniendo en cuenta la similitud embriológica (Mehlhorn, Taraschewski, Franz, *et al.* 1988) y ultraestructural (Morseth 1967) existente entre la membrana germinativa y el tegumento de los protoscólex, coincidiría plenamente con la localización de estos antígenos tras haber comprobado su distribución en los protoscólex. La ausencia de ambos antígenos en el contenido quístico, podría ser explicada, como ya antes se ha apuntado, por su elución en los procesos de lavado previos y posteriores a la fijación.

Una posible explicación de las discrepancias de nuestros resultados, frente a los previamente publicados en cuanto a la localización del Ag B (Yarzabal, Dupas, Bout, *et al.* 1977; Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), podría estar en una diferente expresión antigénica de las cepas de *E. granulosus* de nuestra área geográfica de actuación, habiendo sido ya demostradas diferencias antigénicas intraespecíficas por otros autores en otras áreas, mediante

el estudio de la inmunorreactividad frente a líquidos hidatídicos de diferentes hospedadores (Gottstein, Eckert, Michael & Thompson 1987), el estudio de la respuesta inmune de los mismos hospedadores infectados por diferentes cepas de *E. granulosus* (Lightowers, Rickard, Honey, *et al.* 1984) o la inmunización experimental de conejos con líquidos hidatídicos de diferentes procedencias (Shepherd & McManus 1987a). Aunque parece más probable que los orígenes de estas discrepancias radiquen en la diferente metodología empleada para la purificación de los antígenos (Bout, Fruit & Capron 1974; Boulard & Lecroisey 1982; Madico, Mercader, Pardo, *et al.* 1988), y en la especificidad de los antisueros empleados en la inmunolocalización.

De hecho, en este trabajo, cuando se utiliza para la inmunolocalización el antisuero poliespecífico anti antígenos parasitarios (anti-Ag P), se observa el reconocimiento de más estructuras parasitarias que las que corresponderían a la simple suma de las reconocidas por los dos antisueros monoespecíficos (Figs 67, 74 y 75), lo cual estaría justificado por la poliespecificidad de este antisuero, que ya por *immunoblot* se había visto que reconocía algunos otros componentes polipeptídicos no relacionados con el Ag 5 ni con el Ag B (ver: obtención de antisueros por inmunización experimental de conejos). Así, la membrana laminar, el contenido de las vesículas, el tegumento de los protoscólex y los corpúsculos calcáreos, en los que en nuestra experiencia no se había detectado la presencia de Ag B, si son reconocidos por el antisuero anti-Ag P (Figs 67, 74 y 75) (ver: tabla XVIII).

Además, es bien conocida la existencia de otros antígenos hidatídicos, destacando entre éstos el antígeno P₁ (Ben-Ismael, Carme, Niel & Gewtilini 1980; Rickard & Lightowers 1986). Este antígeno se ha relacionado con el material PAS positivo de los protoscólex (Rickard & Lightowers 1986) y mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta se ha localizado en la membrana laminar y el tegumento de los protoscólex (Makni, Dalix, Oriol & Ayed 1990), estructuras estas, que no siendo reconocidas por nuestro antisuero anti-Ag B si lo habían sido en las experiencias previas (Yarzabal, Dupas, Bout, *et al.* 1977; Rickard, Davies, Bout & Smyth 1977; Davies, Rickard, Bout & Smyth 1978), y también por el anti-Ag P.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- A. Del estudio realizado con el fin de caracterizar las proteínas inmunogénicas de *E. granulosus* se han obtenido las siguientes conclusiones:
1. El líquido hidatídico es una mezcla compleja, formada por componentes proteicos propios del parásito y contaminantes procedentes del hospedador: mayoritariamente albúmina e inmunoglobulinas.
 2. Las proteínas del líquido hidatídico que se han mostrado más útiles en el inmunodiagnóstico son:
 - a. El antígeno 5: constituido por dos componentes polipeptídicos de 65 y 56 kDa, que tras la reducción con 2-mercaptoetanol dan lugar a una única banda de 37 kDa.
 - b. El antígeno B: constituido por diferentes subunidades de aproximadamente 8 kDa, 16 kDa y 24 kDa, que no modifican su peso molecular en condiciones reductoras, y que posiblemente derivan de una unidad monomérica de 8 kDa.
- B. Del estudio realizado con el fin de valorar el desarrollo *in vitro* de los protoscolex y la producción de antígenos de secreción-excreción, se concluye:
1. Es posible el mantenimiento *in vitro* y desarrollo en dirección quística de los protoscolex, en medios sintéticos sin que se precise de la adición de suero bovino fetal.
 2. La vesiculización de los protoscolex y/o la aparición de vesículas en el polo posterior de estos, son dos vías de diferenciación quística por las cuales se puede llegar a la obtención de microvesículas.
 3. En las condiciones de cultivo empleadas no es posible la formación de membrana laminar.
 4. El cultivo *in vitro* de protoscolex, no es un método rentable para la obtención de los antígenos parasitarios mayoritarios: antígeno 5 y antígeno B.

CONCLUSIONES

C. Del estudio realizado con el fin de conocer la estructura de *E. granulosus* a nivel de la microscopía óptica y electrónica, se concluye:

1. La estructura de la región germinal de la membrana germinativa y la del tegumento de los protoscólex es esencialmente idéntica, diferenciando exclusivamente en pequeños detalles que podrían derivar de la especialización funcional de cada una de las mismas.
2. No existe, a nivel del pedículo, solución de continuidad alguna entre la membrana germinativa y el tegumento de los protoscólex.
3. La estructura de la región conectiva de la membrana germinativa es similar a la observada para el parénquima de los protoscólex, existiendo estructuras tubulares y/o musculares idénticas en ambas.

D. Del estudio realizado con el fin de localizar la ubicación del antígeno 5 y del antígeno B en protoscólex y membranas quísticas de *E. granulosus*, se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. El antígeno 5 se localiza en áreas no contrastadas de la región conectiva de la membrana germinativa y del parénquima parasitario de los protoscólex viables, en la pared de las estructuras tubulares, y en aquellos protoscólex en proceso de degeneración o lisis.
2. La localización del antígeno B a nivel de la membrana germinativa y del parénquima parasitario es idéntica a la del antígeno 5, sin embargo no se encuentra en la pared de las estructuras tubulares ni en los protoscólex degenerados.
3. Ninguno de los dos antígenos se localiza a nivel de la membrana laminar ni en la región propiamente germinal de la membrana germinativa. Tampoco se encuentran, a nivel del tegumento de los protoscólex, células flamíferas, corpúsculos calcáreos ni estructuras musculares.

CONCLUSIONES

4. La distribución de los antígenos mayoritarios en las vesículas prolíferas y protoscólex, apoya la similitud estructural observada mediante la microscopía electrónica, entre el tegumento y la región germinal de la membrana germinativa y, entre el parénquima parasitario y la región conectiva de la misma.
- E. De la valoración conjunta de los puntos anteriormente expuestos, es posible concluir:
1. Los antígenos parasitarios mayoritarios se corresponden con los previamente descritos como antígeno 5 y antígeno B.
 2. Por su distribución, se sugiere para ambos antígenos un origen común relacionado con los procesos de remodelación y lisis de la matriz extracelular, aunque el sistema sustrato-enzima que interviene en la producción de los dos antígenos sería diferente.
 3. La liberación de los antígenos en el contenido quístico sería debida a: el propio proceso de remodelación que ocurre durante el desarrollo, la liberación a través del sistema excretor de los parásitos y la lisis enzimática del parénquima parasitario de los protoscólex degenerados. Si bien, la ausencia del antígeno B en los protoscólex degenerados, sugiere algún proceso activo de secreción como vía principal para la liberación del mismo.
 4. La ausencia de estos antígenos a nivel de la superficie externa del parásito, y la nula recuperación de los mismos en el sobrenadante de los cultivos *in vitro*, podría explicar el porqué de la baja inmunoreactividad en los estadios iniciales de la parasitosis, y así mismo alertar sobre su posible ineficacia para la obtención de una respuesta inmune protectora.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- ABOU-ZEID C, FILLEY E, STEELE J, ROOK GAW. (1987).**
A simple new method for using antigens separated by polyacrylamide gel electrophoresis to stimulate lymphocytes *in vitro* after converting bands cut from western blots into antigen-bearing particles.
J Immunol Methods; 98 : 5-10.
- ALBERTS B, BRAY D, LEWIS J, et al. (1989).**
The extracellular matrix.
En : "Molecular biology of the cell" ; 802-824.
(Roberton M, ed.), Garland Publishing Inc., New York.
- ALEXANDER CM, WERB Z. (1989).**
Proteinasas and extracellular matrix remodeling.
Curr Opin Cell Biol; 1 : 974-978.
- AL-YAMAN FM, KNOBLOCH J. (1989).**
Isolation and partial characterization of species-specific and cross-reactive antigens of *Echinococcus granulosus* cyst fluid.
Mol Biochem Parasitol; 37(1) : 101-107.
- AMBROISE-THOMAS P, DESGEORGES PT. (1979).**
L'hémagglutination indirecte dans le séro-diagnostic de l'hydatidose. Comparaison avec l'immuno-fluorescence indirecte et la technique ELISA.
Lyon Médical; 241(11) : 755-759.
- AMBROISE-THOMAS P. (1984).**
Hydatidose. Autres cestodoses larvaires.
En : Les nouvelles techniques en parasitologie et immuno-parasitologie.
(Ambroise-Thomas P, Golvan YJ, eds.) : 259-270. Flammarion Medicine-Sciences.
- D'AMELIO R, PONTESILLI O, PALMISANO L, et al. (1983).**
Detection and partial characterization of circulating immune complexes in hydatid disease.
J Clin Microbiol; 18(5) : 1021-1026.
- D'AMELIO R, DE ROSA F, PONTESILLI O, et al. (1989).**
Hydatid disease: analysis of parasite antigens in circulating immune complexes and in preformed hydatid antigen-antibody complexes.
Med Microbiol Immunol; 178(3) : 177-186.
- ARBOIX A, MARTI-VILALTA JL. (1986).**
Neurohidatidosis.
Med Clin (Barc); 87 :602-605.
- AUER H, HERMENTIN K, ASPOCK H. (1988).**
Demonstration of a specific *Echinococcus multilocularis* antigen in the supernatant of *in vitro* maintained protoscolices.
Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg (A); 268(3) : 416-423.

BIBLIOGRAFIA

- AUFFRAY P, SANCHEZ M, DOMINGUEZ JR. (1980).
Diagnóstico del quiste hidatídico por inmunofluorescencia.
Rev Clin Esp; 158(5) : 197-201.
- AUFFRAY P, SANCHEZ M, ELVIRA J, DOMINGUEZ JR. (1984).
Diagnóstico etiológico de la hidatidosis.
JANO; 604 : 63-71.
- AVRAMEAS S. (1969a).
Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies.
Immunochemistry; 6 : 43.
- AVRAMEAS S. (1969b).
Indirect immunoenzyme techniques for the intracellular detection of antigens.
Immunochemistry; 6 : 825.
- BALDOCK FC, THOMPSON RCA, KUMARATILAKE LM. (1986).
Strain identification of *Echinococcus granulosus* in determining origin of infection in a case of human hydatid disease in Australia.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 79 : 238-241.
- BARQUET N, CAYLA JA, COROMINAS M, et al. (1989).
Hidatidosis en Catalunya. Estudio en pacientes menores de 20 años (1977-1985).
Med Clin (Barc); 92(4) : 121-128.
- BARTHOLOMEW JW. (1962).
Variables influencing results, and the precise definition of steps in gram staining as a means of standardizing the results obtained.
Stain Technol; 37 : 139-155.
- BCHIR A, LAROUZE B, HAMDI A, et al. (1989).
Distribution of surgical hydatidosis in central Tunisia (1982-1985).
Acta Trop (Basel); 46(1) : 47-53.
- BECHTOL KB. (1984).
Antigen localization in tissue sections.
En : Monoclonal antibodies and functional cell lines. Progress and applications. (Kennett RH, Bechtol KB, Mc Kearn TJ, eds.). Plenum Press, New York.
- BEN-ISMAIL R, CARME B, NIEL G, GEWTILINI M. (1980).
Non-specific serological reactions with *Echinococcus granulosus* antigens : role of anti-P1 antibodies.
Am J Trop Med Hyg; 29(2) : 239-245.
- BENSTED H, ATKINSON JD. (1953).
Hydatid disease. Serologic reactions with standardized reagents.
Lancet; i : 265-268.

BIBLIOGRAFIA

- BERGROTH V. (1983).**
Comparison of various immunohistochemical methods.
Histochemistry; 77 : 177-184.
- BERNARD AM, DE CERTAINES JD, LE JEUNE JJ. (1989).**
En : *Resonancia magnética nuclear*. (Masson S.A., eds.). Barcelona.
- BESSIS M. (1972).**
Confection, coloration et examen des frotis.
En : *Cellules du sang normal et pathologique*.
(Masson et Cie eds.); Paris.
- BLAVA MF, KURES L. (1990).**
Diagnostic biologique des *echinococcoses*.
Rev Prat; 40(3) : 201-204.
- BIGUET J, CAPRON A, TRAN VAN KY P, D'HAUSSI R. (1962).**
Etude immunoelectrophorétique comparée des antigènes de divers helminthes.
C R Acad Sci; 254 : 3500-3503.
- BORTOLETTI G, FERRETTI G. (1973).**
Investigation on larval forms of *Echinococcus granulosus* with electron microscope.
Riv Parassit; 34 : 89-110.
- BOULARD Ch, LECROISEY A. (1982).**
Specific antisera produced by direct immunization with slices of polyacrylamide gel containing small amounts of protein.
J Immunol Methods; 50 : 221-226.
- BOURNE JA. (1983).**
En : *Handbook of immunoperoxidase staining methods* (Dako Corporation, eds.). Santa Barbara.
- BOUT D, FRUIT J, CAPRON A. (1974).**
Purification d'un antigène spécifique de liquide hydatique.
Ann Inst Pasteur Immunol; 125(C) : 775-788.
- BOWLES J, McMANUS DP (1991).**
Molecular characterization of *Echinococcus*.
Arch Helvntid; XXX : 55-63.
- BRADBURY S. (1986).**
Photomicrography.
En : *Immunocytochemistry. Modern methods and applications*. (Polak JM, Van Noorden S, eds.). John Wrigh and Sons Ltd. Bristol.
- BRADFORD MM. (1976).**
A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.
Anal Biochem; 72 : 248-254.

BIBLIOGRAFIA

- BRASA C, CASADO N, PEREZ J, et al. (1991).**
Eficacia del albendazol en el tratamiento de la hidatidosis: estudio experimental.
I Congreso internacional de las asociaciones sudoccidental- europeas de parasitología
(ICASEP I). Valencia.
- BRAVO JL, SERRANO S, VARELA A, et al. (1983).**
Quiste hidatídico de pulmón. Revisión de 100 casos.
Rev Clin Esp; 169(1) : 43-46.
- BRUDNJAK J, CVETNIC S, WIKERHAUSER T. (1970).**
Cystic development of the protoscoleces and broad capsules of *Echinococcus granulosus*
in cell cultures and cell-free media.
Veterinarski Arhiv; 40 : 292-296.
- BURRIDGE MJ, et al. (1976).**
Hydatid disease in New Zealand: changing patterns in human infection.
NZ Med J; 85 : 173-177.
- CAMPBELL AM. (1984).**
Monoclonal antibody technology.
En: Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Volume 13. (Burdon
RH, Knippenberg PH, eds.). Elsevier Science Publishers BV. Amsterdam.
- CAPRON A, VERNES A, BIGUET J. (1967).**
Le diagnostic immunoelectrophorétique de l'hydatidose.
En: Le kyste hydatique du foie (Journées Lyonnaises d'hydatidologie) pp 27-40. SIEMP
ed.. Lyon.
- CARDA-APARICI P. (1971).**
Hidatidosis. Profilaxis humana.
Actas del V Congreso Nacional del American College of Chest Physicians. Capítulos
españoles. León.
- CARLEMALM E, VILLIGER B, HOBOT JA, et al. (1985).**
Low temperature embedding with Lowicryl* resins: two new formulations and some
applications.
J Microscop; 140 : 55.
- CASADO N, RODRIGUEZ-CAABEIRO F, JIMENEZ A. (1985).**
Aplicación de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) modificada en el
diagnóstico de la hidatidosis humana.
Rev Clin Esp; 176(9) : 467-459.
- CASADO N, RODRIGUEZ-CAABEIRO F. (1989a).**
Ultrastructural study of *in vitro* larval development of *Echinococcus granulosus*
protoscoleces.
Int J Parasitol; 19(1) : 21-28.

BIBLIOGRAFIA

- CASADO N, RODRIGUEZ-CAABEIRO F, JIMENEZ A, *et al.* (1989b).
In vitro effects of levamisole and ivermectin against *Echinococcus granulosus* protozoocoeles.
Int J Parasitol; 19(8) : 945-947.
- CASADO N, BRASA C, PEREZ J, *et al.* (1991a).
Determinación de la viabilidad de los microquistes de *E. granulosus* desarrollados *in vitro*.
I Congreso internacional de las asociaciones sudoccidental- europeas de parasitología (ICASEP I). Valencia.
- CASADO N. (1991b).
Cultivo *in vitro* de *Echinococcus granulosus*: su contribución al conocimiento del desarrollo del quiste hidatídico.
Arch Hidatid; XXX : 351-359.
- CASANOVA B, OLAVARRI E, PAGA T. (1986).
Hidatidosis en la provincia de Avila en 1983. Aspectos clínicos y epidemiológicos.
Rev Sanid Hig Pública (Madr); 60 : 43-56.
- CASONI T. (1911).
La diagnosis biologica de l'echinococcosi umana mediante l'intradermorazione.
Folia Clin Chim Micr; 4 : 5-16.
- CAYLA JA, BARQUET N, MUÑOZ C, *et al.* (1986a).
Estudio epidemiológico de la hidatidosis humana en Catalunya (1977-1981) (I).
Med Clin (Barc); 86 : 397-404.
- CAYLA JA, BARQUET N, COROMINAS M C, *et al.* (1986b).
Estudio epidemiológico de la hidatidosis humana en Catalunya (1977-1981) (yII).
Med Clin (Barc); 86 : 444-449.
- CHAMEKH M, FACON B, DISSOUS C, CAPRON A. (1990).
Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* antigen 5 by a specific monoclonal antibody.
Bull Soc Fr Parasitol; 8(supl. 2) : 910.
- CHAMEKH M, GRAS-MASSÉ H, BOSSUS M, *et al.* (1991).
Diagnostic value of a synthetic peptide derived from *Echinococcus granulosus* recombinant protein.
Arch Hidatid; XXX : 951.
- CHAOUACHI B, NOURI A, BEN SALAH S, *et al.* (1988).
Les kystes hydatiques du poumon chez l'enfant. A propos de 643 cas.
Pediatric; 43(9) : 769-773.
- CHI P, ZHANG W, ZHANG Z, *et al.* (1990).
Cystic echinococcosis in the Xinjiang/Uygur autonomous region, People's Republic of China. I. Demographic and epidemiologic data.
Trop Med Parasitol; 41(2) : 157-162.

BIBLIOGRAFIA

- CHORDI A, KAGAN IG. (1965).
Identification and characterization of antigenic components of sheep hydatid fluid by immunoelectrophoresis.
J Parasitol; 51(1) : 63-71.
- CLAUDON M, BESSIERES M, REGENT D, *et al.* (1990).
Alveolar echinococcosis of the liver : MR findings.
J Comput Assist Tomogr; 14(4) : 608-614.
- COGGI G, DELL'ORTO P, VIALE G. (1986).
Avidin-biotin methods.
En : Immunocytochemistry. Modern methods and applications. (Folak JM, Van Noerden S, eds.). John Wrigh and Sons Ltd. Bristol.
- COLTORTI EA, VARELA-DIAZ VM. (1972).
IgG levels and host specificity in hydatid cyst fluid.
J Parasitol; 58(4) : 753-756.
- COLTORTI EA, VARELA-DIAZ VM. (1974).
Echinococcus granulosus: Penetration of macromolecules and their localization on the parasite membranes cysts.
Exp Parasitol; 35 : 225-231.
- COLTORTI EA, VARELA-DIAZ VM. (1975).
Penetration of host IgG molecules into hydatid cysts.
Z Parasitenkd; 48 : 47-51.
- COLTORTI EA, VARELA DIAZ VM. (1978).
Detection of antibodies against *Echinococcus granulosus* arc 5 antigens by double diffusion test.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 72 : 226-229.
- COLTORTI EA. (1986).
Standardization and evaluation of an enzyme immunoassay as a screening test for the seroepidemiology of human hydatidosis.
Am J Trop Med Hyg; 35(5) : 1000-1005.
- COLL P, MUÑOZ C, QUERALT R, PRATS G. (1987).
Variación en la detección inmunológica de proteínas transferidas a membranas de nitrocelulosa según el protocolo de bloqueo y lavado empleados.
XI Congreso Nacional de Microbiología. (septiembre).
Oviedo, España.
- COLL P, MUÑOZ C, QUERALT R, *et al.* (1989).
Caracterización de las proteínas inmunogénicas de *Echinococcus granulosus* mediante la técnica de inmunoblot.
Enf Infec Microbiol Clin; 7(4) : 199-202.

BIBLIOGRAFIA

COMPAGNON B. (1987).

Etude des antigenes glycoconjugués du parasite *Echinococcus granulosus* : relation avec certains antigenes tissulaires de l'hôte.

Diplôme d'étude, Université de Technologie de Compiègne.

CONCHEDDA M, BORTOLETTI G, CAPRA S, *et al.* (1985).

L'idatidosi umana in Sardegna. Studio epidemiologico dei casi operati tra il 1974 e il 1981.

Parassitologia; 27(3) : 225-245.

CONDÉR GA, MARCHIONDO AA, WILLIAMS JF, ANDERSEN FL. (1983).

Freeze-etch characterization of the teguments of three metacestodes ; *Echinococcus granulosus*, *Taenia crassiceps* and *Taenia taeniiformis*.

J Parasitol; 69(3) : 539-548.

CONDON J, RAUSCH RL, WILSON JF. (1988).

Application of the avidin-biotin immunohistochemical method for the diagnosis of alveolar hydatid disease from tissue sections.

Trans R Soc Trop Med Hyg; 82 : 731-735.

COOK BR. (1989).

The epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Great Britain. V. The status of subspecies of *Echinococcus granulosus* in Great Britain.

Ann Trop Med Parasitol; 83(1) : 51-61.

COONS AH, CREECH HJ, JONES RN, BERLINER E. (1942).

The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody.

J Immunol; 45 : 159.

COROMINAS M, TORRES JM, CAYLA JA. (1987).

Valoración de la intradermorreacción de Casoni en el diagnóstico de la hidatidosis.

Enf Infecc Microbiol Clin; 5(5) : 278-283.

COUTELEN F. (1931).

Histogénèse des cellules libres à glycogène et à graisses des hydatides échinococciques.

Ann Parasitol; 9 : 101-103.

COUTELEN F. (1938).

Sur la structure de la membrane prolifère des hydatides échinococciques.

C R Soc Biol (Paris); 128 : 946-948.

CRAIG PS, HOCKING RE, MITCHELL GF, RICKARD MD. (1981).

Murine hybridoma-derived antibodies in the processing of antigens for the immunodiagnosis of hydatid (*Echinococcus granulosus*) infection in sheep.

Parasitology; 83 : 303-317.

CRAIG PS. (1986a).

Detection of specific circulating antigen, immune complexes and antibodies in human hydatidosis from Turkana (Kenya) and Great Britain, by enzyme-immunoassay.

Parasite Immunol; 8 : 171-188.

BIBLIOGRAFIA

- CUESTA-BANDERA C, McMANUS DP, RISHI AK. (1988).
Characterization of *Echinococcus granulosus* of Spanish origin by DNA restriction endonuclease analysis and southern blot hybridization.
Int J Parasitol; 18(1) : 137-141.
- DAR FK, BUHIDMA MA, KIDWAI SA. (1984).
Hydatid false positive serological test results in malignancy.
Br Med J; 288 : 1197.
- DAVIES BJ. (1964).
Disc electrophoresis-II.
Ann N Y Acad Sci; 121 : 404-427.
- DAVIES C, RICKARD MD, BOUT DT, SMYTH JD. (1978).
Ultrastructural immunocytochemical localization of two hydatid fluid antigens (antigen 5 and antigen B) in the brood capsules and proto-scolexes of ovine and equine *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis*.
Parasitology; 77 : 143-152.
- DE ANDRÉS F. (1984).
Epidemiología.
JANO; 604 : 36-39.
- DELABRE I, GARRION C, CONTAT F, et al. (1987).
The susceptibility of the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) and the OP1 mouse strain to *Echinococcus multilocularis*. Ultrastructural aspects of the cysts.
Int J Parasitol; 17(3) : 773-780.
- DE MEY J. (1986a).
The preparation and use of gold probes.
En : Immunocytochemistry. Modern methods and applications. (Polak JM, Van Noorden S, eds.). John Wrigh and Sons Ltd. Bristol.
- DE MEY J, MOEREMANS M. (1986b).
Raising and testing polyclonal antibodies for immunocytochemistry.
En : Immunocytochemistry. Modern methods and applications. (Polak JM, Van Noorden S, eds.). John Wrigh and Sons Ltd. Bristol.
- DE MIGUEL C. (1987).
Hidatidosis óaca.
Enf Infec Microbiol Clin; 5(9) : 531-533.
- DEVE F. (1901).
Sur la transformation des scolex en kystes échinococciques.
C R Soc Biol (Paris); 53 : 298.
- DEVE F. (1902).
Sur l'évolution kystique du scolex échinococcique.
Arch Parasitol; VI : 54-61.

BIBLIOGRAFIA

- DIANO M, LE BIVIC A, HIRN M. (1987).
A method for the production of highly specific polyclonal antibodies.
Anal Biochem; 166 : 224-229.
- DIECKMANN A, FRANK W. (1988).
Isolation of viable germinal cells from *Echinococcus multilocularis*.
Parasitol Res; 74(3) : 297-298.
- DIECKMANN-SCHUPPERT A, RUPPEL A, BURGER R, FRANK W.(1989).
Echinococcus multilocularis: *in vitro* secretion of antigen by hybridomas from metacestode germinal cells and murine tumor cells.
Exp Parasitol; 68(2) : 186-191.
- DI FELICE G, PINI C, AFFERNI C, VICARI G. (1986).
Purification and partial characterization of the major antigen of *Echinococcus granulosus* (antigen 5) with monoclonal antibodies.
Mol Biochem Parasitol; 20 : 133-142.
- DISBREY BD, RACK JH. (1970).
En : *Histological laboratory methods*.
(Livingstone, ed.). Robert Cunningham and Sons Ltd.
Edinburgh and London.
- DOMINGUEZ J, MARTIN R, SACREDO P, *et al.* (1985).
Diagnóstico y tratamiento de la hidatidosis abdominal (excluida la hepática).
Gastrum; monografía sobre hidatidosis abdominal : 31-36.
- DOTTORINI S, TASSI C. (1977).
Echinococcus granulosus : characterization of the main antigenic component (arc 5) of hydatid fluid.
Exp Parasitol; 43(2) : 307-314.
- DOTTORINI S, TASSI C. (1978).
Echinococcus granulosus : comparison between antigens in scolices and hydatid fluid.
Int J Parasitol; 8 : 259-265.
- ECKERT J, THOMPSON RCA, MEHLHORN H. (1983).
Proliferation and metastases formation of larval *Echinococcus multilocularis*. I. Animal model, macroscopical and histological findings.
Z Parasitenkd; 69(6) : 737-748.
- ECKERT J. (1986).
Prospects for treatment of the metacestode stage of *Echinococcus*.
En : *The biology of Echinococcus and hydatid disease*.
(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers). London.
- EDWARDS CT. (1982).
Host IgG in equine hydatid cyst fluid.
Reprinted from : *Ann Trop Med Parasitol*; 76(4) : 485-487.

BIBLIOGRAFIA

- EUZEBY. (1983).**
Les échinococcoses larvaires : présentation du sujet.
Scien Vet Med Comp; 85 (2) : 67-78.
- FACON B, CHAMEKH M, DISSOUS C, CAPRON A. (1991).**
Molecular cloning of an *Echinococcus granulosus* protein expressing an immunogenic epitope of antigen 5.
Mol Biochem Parasitol; 45 (2) : 233-239.
- FAHIMI H. (1979).**
An assessment of the DAB methods for cytochemical detection of catalase and peroxidase.
J Histochem Cytochem; 27(10) : 1365-1366.
- FARR AG, NAKANE PK. (1981).**
Immunohistochemistry with enzyme labeled antibodies : a brief review.
J Immunol Methods; 47 : 129.
- FAULK WP, TAYLOR GM. (1971).**
An immunocolloid method for the electron microscope.
Immunocytochemistry; 8 : 1081.
- FELIPE N, LLOPIS A, RUIZ DE LA FUENTE S, et al. (1986).**
Estudio de la evolución de la mortalidad por hidatidosis en España (1951-1979).
Rev Sanid Hig Publica (Madr); 60 : 285-296.
- FERNANDEZ-NOVO M, QUEMADA J. (1984).**
Clinica del quiste hidatídico hepático.
JANO; 604 : 40-42.
- FIORI PL, MONACO G, SCAPPATICCI S, et al. (1988).**
Establishment of cell cultures from hydatid cysts of *Echinococcus granulosus*.
Int J Parasitol; 18(3) : 297-305.
- FOX CH, JOHNSON FB, WHITING J, ROLLER PP. (1985).**
Formaldehyde fixation.
J Histochem Cytochem; 33(8) : 845-853.
- FRAGA DE AZEVEDO J, ROMBERT PC. (1963).**
A aplicação da imuno-fluorescência no diagnóstico do quiste hidático.
J Soc Se Med; 127 : 345.
- FREEMAN RS. (1970).**
Terminology of cestode development.
J Parasitol; 56(supl.) : 106-107.
- FRENKEL JK, TARASCHEWSKI H, VOIGOT WP. (1988).**
Important pathologic effects of parasitic infections of man. Cestode infections.
En : "Parasitology in Focus" : 568.
(Mehlhorn H, ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
London, Paris, Tokyo.

BIBLIOGRAFIA

- FURUYA K. (1991).
An established cell line of larval *Echinococcus multilocularis*.
Int J Parasitol; 21(2) : 233-240.
- GADEA I, GARCIA-DE-LOMAS J. (1991).
Serología de la hidatidosis.
Enf Infec Microbiol Clin; 9(4) : 237-247.
- GALLAGHER IHC. (1964).
Chemical composition of hooks isolated from hydatid scolices. Exp Parasitol; 15 : 110-117.
- GARCIA FJ, MARTI-BONMATE I, MENOR F, et al. (1988).
Echogenic forms of hydatid cysts: sonographic diagnosis.
JCU; 16(5) : 305-311.
- GASSER RB, LIGHTOWLERS MW, RICKARD MD. (1989).
Identification of protein components of *Echinococcus granulosus* protoscolex antigens for specific serodiagnosis of *E. granulosus* infection in dogs.
Parasite Immunol; 11 : 279-291.
- GASSER RB, LIGHTOWLERS MW, RICKARD MD. (1990).
A recombinant antigen with potential for serodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs.
Int J Parasitol; 20(7) : 943-950.
- GEMMELL MA. (1979).
Hydatidosis control - a global view.
Aust Vet J; 55 : 118-125.
- GEMMELL MA, LAWSON JR. (1986a).
Epidemiology and control of hydatid disease.
En : The biology of *Echinococcus* and hydatid disease.
(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers). London.
- GEMMELL MA, LAWSON JR, ROBERTS MG. (1986b).
Lutte contre l'échinococcose/hyatidose : situation actuelle dans le monde.
Bull OMS; 64(5) : 625-631.
- GEMMELL MA. (1990).
Australasian contributions to an understanding of the epidemiology and control of hydatid disease caused by *Echinococcus granulosus* - past, present and future.
Int J Parasitol; 20(4) : 431-456.
- GENTELINI M, PINON JM. (1972).
Intérêt de l'électroaynérese sur membrane d'acétate de cellulose dans le diagnostic de l'hydatidose.
Ann Med Interne; 123 : 883-886.

BIBLIOGRAFIA

GHEDINI G. (1906).

Ricerche sul siero di sangue di individuo affetto da cisti de echinococco e sul liquido in essa contenuto.

Gazz Osp Milano; 27 : 1616-1617.

GIEMSA G. (1904).

Eine vereinfachung und vervollkommnung meiner methylenazur-methylenblau-cosin-färbemethode zur erzielung der Romanowsky-Nochtachen chromatinfärbung.

Zentralbl Bakteriol Parasitenkd (Abt. I); 37 : 308.

GOLDENTHAL KI, HEDMAN K, CHEN JW, *et al.* (1985).

Postfixation detergent treatment for immunofluorescence suppresses localization of some integral membrane proteins.

J Histochem Cytochem; 33(8) : 813-820.

GOLDMAN D, SEDMAN S, EBERT MH. (1981).

Ultrasensitive stain for proteins in polyacrylamide gels shows regional variation in cerebrospinal fluid proteins.

Science; 211(27) : 1437-1438.

GOMORI G. (1951).

Histochemical staining methods.

En : Methods in medical research.

(Vischner MB ed.). Year Book Publishers. Chicago.

GONZALEZ JA, MARTIN R, DOMINGUEZ JP. (1985).

Hidatidosis hepática. Clínica y diagnóstico.

Gastrum; monografía sobre hidatidosis abdominal : 54-60.

GOTTSTEIN B, ECKERT J, FEY H. (1983).

Serological differentiation between *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis* infections in man.

Z Parasitenkd; 69(3) : 347-356.

GOTTSTEIN B, ECKERT J, MICHAEL SA, THOMPSON RCA. (1987).

Echinococcus granulosus antigens : Immunoelectrophoretic and western blot analysis of hydatid cyst fluids.

Parasitol Res; 73(2) : 186-189.

GOTTSTEIN B. (1991).

Molecular biology of *Echinococcus multilocularis* and parasite identification by the polymerase chain reaction.

Arch Hidatid; XXX : 821-824.

GRACIA F, GALLEGU J, GIL J. (1964).

En : Parasitología con nociones de zoología general y aplicada. Tomo I.

Artes Graficas C.I.O..

Madrid.

BIBLIOGRAFIA

- GRAHAM RC, KARNOVSKY MJ. (1966).
The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: ultrastructural cytochemistry by a new technique.
J Histochem Cytochem; 14 : 291.
- GROCOTT RG. (1955).
A stain for fungi in tissue sections and smears.
Am J Clin Pathol; 25 : 975.
- GUESDON JL, TERNYNCK T, AVRAMEAS S. (1979).
The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques.
J Histochem Cytochem; 27 : 1131-1139.
- GUISANTES JA, RUBIO MF, DIAZ R. (1981).
Aplicación de un método inmunoenzimático (ELISA) al diagnóstico de la hidatidosis humana.
Bol Of Sanit Panam; 90(2) : 160-168.
- GUISANTES JA, VICENTE F. (1983).
Paraffin embedded *Echinococcus granulosus* protozoocoeles as suitable antigen in the indirect immunofluorescence test for human hydatid disease.
Boll Ist Sieroter Milan; 62(1) : 85-90.
- GUISANTES JA. (1984).
Hidatidosis : importancia actual.
Med Clin (Barc); 83(6) : 330-332.
- HAMDI A, AYACHI R, GARGOURI R, MOURAD A. (1990).
Le kyste hydatique du cerveau. A propos d'une serie de quatorze cas.
Ann Chir; 44(3) : 226-230.
- HARIHI MN, SCHWABE CW, KOUSSA M. (1965).
Host-parasite relationships in echinococcosis. XI. The antigens of the indirect hemagglutination test for hydatid disease.
Am J Trop Med Hyg; 14 : 592-604.
- HARRIS HF. (1900).
On the rapid conversion of haematoxylin into haematoin in staining reactions.
J Appl Microsc Lab Meth; 3 : 777.
- HARRIS A, HEATH DD, LAWRENCE SB, SHAW RJ. (1989).
Echinococcus granulosus : ultrastructure of epithelial changes during the first 8 days of metacystode development *in vitro*.
Int J Parasitol; 19(6) : 621-629.
- HAWKES R, NIDAY E, GORDON J. (1982).
A Dot-immunobinding assay for monoclonal and other antibodies.
Anal Biochem; 119 : 142-147.

BIBLIOGRAFIA

HEATH D, SMYTH JD. (1970).

In vitro cultivation of *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena*, *T. ovis*, *T. pisiformis* and *T. serialis* from oncosphere to cystic larva.

Parasitology; 61 : 329-343.

HEATH DD, OSBORN PJ. (1976).

Formation of *Echinococcus granulosus* laminated membrane in a defined medium.

Int J Parasitol; 6 : 467-471.

HEATH DD. (1986).

Immunobiology of *Echinococcus* infections.

En : The biology of *Echinococcus* and hydatid disease.

(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers). London.

HEBERT GA, PELHAM PL, PITTMAN B. (1973).

Determination of the optimal ammonium sulfate concentration for the fractionation of rabbit, sheep, horse and goat antisera.

Appl Microbiol; 25(1) : 26-36.

HEMMINGS L, McMANUS DP. (1989).

The isolation, by differential antibody screening, of *Echinococcus multilocularis* antigen gene clones with potential for immunodiagnosis.

Mol Biochem Parasitol; 33(2) : 171-182.

HEUKESHOVEN J, DERNICK R. (1985).

Simplified method for silver staining of proteins in polyacrylamide gels and the mechanism of silver staining.

Electrophoresis; 6 : 103-112.

HIDALGO M, BARQUET N. (1987a).

Hidatidosis hepática. Estudio de una serie de 7.435 casos.

Parte I : Aspectos generales, epidemiología y diagnóstico.

Rev Esp Enferm Apar Dig; 71(1) : 1-6.

HIDALGO M, BARQUET N. (1987b).

Hidatidosis hepática. Estudio de una serie de 7.435 casos.

Parte II: Tratamiento quirúrgico, morbimortalidad, tratamiento médico, hospitalización e implicaciones socioeconómicas.

Rev Esp Enferm Apar Dig; 71(2) : 103-109.

HIRA PR, BAHR GM, SHWEIKI HM, BEHBEHANI K. (1990).

An enzyme-linked immunosorbent assay using an arc 5 antigen for the diagnosis of cystic hydatid disease.

Ann Trop Med Parasitol; 84(2) : 157-162.

HOBBS RP, LYMBERY AJ, THOMPSON RCA. (1990).

Rostellar hook morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from natural and experimental Australian hosts, and its implications for strain recognition.

Parasitology; 101 : 273-281.

BIBLIOGRAFIA

- HORISBERGER M, ROSSET J. (1977).
Colloidal gold, a useful marker for transmission and scanning electron microscopy.
J Histochem Cytochem; 25 : 295.
- HOWELL MJ. (1986).
Cultivation of *Echinococcus* species *in vitro*.
En : *The biology of Echinococcus and hydatid disease*.
(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers). London.
- HOWELL MJ, MATTHAEI K. (1988).
Points in question *in vitro* culture of host or parasite cells?.
Int J Parasitol; 18 : 883-884.
- HRZENJAK T, PARADINA G, ROGINA B, *et al.* (1985).
Demonstration of antigenic similarity between larval *Echinococcus granulosus* and malignant disease by immunochemical methods.
Period Biol; 87(3) : 361-368.
- HSU SM, RAINE L, FANGER H. (1981a).
A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies.
Am J Clin Pathol; 75(5) : 734-738.
- HSU SM, RAINE L, FANGER H. (1981b).
The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase techniques.
Am J Clin Pathol; 75(6) : 816-821.
- IACONA A, PINI C, VICARI G. (1980).
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of hydatid disease.
Am J Trop Med Hyg; 29(1) : 95-102.
- JAIN AK, GUPTA NC, GUPTA PD, SAHA MM. (1989).
Sonographic appearance of hepatic hydatid disease.
Australas Radiol; 33(4) : 373-375.
- JAMES KR. (1967).
A simple silver method for the demonstration of reticulin fibres.
- KAGAN I, NORMAN L. (1961).
Antigenic analysis of echinococcus antigens by agar diffusion techniques.
Am J Trop Med Hyg; 10 : 727-734. *J Med Lab Tech*; 24 : 49.
- KAGAN IG. (1968).
A review of serological tests for the diagnosis of hydatid disease.
Bull WHO; 39 : 25-37.

BIBLIOGRAPHIA

KARNOVSKY MJ. (1965).

A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy.

J Cell Biol; 27 : 137A.

KARPATIOS T, FRETZAYAS A, NICOLAIDOU P, *et al.* (1985).

Statistical aspects of hydatid disease in Greek adults.

Am J Trop Med Hyg; 34(1) : 124-128.

KASSIS AI, TANNER CE. (1976).

The role of complement in hydatid disease: *in vitro* studies.

Int J Parasitol; 6 : 25-35.

KELLY JD, HOGARTH-SCOTT RS (1977).

Hydatid disease in Australia.

Aust Fam Physician; 6 : 1509-1517.

KIEN T, MOLET B, BALL C. (1980).

Valeur comparee de trois antigenes hydatiques. Etude par immuno-electrophorese.

Rev Inst Pasteur Lyon; 13(3) : 345-352.

KILEJIAN A, SCHINAZI LA, SCHWABE CW. (1961).

Host-parasite relationships in echinococcosis. V. Histochemical observations on *Echinococcus granulosus*.

J Parasitol; 47 : 181-188.

KILEJIAN A, SCHWABE CW. (1971).

Studies on the polysaccharides of the *Echinococcus granulosus* cyst, with observations in a possible mechanism for laminated membrane formation.

Comp Biochem Physiol (B); 40B : 25-36.

KIRSCHENBAUM DM. (1973).

Molar absorptivity and $A_{1\%}^{1\text{cm}}$ values for proteins at selected wavelengths of the ultraviolet and visible regions.

Anal Biochem; 56 : 237-263.

KNOBLOCH J, LEDERER I, MANNWEILER E. (1984).

Species-specific immunodiagnosis of human echinococcosis with crude antigens.

Eur J Clin Microbiol; 3(6) : 554-555.

KUMARATILAKE LM, THOMPSON RCA, DUNSMORE JD. (1979).

Intraspecific variation in *Echinococcus* : a biochemical approach.

Z Parasitenkd; 60 : 291-294.

KUMARATILAKE LM, THOMPSON RCA. (1982).

A review of the taxonomy and speciation of the genus *Echinococcus* Rudolphi 1801.

Z Parasitenkd; 68 : 121-146.

BIBLIOGRAFIA

- KUMARATILAKE LM, THOMPSON RCA. (1984a).
Morphological characterisation of Australian strains of *Echinococcus granulosus*.
Int J Parasitol; 14(5) : 467-477.
- KUMARATILAKE LM, THOMPSON RCA. (1984b).
Biochemical characterization of Australian strains of *Echinococcus granulosus* by
isoelectric focusing of soluble proteins.
Int J Parasitol; 14(6) : 581-586.
- KUMARATILAKE LM, THOMPSON RCA, ECKERT J. (1986).
Echinococcus granulosus of equine origin from different countries possess uniform
morphological characteristics.
Int J Parasitol; 16(5) : 529-540.
- LAEMMLI UK. (1970).
Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.
Nature; 227 : 680-685.
- LAL R, OTTESEN E. (1989).
Phosphocholine epitopes on helminth and protozoal parasites and their presence in the
circulation of infected human patients.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 83 : 652-655.
- LARBAOUI D, ALLOULA R. (1981).
Quelques données épidémiologiques de l'hydatidose en Algérie.
XII Congrès International d'Hydatidologie. Alger.
- LARRALDE C, MONTOYA RM, SCIUTTO E, et al. (1989).
Deciphering western blots of tapeworm antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus
granulosus* and *Taenia crassiceps*) reacting with sera from neurocysticercosis and
hydatid disease patients.
Am J Trop Med Hyg; 40(3) : 282-290.
- LARSSON LI. (1988).
En : Immunocytochemistry : theory and practice.
CRC Press Inc. Florida.
- LEDUCQ R, GABRION J, GABRION C. (1988).
Caractérisation des glycoconjugués de surface et intracellulaires dans les formes
larvaires d'*Echinococcus multilocularis* à l'aide de lectines.
C R Soc Biol; 182(5) : 501-508.
- LEDUCQ R, GABRION J, GABRION C. (1990).
Différenciation et glycoconjugués: le métacétode d'*Echinococcus multilocularis*.
Bull Soc Fr Parasitol; 8(supl. 1) : 131.
- LIGHTOWLERS MW, RICKARD MD, HONEY RD, et al. (1984).
Serological diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in sheep using cyst fluid
antigen processed by antibody affinity chromatography.
Aust Vet J; 61(4) : 101-108.

BIBLIOGRAFIA

- LIGHTOWLERS MW, LIU DY, HARALAMBOUS A, RICKARD MD. (1989).
Subunit composition and specificity of the major cyst fluid antigens of *Echinococcus granulosus*.
Mol Biochem Parasitol; 37(2) : 171-182.
- LIGHTOWLERS MW. (1990).
Immunology and molecular biology of *Echinococcus* infections.
Int J Parasitol; 20(4) : 471-478.
- LILLIE RD. (1951).
Simplification of the manufacture of Schiff reagent for use in histochemical procedures.
Stain Technol; 26 : 163.
- LINXIAN H, YUGUANG L. (1990).
A note on the distribution of glycogen in the adult and its protoscolex.
Bull Soc Fr Parasitol; 8(supl. 1) : 57.
- LLOYD S, SOULSBY E.J.L. (1988).
Immunological responses of the host. Immunity to helminths.
En : Parasitology in Focus : 621-629.
(Mehlhorn H, ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
London, Paris, Tokyo.
- LUMSDEN RD, HILDRETH MB. (1983).
The fine structure of adult tapeworms.
En : Biology of the eucestodes.
(Arme C, Pappas PW, eds.), Academic Press. London.
- LUNA LG. (1968).
En : Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology.
Tercera edición.
(Luna LG, ed.), The Blakiston division McGraw-Hill book company. New York, Toronto,
London, Sydney.
- LYMBERY AJ, HOBBS RP, THOMPSON RCA. (1989a).
The dispersion of *Echinococcus granulosus* in the intestine of dogs.
J Parasitol; 75(4) : 562-570.
- LYMBERY AJ, THOMPSON RCA. (1989b).
Genetic differences between cysts of *Echinococcus granulosus* from the same host.
Int J Parasitol; 19(8) : 961-964.
- LYMBERY AJ, THOMPSON RCA. (1990).
Variation in *Echinococcus* : the strain concept.
Bull Soc Fr Parasitol; 8(supl. 1) : 274.
- MACPHERSON CN, CRAIG PS, ROMIG T, *et al.* (1989).
Observations on human echinococcosis (hydatidosis) and evaluation of transmission
factors in the Maasai of northern Tanzania.
Ann Trop Med Parasitol; 83(5) : 489-497.

BIBLIOGRAFIA

MACPHERSON CNL, SMYTH JD. (1985).

In vitro culture of the strobilar stage of *Echinococcus granulosus* from protoscoleces of human, camel, cattle, sheep and goat origin from Kenya and buffalo origin from India. *Int J Parasitol*; 15(2) : 137-140.

MADDISON SE, SLEMENDA SB, SCHANTZ PM, *et al.* (1989).

A specific diagnostic antigen of *Echinococcus granulosus* with an apparent molecular weight of 8 kDa. *Am J Trop Med Hyg*; 40(4) : 377-383.

MADICO A, MERCADER M, PARDO A, *et al.* (1988).

Preparation d'anticorps policlonaux monospécifiques obtenus d'un mélange antigénique (liquide hydatique total) chez le lapin. *Mediterraneophores 88 (VIème Symposium de la Société Française d'Electrophorèse)*. (15-17 Décembre). Antibes. Francia.

MAKNI S, DALIX AM, ORIOL R, AYED Kh. (1990).

Immunohistological localization of P1 hydatid antigen in tissues of *Echinococcus granulosus*. *Bull Soc Fr Parasitol*; 8(supl. 1) : 108.

MALLORY FB. (1900).

A contribution to staining methods. *J Exp Med*; 5 : 15.

MANCHON A. (1982).

En : Tomografía computarizada en el torax. (Harfarma S.A., eds.).

McMANUS JFA. (1946).

Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*; 158 : 202.

McMANUS JFA, MOWRY MD. (1968).

En : Técnica histológica. Trad. de la 3ª ed. inglesa. Atika SA. Madrid.

McMANUS DP, SMYTH JD. (1978).

Differences in the chemical composition and carbohydrate metabolism of *Echinococcus granulosus* (horse and sheep strains) and *E. multilocularis*. *Parasitology*; 77 : 103-109.

McMANUS DP, SMYTH JD. (1982).

Intermediary carbohydrate metabolism in protoscoleces of *Echinococcus granulosus* (horse and sheep strains) and *E. multilocularis*. *Parasitology*; 84 : 351-366.

BIBLIOGRAFIA

McMANUS DP, BARRET NJ. (1985).

Isolation, fractionation and partial characterization of the tegumental surface from protoscolices of the hydatid organism *Echinococcus granulosus*.

Parasitology; 90(1) : 111-129.

McMANUS DP, BRYANT C. (1986).

Biochemistry and physiology of *Echinococcus*.

En : The biology of *Echinococcus* and hydatid disease.

(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers). London.

McMANUS DP. (1987a).

A DNA reference laboratory for identification of isolates of *Echinococcus* (hydatid disease) organisms from Europe.

Trans R Soc Trop Med Hyg; 81(3) : 522-523.

McMANUS DP, RISHI AK. (1989).

Genetic heterogeneity within *Echinococcus granulosus* : isolates from different hosts and geographical areas characterized with DNA probes.

Parasitology; 99 : 17-29.

MARANI SA, CANOSSO GC, NICOLI FA, et al. (1990).

Hydatid disease : MR imaging study.

Radiology; 175(3) : 701-706.

MARCH F, ENRICH C, MERCADER M, et al. (1991).

Echinococcus granulosus: antigen characterization by chemical treatment and enzymatic deglycosylation.

Exp Parasitol; (on pressa).

MARCHIONDO AA, ANDERSEN FL. (1983).

Fine structure and freeze-etch study of protoscolex tegument of *Echinococcus multilocularis* (cestoda).

J Parasitol; 69(4) : 709-718.

MARCOS E, TORRES JM, AMARAL M. (1984).

Reacciones cruzadas entre sueros de enfermos de hidatidosis y un antígeno soluble de *Taenia saginata*; estudio inmunoelectroforético.

Rev Iber Parasitol; 44(3) : 253-263.

MARKAKIS P, MARKAKI S, PREVEDOROU D, BOUROPOULOU V. (1990).

Echinococcosis of bone : clinico-laboratory findings and differential diagnostic problems.

Arch Anat Cytol Pathol; 38(3) : 92-94.

MARRACK J. (1934).

Nature of antibodies.

Nature; 133 : 292.

BIBLIOGRAFIA

- MARSHALL R, PONGPARIT S, KAUFMAN AK. (1987).
Serological evaluation of the outer membrane protein complexes of five saccharolytic intestinal *Bacteroides* species.
Eur J Clin Microbiol; 6(4) : 395-401.
- MARTI-BONMATI L, MENOR F. (1990).
Complications of hepatic hydatid cysts: ultrasound, computed tomography, and magnetic resonance diagnosis.
Gastrointest Radiol; 15(2) : 119-125.
- MARTIN FJ, LEON JA, FUEYO A. (1985).
Hidatidosis en la provincia de León (1974-1982).
Rev Sanid Hig Pública (Madr); 59(1-2) : 127-140.
- MASSON P. (1929).
Some histological methods, Trichrome stainings and their preliminary technique.
Bull Int Ass Med Mus; 12 : 75.
- MATOSSIAN RM, RICKARD MD, SMYTH JD. (1977).
Hydatidosis: a global problem of increasing importance.
Bull WHO; 55(4) : 499-507.
- MATOSSIAN RM. (1981).
A simplified radioimmunoassay technique for hydatid disease and human trichinosis.
J Helminthol; 55 : 49-57.
- MAY R, GRUNDWALD L. (1902).
Über Blutfärbungen.
Zentralbl Inn Med; 23 : 265.
- MEHLHORN H, ECKERT J, THOMPSON RCA. (1983).
Proliferation and metastases formation of larval *Echinococcus multilocularis* II. Ultrastructural investigations.
Z Parasitenkd; 69(6) : 749-763.
- MEHLHORN H, WALLDORF V. (1988a).
Life cycles. Subregnum Metazoa. Phylum Platyhelminthes.
En : *Parasitology in Focus* : 53-87.
(Mehlhorn H, ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
London, Paris, Tokyo.
- MEHLHORN H, TARASCHEWSKI H, FRANZ M, *et al.* (1988b).
Reproduction. Metazoa.
En : *Parasitology in Focus* : 330-362.
(Mehlhorn H, ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
London, Paris, Tokyo.
- MEHLHORN H, DUBREMETZ JF, FRANZ M, *et al.* (1988c).
Morphology. Surface coat.
En : *Parasitology in Focus* : 197-218.
(Mehlhorn H, ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
London, Paris, Tokyo.

BIBLIOGRAFIA

- MENDEL-HARTVIG. (1982).
A simple and rapid method for the isolation of peptides from sodium dodecyl sulfate-containing polyacrylamide gels.
Anal Biochem; 121 : 215-217.
- MERIOUA A, BOUT D, CAPRON A. (1984).
Evaluation of ELISA and RAST using purified antigens for diagnosis of hydatidosis.
Path Biol; 32(1) : 14-22.
- MIR J, GARCIA DE LOMAS J, OLMOS P, *et al.* (1982).
Degranulación de basófilos humanos en el diagnóstico de la hidatidosis.
Rev Clin Esp; 167(1) : 31-34.
- MITCHELL CF. (1989).
Problems specific to parasite vaccines.
Parasitology; 98(supl.) : S19-S28.
- MONZON CM, COLTORTI EA, VARELA-DIAZ VM. (1985).
Application of antigens from *Taenia hydatigena* cyst fluid for the immunodiagnosis of human hydatidosis.
Z Parasitenkd; 71 : 533-537.
- MOREL GA, YARMUSH DM, COLTON CK, *et al.* (1988).
Monoclonal antibodies to bovine serum albumin : affinity and specificity determinations.
Mol Biochem Parasitol; 20 : 133-142.
- MORRIS DL, RICHARDS KS, CHINNERY JB. (1986).
Protoscolicidal effect of praziquantel *in vitro* and electron microscopical studies on *Echinococcus granulosus*.
J Antimicrob Chemother; 18(6) : 687-691.
- MORRIS DL, TAYLOR D, DANIELS D, RICHARDS KS. (1987).
Determination of minimum effective concentration of praziquantel in *in vitro* cultures of protozoa of *Echinococcus granulosus*.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 81(3) : 494-497.
- MORRISSEY JH. (1981).
Silver stain for proteins in polyacrylamide gels : a modified procedure with enhanced uniform sensitivity.
Anal Biochem; 117 : 307-310.
- MORSETH DJ. (1967).
Fine structure of the hydatid cyst and protoscolex of *Echinococcus granulosus*.
J Parasitol; 53(2) : 312-325.
- MULLER N, GOTTSTEIN B, VOGEL M, *et al.* (1989).
Application of a recombinant *Echinococcus multilocularis* antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay for immunodiagnosis of human alveolar echinococcosis.
Mol Biochem Parasitol; 36(2) : 151-159.

BIBLIOGRAFIA

- MULLER N, VOGEL M, GOTTSTEIN B, *et al.* (1989).
Plasmid vector for overproduction and export of recombinant protein in *Escherichia coli*: efficient one-step purification of a recombinant antigen from *Echinococcus multilocularis* (cestoda).
Geno; 75(2) : 329-334.
- MUÑOZ C. (1986).
Valor de las distintas técnicas serológicas en el diagnóstico y control de la hidatidosis humana. Obtención de anticuerpos monoclonales frente al antígeno hidatídico; purificación y caracterización.
Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona.
- MUÑOZ C, COLL F, QUERALT R, *et al.* (1988).
Aportación al conocimiento del antígeno hidatídico por SDS-PAGE. Determinación de las proteínas inmunogénicas por western-blot.
III Congreso SEIMC. (8-11 Mayo).
Granada. España.
- MUÑOZ C, NIETO A, GAYA A, MAZIE JC. (1987).
Obtención de anticuerpos monoclonales frente al antígeno hidatídico y su caracterización.
Rev Iber Parasitol; vol. extra. : 229-237.
- MUÑOZ C, PORTUS M. (1982).
Estudio comparativo de diversas técnicas serológicas para el diagnóstico de laboratorio de la hidatidosis.
Rev Iber Parasitol; (vol. extra.) : 345-358.
- MUÑOZ JA, CONTHE P, ARNALICH F, *et al.* (1982).
Hidatidosis en un hospital general. I. Análisis epidemiológico de 1.056 casos.
Med Clin (Barcelona); 78(10) : 421-426.
- MUSIANI P, PIANTELLI M, ARRU E, POZZUOLI R. (1974).
A solid phase radioimmunoassay for the diagnosis of human hydatidosis.
J Immunol; 112 : 1674-1679.
- MUSIANI P, PIANTELLI M, LAURIOLA L, *et al.* (1978).
Echinococcus granulosus : specific quantification of the two most immunoreactive antigens in hydatid fluids.
J Clin Path; 31 : 475-478.
- NAKANE PK. (1968).
Simultaneous localization of multiple tissue antigens using the peroxidase-labeled antibody method: a study on pituitary glands of the rat.
J Histochem Cytochem; 16 : 557.
- NELSON GS. (1986).
Hydatid disease: research and control in Turkana, Kenya. I. Epidemiological observations.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 80(2) : 177-182.

BIBLIOGRAFIA

- NJERUH FM, GATHUMA JM, OKELO GB, TUMBOH-OERI AG. (1989a).
Diagnosis of human hydatid disease in surgically-confirmed cases by the use of the indirect haemagglutination test based on a thermo-stable lipoprotein and on unfractionated hydatid cyst fluid.
Ann Trop Med Parasitol; 83(3) : 299-303.
- NJERUH FM, GATHUMA JM, TUMBOH-OERI AG, OKELO GB. (1989b).
The amino acid and fatty acid composition of the thermostable lipoprotein ("antigen 880") of hydatid cyst fluid (HCF).
East Afr Med J; 66(3) : 219-230.
- NJERUH FM, GATHUMA JM, TUMBOH-OERI AG, OKELO GB. (1989c).
Purification and partial characterization of a thermo-stable lipoprotein ("antigen 880") of hydatid cyst fluid (HCF).
East Afr Med J; 66(8) : 507-515.
- NJERUH FM, OKELO B, GATHUMA JM. (1989d).
Usefulness of indirect haemagglutination (IHA) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the diagnosis of human hydatidosis.
East Afr Med J; 66(5) : 310-314.
- NOBLE ER, NOBLE GA. (1982).
En : *Parasitology. The biology of animal parasites.*
(Noble ER, ed.), Lea & Febiger.
Philadelphia, U.S.A..
- ORIOLO C, ORIOLO R. (1975).
Physicochemical properties of a lipoprotein antigen of *Echinococcus granulosus*.
Am J Trop Med Hyg; 24(1) : 96-100.
- ORIOLO R, WILLIAMS JF, PEREZ-ESANDI MV, ORIOLO C. (1971).
Purification of lipoprotein antigens of *Echinococcus granulosus* from sheep hydatid fluid.
Am J Trop Med Hyg; 20(4) : 569-574.
- ORNSTEIN L. (1964).
Disc electrophoresis-I: background and theory.
Ann N Y Acad Sci; 121 : 321-349.
- OUCHTERLONY O, NILSON LA. (1973).
Immunodiffusion and immunoelectrophoresis.
En : *Handbook of experimental immunology*, vol. 1.
(DM Weir, ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford/London.
- PALACIN A. (1984).
Técnicas inmunohistoquímicas. Aspectos teórico-prácticos.
(ATOM S. A., eds.). Barcelona.

BIBLIOGRAFIA

PALMER SR, BIFFIN AH. (1987).

The changing incidence of human hydatid disease in England and Wales.
Epidemiol Infect; 99(3) : 693-700.

PAPANICOLAOU GN. (1942).

A new procedure for staining vaginal smears.
Science; 95 : 438.

PAREKH BS, MENTA HB, WEST MD, MONTELARO RC. (1985).

Preparative elution of proteins from nitrocellulose membranes after separation by sodium-dodecyl-sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis.
Ann Biochem; 148 : 87-92.

PAWLOWSKI ID, YAP KW, THOMPSON RCA. (1988).

Observations on the possible origin, formation and structure of calcareous corpuscles in taeniid cestodes.
Parasitol Res; 74(3) : 293-296.

PELAEZ A, SASTRE A, MORALES C, *et al.* (1988).

A comparative study of the EAST, indirect haemagglutination, basophil degranulation and latex tests in the diagnosis of human hydatid disease.
Allergol Immunopathol; 16(2) : 109-112.

PETERS T. (1985).

Serum albumin.
Adv Protein Chem; 31 : 161-245.

PIANTELLI M, POZZUOLI R, ARRU E, MUSIANI P. (1977).

Echinococcus granulosus : identification of subunits of the major antigens.
J Immunol; 119(4) : 1382-1386.

PICARDO NGA, GUI SANTES JA. (1981).

Comparison of three immunological test for seroepidemiological purposes in human echinococcosis.
Parasite Immunol; 3 : 191-199.

PINEL C, FRICKER H, CHUMPITAZI B, *et al.* (1989).

The immunodiagnostic value of six serological techniques in hydatidosis.
Serodiag Immunotherapy Infect Dis; 3 : 231-240.

PINON JM, CHARPENTIER O, DROPSY G. (1978).

Etude critique de la révélation immuno-enzymatique des réactions d'immuno-précipitation sur acétate de cellulose. Intérêt d'ELIFDA (*enzyme-linked-immuno-electro-diffusion-assay*) et d'ELIDEPA (*enzyme-linked-immuno-double-electro-phoresis-assay*) en parasitologie.
CR Acad Sc Paris; 28(D) : 499-502.

POLYDOROU K. (1981).

Echinococcosis and its control in Cyprus.
XII Congrès International d'Hydatidologie, Alger.

BIBLIOGRAFIA

- PONCE F, CUESTA C. (1991).
Desarrollo estrobilar *in vitro* de *E. granulosus* de origen hispano.
I Congreso internacional de las asociaciones sudoccidental- europeas de parasitología (ICASEP I). Valencia.
- POZZUOLI R, MUSIANI P, ARRU E, *et al.* (1972).
Echinococcus granulosus : isolation and characterization of sheep hydatid fluid antigens.
Exp Parasitol; 32 : 45-55.
- POZZUOLI R, MUSIANI P, ARRU E, *et al.* (1974).
Echinococcus granulosus : evaluation of purified antigens immunoreactivity.
Exp Parasitol; 35 : 52-60.
- POZZUOLI R, PIANTELLI M, PERUCCI C, *et al.* (1975).
Isolation of the most immunoreactive antigens of *Echinococcus granulosus* from sheep hydatid fluid.
J Immunol; 115(5) : 1459-1463.
- PURRIEL P, SCHANTZ PM, BEOVIDE H, MENDOZA G. (1973).
Human echinococcosis/hydatidosis in Uruguay: a comparison of indices of morbidity and mortality, 1962-1971.
Bull WHO; 49 : 395-402.
- QUERALT R. (1988).
Caracterització d'antigen hidatídic mitjançant electroforesi en gel de poliacrilamida. Estudi de la seva reactivitat immunogènica per "immunoblot".
Tesina de Licenciatura. Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona.
- QUERALT R, MADICO A, MERCADER M, *et al.* (1989).
Purificación de antígenos parasitarios a partir de líquido hidatídico. Estudio de su reactividad por "immunoblot".
Rev Iber Parasitol; 49(4) : 313-319.
- RAMIREZ HR (1982).
Contribución al conocimiento de la epidemiología de la hidatidosis humana en Chile (1969-1979).
Rev Med Chl; 110 : 1125-1130.
- RAUSCH RL, (1986).
Life-cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species.
En : The biology of *Echinococcus* and hydatid disease.
(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers). London.
- REISIN IL, IBARRA CA, CYBEL BL, CANTIELLO HF. (1985).
XIII Congreso Internacional de Hidatidología. (24-27 abril).
Madrid. España.

BIBLIOGRAFIA

- RICHARDS KS, ARME C, BRIDGES JF. (1983).
Echinococcus granulosus equinus : and ultrastructural study of the laminated layer, including changes on incubating cysts in various media.
Parasitology; 86(3) : 399-405.
- RICHARDS KS, MORRIS DL, DANIELS D, RILEY EM. (1988).
Echinococcus granulosus : the effects of praziquantel, *in vivo* and *in vitro*, on the ultrastructure of equine strain murine cysts.
Parasitology; 96(2) : 323-336.
- RICHARDS KS, MORRIS DL. (1989).
Evidence for the development of human hydatid daughter cysts from protoscoleces.
Parasitol Res; 75(4) : 333-334.
- RICKARD MD, DAVIES C, BOUT DT, SMYTH JD. (1977).
Immunohistological localisation of two antigens (antigen 5 and antigen B) in the cyst wall, brood capsules and protoscoleces of *Echinococcus granulosus* (avine and equine) and *E. multilocularis* using immunoperoxidase methods.
J Helminthol; 51 : 359-364.
- RICKARD MD, MACKINLAY LM, KANE GJ, *et al.* (1977b).
Studies on the on the mechanism of lysis of *Echinococcus granulosus* protoscoleces incubated in normal serum.
J Helminthol; 51 : 221-228.
- RICKARD MD. (1984).
Serological diagnosis and post-operative surveillance of human hydatid disease. I. Latex agglutination and immunoelectrophoresis using crude cyst fluid antigen.
Pathology; 16 : 207-210.
- RICKARD MD, HONEY RD, BRUMLEY JL, MITCHELL GF. (1984).
Serological diagnosis and post-operative surveillance of human hydatid disease. II. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using various antigens.
Pathology; 16 : 211-216.
- RICKARD MD, LIGHTOWLERS MW. (1986).
Immunodiagnosis of hydatid disease.
En : *The biology of Echinococcus and hydatid disease.*
(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers). London.
- RIS DR, HAMEL KL, MACKLE ZM. (1987).
Use of two polysaccharide antigens in ELISA for the detection of antibodies to *Echinococcus granulosus* in sheep sera.
Res Vet Sci; 43 : 257-263.
- RISHI AK, McMANUS DP. (1987).
Genomic cloning of human *Echinococcus granulosus* DNA : isolation of recombinant plasmids and their use as genetic markers in strain characterization.
Parasitology; 94(2) : 369-383.

BIBLIOGRAFIA

- RODRIGUEZ-CAABEIRO F, CASADO N. (1988).
Evidence of *in vitro* germinal layer development in *Echinococcus granulosus* cysts.
Parasitol Res; 74(6) : 558-562.
- RODRIGUEZ-CAABEIRO F, CASADO N, JIMENEZ A. (1989a).
Influencia del hospedador sobre la actividad enzimática de *Echinococcus granulosus*.
Rev Iber Parasitol; 49(1) : 41-42.
- RODRIGUEZ-CAABEIRO F, CASADO N, JUAREZ-PELAEZ E. (1989b).
Efecto "in vitro" de praziquantel, mebendazol y oxfendazol sobre protoscolex de
Echinococcus granulosus.
Rev Iber Parasitol; 49(1) : 77-83.
- ROGAN MT, RICHARDS KS. (1986a).
In vitro development of hydatid cysts from posterior bladders and ruptured brood
capsules of equine *Echinococcus granulosus*.
Parasitology; 92(2) : 379-390.
- ROGAN MT, RICHARDS KS. (1986b).
Echinococcus granulosus: *in vitro* effect of monensin on the tegument of the protoscolex.
Parasitology; 93(2) : 347-355.
- ROGAN MT, RICHARDS KS. (1987).
Echinococcus granulosus : changes in the surface ultrastructure during protoscolex
formation.
Parasitology; 94(2) : 359-367.
- ROGAN MT, RICHARDS KS. (1989).
Development of the tegument of *Echinococcus granulosus* (cestoda) protoscolexes
during cystic differentiation *in vivo*.
Parasitol Res; 75 : 299-306.
- ROITT I, BROSTOFF J, MALE D. (1986).
En : *Inmunología*.
(MEDSI, ed.). Barcelona.
- ROTH J, BENDAYAN M, CARLEMALM E, *et al.* (1981).
Enhancement of structural preservation and immunocytochemical staining in low
temperature embedded pancreatic tissue.
J Histochem Cytochem; 29 : 663.
- RUSCALLEDA J. (1988).
En : *Resonancia magnética nuclear*. (Ferrer Internacional, eds.). Text JS. Barcelona.
- SALA J, PARE C, ABAD C, *et al.* (1983).
Equinococosis cardíaca.
Med Clin (Barc); 80(3) : 144-145.

BIBLIOGRAFIA

- SALES R, GARCIA P. (1984).
Diagnóstico morfológico del quiste hidatídico hepático.
JANO; 604 : 45-60.
- SANCHEZ A, SANCHEZ C, ALBALA F. (1977).
Diagnóstico de la echinococcosis hidatídica mediante la prueba de inmunofluorescencia.
Rev Iber Parasitol; 37(3-4) : 379-385.
- SCHANTZ PM, ORTIZ-VALQUI RE, LUMBRERAS H. (1975).
Non-specific reactions with the intradermal test for hydatidosis in persons with other
helminths infections.
Am J Trop Med Hyg; 24 : 849-852.
- SCHANTZ PM. (1984).
Echinococcosis (hydatidosis).
En : Tropical and geographical medicine.
(Warren KS, Mahmoud AAF, eds.). Mc Graw-Hill Book Company. New York.
- SCHANTZ PM. (1988).
Circulating antigen and antibody in hydatid disease.
N Engl J Med; 318(22) : 1469-1470.
- SCHANTZ PM, WILLIAMS JF, RIVA POSSE C. (1973).
Epidemiology of hydatid disease in Southern Argentina.
Am J Trop Med Hyg; 22 : 629-641.
- SCHMIDT GD, ROBERTS LS. (1989).
Class Cestodea : form, function, and classification of the tapeworms.
En : "Foundations of Parasitology" : 313-345.
(Kendrick D, ed.), Times Mirror/Mosby College Publishing, St. Louis, Missouri.
- SCHWABE CW. (1986).
Current status of hydatid disease; a zoonosis of increasing importance.
En : The biology of *Echinococcus* and hydatid disease.
(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers). London.
- SELYUNIN VA, EBRALIDE AK, LUKANIDIN EM, *et al.* (1990).
Clonin of genes of *Echinococcus granulosus* antigens.
Bull Soc Fr Parasitol; 8(supl. 1) : 89.
- SHEPHERD JC, McMANUS DP. (1987a).
Specific and cross-reactive antigens of *Echinococcus granulosus* hydatid cyst fluid.
Mol Biochem Parasitol; 25(2) : 143-154.
- SHEPHERD JC, McMANUS DP. (1987b).
Excretory-secretory antigens of *Echinococcus granulosus* a species-specific antigen and
a cross-reactive molecule identified.
Mol Paradig Erad Helminthic Parasite; : 321-332.

BIBLIOGRAFIA

SHEPHERD JC, McMANUS DP. (1988).

Characterization of *Echinococcus granulosus* proteins and antigens from hydatid cyst fluid.

En : Current Topics in Veterinary, Medicine and Animal Sciences. Helminth Zoonoses with particular reference to the Tropics Colloquium Proceeding.

(Geerts S, ed.), Martinus Nijhoff. The Hague.

SHWEIKI HM, HIRA PR, BEHBEHANI K. (1990).

Cystic hydatid disease: aspects of the incidence in man in Kuwait, Arabian Gulf.

Eur J Epidemiol; 6(1) : 15-19.

SIRACUSANO A, TEGGI A, QUINTIERI F, et al. (1988).

Cellular immune responses of hydatid patients to *Echinococcus granulosus* antigens.

Clin Exp Immunol; 72 : 400-405.

SLAIS J, VANEK M. (1980).

Tissue reaction to spherical and lobular hydatid cysts of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786).

Folia Parasitol; 27 : 135-143.

SMYTH JD. (1962).

Studies on tapeworm physiology. X. Axenic cultivation of the hydatid organism, *Echinococcus granulosus*; establishment of a basic technique.

Parasitology; 52 : 441-457.

SMYTH JD. (1967).

Studies on tapeworm physiology. XI. *In vitro* cultivation of *Echinococcus granulosus* from the protoscolex to the strobilate stage.

Parasitology; 57 : 111-133.

SMYTH JD. (1968).

In vitro studies and host-specificity in *Echinococcus*.

Bull WHO; 39 : 5-12.

SMYTH JD. (1969).

The biology of the hydatid organisms.

En : *Advances in Parasitology* 7. Academic Press, Inc.

SMYTH JD, DAVIES Z. (1974).

Occurrence of physiological strains of *Echinococcus granulosus* demonstrated by *in vitro* culture of protoscoleces from sheep and horse hydatid cysts.

Int J Parasitol; 4 : 443-445.

SMYTH JD. (1982).

Speciation in *Echinococcus* : biological and biochemical criteria.

Rev Iber Parasitol; vol. extra. : 25-34.

BIBLIOGRAFIA

SMYTH JD. (1985).

In vitro culture of *Echinococcus* spp.

XIII Congreso Internacional de Hidatidologia. (24-27 abril). Madrid. España.

SOILEV Ch Von, BOEVA V. (1982).

Zur epidemiologie der echinokokkose bei haustroieren und menschen in der VR Bulgariem.

Angew Parasitol; 23 : 129-134.

SORICE F, DELIA S, CASTAGNARI L. (1975).

Counterimmunoelectrophoresis in diagnosis of hydatid disease.

Lancet; II : 617.

SPARKS AK, CONNOR DH, NEAFIE RC. (1976).

Diseases caused by cestodes. Echinococcosis.

En : Pathology of tropical and extraordinary diseases.

Armed Forces Institute of Pathology. Washington, D.C.

SPINOLA SM, CANNON JG. (1985).

Different blocking agents cause variation in the immunologic detection of proteins transferred to nitrocellulose membranes.

J Immunol Methods; 81 : 161-165.

STEEDEMAN HF. (1950).

Alcian blue 8GS : a new stain for mucin.

Q J Microsc Sci; 91 : 477.

STERBA J, MILACEK P, VITOVEC J. (1989).

A new method for selective diagnostic staining of hooks of echinococci, cysticerci and tapeworms in histological sections.

Folia Parasitol; 36(4) : 341-344.

STERNBERGER LA, HARDY PH, CUCULIS JJ, MEYER HG. (1970).

The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes.

J Histochem Cytochem; 18 : 315.

SULTAN SHERIFF D, EL FAKHRI M, KIDWAI SA. (1989).

Lipids in hydatid fluid collected from lungs and livers of sheep and man.

J Helminthol; 63 : 266-268.

SWIDERSKI Z. (1983).

Echinococcus granulosus : hook-muscle systems and cellular organisation of infective oncospheres.

Int J Parasitol; 13(3) : 289-299.

TASSI C, DOTTORINI S, BALDELLI F. (1982).

Confronto tra la reazione di emoaagglutinazione indiretta ed ELISA per la diagnosi della idatidiosi umana.

Giornal Mal Inf Parasit; 34(4) : 493-494.

BIBLIOGRAFIA

- TAYLOR DH, MORRIS DL, RICHARDS KS. (1988).
Combination chemotherapy of *Echinococcus granulosus* *in vitro* studies.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 82(2) : 263-264.
- TAYLOR DH, MORRIS DL, RICHARDS KS. (1989).
Echinococcus granulosus: *in vitro* maintenance of whole cysts and the assessment of the effects of albendazole sulphoxide and praziquantel on the germinal layer.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 83(4) : 535-538.
- THOMPSON RCA. (1986).
Biology and systematics of *Echinococcus*.
En : The biology of *Echinococcus* and hydatid disease.
(Thompson RCA, ed.). George Allen and Unwin (Publishers), London.
- THOMPSON RCA, YAP KW, LYMBERY AJ, PAWLOWSKI ID. (1987).
Dna probes for characterizing *Echinococcus* strains.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 81 :522.
- THOMPSON RCA. (1988).
Intraspecific variation and epidemiology. *Echinococcus*.
En : Parasitology in Focus : 403-405.
(Mohlhorn H, ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
London, Paris, Tokyo.
- THOMPSON RCA, DEPLAZES P, ECKERT J. (1990).
Uniform uterine development of *Echinococcus multilocularis* *in vitro* from protoscolex to immature stages.
J Parasitol; 76(2) : 240-247.
- THOMPSON RCA, LYMBERY AJ. (1990).
Echinococcus : biology and strain variation.
Int J Parasitol; 20(4) : 457-470.
- THOMPSON RCA, LYMBERY AJ. (1991).
The epidemiological significance of biological variation in *Echinococcus*.
Arch Hidatid; XXX : 195-200.
- THREADGOLD LT. (1982).
An electron microscope study of the tegument and associated structures of *Dipylidium caninum*.
Q J Microsc Sci; 103 : 135-140.
- TIJSSEN P. (1985).
Practice and theory of enzyme-immunoassays.
En : Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Volume 15. (Burdon RH, Knippenberg PH, eds.). Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam.
- TOMAS C, MARTOS C, GOMEZ LI, *et al.* (1986).
Estudio epidemiológico de la hidatidosis en Zaragoza en los años 1982-1983.
Rev Sanid Hig Publica (Madr); 60(3-4) : 335-350.

BIBLIOGRAFIA

- TORRES JM, CAYLA JA, COROMINAS M. (1981).
La equinococosis hidatídica : enfoque global del problema.
Med Integra; 2(3) : 298-312.
- TORRES-RODRIGUEZ JM. (1976).
Valoración de los métodos para el diagnóstico inmunológico de la hidatidosis.
Med Clin (Barc); 66 : 298-302.
- TORRES-RODRIGUEZ JM. (1979).
Caracterización antigénica de *Echinococcus granulosus*.
En : II Reunión científica de la asociación española de hidatidología; pp 17-30.
Universidad de Navarra. Pamplona. 29-30 Junio.
- TOWBIN H, STAHELIN T, GORDON J. (1979).
Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets :
procedure and some applications.
Proc Natl Acad Sci USA; 76 : 4350-4354.
- UBELAKER JE. (1983a).
Metacestodes : Morphology and development.
En : *Biology of the eucestoda*.
(Arme C, Pappas PW, eds.). Academic Press. London.
- UBELAKER JE. (1983b).
Oncospheres.
En : *Biology of the eucestoda*.
(Arme C, Pappas PW, eds.). Academic Press. London.
- VAN NOORDEN S. (1986).
Tissue preparation and immunostaining techniques for light microscopy.
En : *Immunocytochemistry. Modern methods and applications*. (Polak JM, Van
Noorden S, eds.). John Wrigh and Sons Ltd. Bristol.
- VARELA-DIAZ VM, COLTORTI EA. (1972).
Further evidence of the passage of host-immunoglobulins into hydatid cysts.
J Parasitol; 58(5) : 1015-1016.
- VARELA-DIAZ VM, GUI SANTES JA, RICARDES MI, *et al.* (1975).
Evaluation of four variants of the indirect hemagglutination test for human hydatidosis.
Am J Trop Med Hyg; 24 : 304-311.
- VARELA-DIAZ VM, ECKERT J, RAUSCH RL, *et al.* (1977).
Detection of the *Echinococcus granulosus* diagnostic arc 5 in sera from patients with
surgically-confirmed *E. multilocularis* infection.
Z Parasitenkd; 53 : 183-188.
- VARELA-DIAZ VM, TORRES JM. (1977).
Antigenic characterization of *Echinococcus granulosus* cysts.
Boll Ist Sieroter Milan; 56(4) : 303-309.

BIBLIOGRAFIA

- VARELA-DIAZ VM, GUARNERA EA, MARCHEVSKY N, *et al.* (1983).
Review of hospital cases in the assessment of hydatidosis as a health problem in the
Argentina province of Chubut.
Z Parasitenkd; 69(4) : 507-515.
- VARNDELL IM, POLAK JM. (1986).
Electron microscopical immunocytochemistry.
En : Immunocytochemistry. Modern methods and applications. (Polak JM, Van
Noorden S, eds.). John Wrigh and Sons Ltd. Bristol.
- VEGA E, GIMENO A, CALERO R, *et al.* (1985).
Estudio epidemiológico y repercusiones económicas de la quinocecosis-hidatidosis en la
provincia de Badajoz.
Rev Sanid Hig Publica (Madr); 59(11-12) : 1483-1518.
- VICENTE F, GUI SANTÉS JA. (1984).
Diagnóstico de la hidatidosis humana. Nuestra experiencia con cinco métodos
inmunológicos.
Med Clin (Barc); 82(3) : 92-96.
- VIDOR E, PIENS MA, ABBAS M, PETAVY AF. (1986).
Biochimie du liquide hydatique (*Echinococcus granulosus*) influence de la localisation
sur la perméabilité des kystes.
Ann Parasitol Hum Comp; 61(3) : 333-340.
- VIDOR E, PIENS MA, GARIN JP. (1987).
Host serum protein levels in cysts of human hydatidosis.
Trans R Soc Trop Med Hyg; 81(4) : 669-671.
- VON SINNER WN, RIFAI A, TE STRAKE, SIECK J. (1990).
Magnetic resonance imaging of thoracic hydatid disease. Correlation with clinical
findings, radiography, ultrasonography, CT and pathology.
Acta Radiol; 31(1) : 59-62.
- WATTAL C, MALLA N, KHAN IA, AARWAL C. (1986).
Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of
pulmonary echinococcosis.
J Clin Microbiol; 24(1) : 41-46.
- WATTRE P, CAPRON M, DESSAINT JP, CAPRON A. (1980).
Apport de l'immunologie au diagnostic et au traitement des maladies parasitaires.
Rev Praticien; 30(15) : 969-978.
- WEBSTER GA, CAMERON TWM. (1963).
Some preliminary observations on the development of *Echinococcus in vitro*.
Can J Zool; 41 : 185-194.
- WOJTASEK DA, TEIXIDOR HS. (1989).
Echinococcal hepatic disease: magnetic resonance appearance.
Gastrointest Radiol; 14(2) : 158-160.

BIBLIOGRAFIA

- YARZABAL LA, SCHANTZ PM, LOPEZ-LEMES MH. (1975).
Comparative sensitivity and specificity of the Casoni intradermal and the immunoelectrophoresis tests for the diagnosis of hydatid disease.
Am J Trop Med Hyg; 24 : 843-848.
- YARZABAL LA, DUPAS H, BOUT D, CAPRON A. (1976).
Echinococcus granulosus : Distribution of hydatid fluid antigens in tissues of the larval stage. I . Localization of the specific antigen of hydatid fluid (antigen 5).
Exp Parasitol; 40 : 391-396.
- YARZABAL LA, DUPAS H, BOUT D, *et al.* (1977).
Echinococcus granulosus : The distribution of hydatid fluid antigens in the tissues of the larval stage. II . Localization of the thermostable lipoprotein of parasitic origin (antigen B).
Exp Parasitol; 42 : 115-120.
- ZHENG GY, ZHAO RL, FENG XII. (1986).
Dot-immunobinding assay in the serodiagnosis of human hydatid disease.
Am J Trop Med Hyg; 35(4) : 812-814.

APENDICE

- I. **CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEINAS INMUNOGENICAS DE *E. granulosus***
 - A. **Purificación físico química de los antígenos mayoritarios**
 1. tampón acetato 0.005M, pH 5
 2. tampón fosfato 0.2M, pH 8
 3. solución de sulfato de amonio al 80%
 4. solución saturada de cloruro de bario
 5. tampón fosfato salino (PBS)
 - B. **Electroforesis en geles de poliacrilamida**
 1. solución de acrilamida al 40%
 2. tampón tris-HCl 1.5 M, pH 8.8, SDS 0.4%
 3. tampón tris HCl 0.5 M, pH 6.8, SDS 0.4%
 4. solución de persulfato de amonio al 10%
 5. solución de SDS (sodiumdodecylsulfate) al 20%
 6. solución de EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) 0.01 M
 7. solución de azul de bromofenol al 0.1%
 8. geles de poliacrilamida al 5%, 8%, 12% y 20%
 9. tampón tris-HCl 0.0625 M, pH 6.8, SDS 2%, glicerol 10%, EDTA 0.001 M, azul de bromofenol 0.0025%.
 - a. no reductor
 - b. reductor
 10. solución de pironina
 - a. solución de pironina al 1%
 - b. tampón tris 2M, pH 6.8
 11. tampón tris 0.025M, glicina 0.192M, pH 8.3, SDS 0.1%

- C. Tinción de geles con azul coomassie
 - 1. solución colorante de azul coomassie
 - 2. solución decolorante de azul coomassie
- D. Tinción de geles con nitrato de plata
 - 1. solución de etanol al 45%, ácido acético 12%.
 - 2. solución de etanol al 10%
 - 3. solución argéntica al 1%
 - 4. solución reveladora
- E. Electroblotting
 - 1. tampón tris 0.025M, glicina 0.192M, metanol 20%, pH 8.4
- F. Inmunoblot
 - 1. tampón tris 20mM, ClNa 0.13M, pH 7.6
 - 2. tampón tris 20mM, ClNa 0.13M, gelatina 0.75%, pH 7.6
Tris 0.1M, pH 7.6
 - 3. solución de DAB al 0.05%, Tris 0.1M, pH 7.6, H₂O₂ 0.01%
- G. Tinción proteica sobre nitrocelulosa
 - 1. solución colorante de negro amido
 - 2. solución decolorante de negro amido

II PURIFICACION DE LOS ANTISUEROS**A. Precipitación de la fracción inmunoglobulinica**

1. solución de sulfato de amonio al 70%
2. tampón fosfato salino (PBS)

B. Cromatografía de afinidad

1. ácido clorhídrico 1mM
2. tampón CO_2HNa 0.1M, ClNa 0.5M, pH 8.3
3. solución de etanolamina 2M, pH 8.0
4. tampón acetato 0.1M, ClNa 0.5M, pH 4
5. tampón PBS-salino 0.5M
6. tampón glicina 0.1M, ClNa 0.5M, pH 2.5
7. tampón PBS, tween 20 0.05%, azida sódica 100mM

C. Inmunoelectroforesis

1. tampón veronal 0.05M, pH 8.2
2. solución de citrato sódico al 5%
3. solución de ClNa 0.14M (SF)
4. solución colorante de azul coomassie
5. solución decolorante de azul coomassie

III CULTIVO *IN VITRO* DE PROTOSCOLEX

A. Tratamiento enzimático de los protoscolex

1. tampón fosfato salino (PBS)
2. PBS-tripsina 0.25%
3. solución acuosa de eosina al 0.01%

B. Cultivo de protoscolex

1. medio mínimo esencial de Eagle modificado (MEM), sin suero bovino fetal
2. solución de HEPES
3. solución madre de penicilina - estreptomina
4. solución madre de neomicina

IV. ESTRUCTURA E INMUNOLocalización DE LAS FRACCIONES ANTIGENICAS POR MICROSCOPIA OPTICA**A. Fijación del material y obtención de cortes histológicos**

1. solución de formalina al 10%, pH 7.0
2. solución de agar al 5%
3. solución de gelatina - cromo III

B. Tinción de hematoxilina eosina

1. solución de etanol al 70%, ácido clorhídrico 1%
2. agua amoniacal
3. solución de eosina-floxina

C. Tinción de May-Grunwald - Giemsa

1. solución de ácido acético al 0.2%

D. Tinción tricrómica de Masson

1. solución de formalina al 10%, pH 7.0
2. solución de Bouin
3. solución de fucsina y escarlata de Biebrich
4. solución de ácido acético al 0.2%
5. solución de ácido fosfomolibdico y fosfotúngstico
6. solución de verde claro al 2%

E. Tinción tricrómica de Papanicolaou

1. solución de ácido clorhídrico al 0.25%

F. Tinción de P.A.S. para carbohidratos

1. solución de ácido periódico al 0.5%

G. Tinción de P.A.S. tras digestión con diastasa

1. tampón fosfato salino, pH 6.0
2. solución de diastasa

H. Tinción de azul alcian pH 2.5

1. solución de ácido acético al 3%
2. solución de azul alcian al 1%
3. solución de Kernechtrot

I. Tinción de Kinyoun

1. solución de Kinyoun
2. solución de etanol al 70%, ácido clorhídrico 1%
3. solución de verde claro al 2%

J. Tinción argéntica de Gomori - Grocott

1. solución de ácido crómico al 5%
2. solución de bisulfito sódico al 1%
3. solución de nitrato de plata al 5%
4. solución de metenamina al 3%
5. solución de borax al 5%
6. solución de metenamina argéntica
7. solución de cloruro de oro al 0.1%
8. solución de tiosulfato sódico al 2%
9. solución de verde claro al 0.04%

K. Tinción argéntica para fibras de reticulina

1. solución de permanganato potásico al 0.25%
2. solución de ácido oxálico al 5%
3. solución amoniacal de nitrato de plata
4. solución de formalina al 1%
5. solución de cloruro de oro al 0.2%
6. solución de tiosulfato sódico al 5%
7. solución de Kernechtrot

L. Inmunolocalización de las fracciones antigénicas

1. tampón tris salino 20 mM, 0.13 M, pH 7.6
2. tampón tris salino gelatina 0.75%
3. tampón tris 50 mM
4. solución de H_2O_2 al 3%
5. solución de saponina al 0,05%
6. solución de bloqueo
7. solución DAB- H_2O_2

V. ESTRUCTURA E INMUNOLocalIZACION DE LAS FRACCIONES ANTIGENICAS POR MICROSCOPIA ELECTRONICA**A. Fijación del material**

1. tampón fosfato salino 0.1M, pH 7.3
2. solución de paraformaldehído al 4%, glutaraldehído al 0.3%
3. solución de cloruro de amonio 50mM

B. Inmunolocalización de las fracciones antigénicas

1. tampón PBS-glicina 0.1M
2. tampón PBS-ovoalbúmina 1%

C. Contrastado de las preparaciones

1. solución de acetato de uranilo al 2%
2. solución de Reynolds

CARACTERIZACION DE LAS PROTEINAS INMUNOGENICAS DE E. granulosus

PURIFICACION FISICO QUIMICA DE LOS ANTIGENOS MAYORITARIOS

TAMPÓN ACETATO 0.005M, pH 5

Acetato de sodio anhidro0.41 g
(CH₃COONa ; MERCK)

Agua bidestilada esteril, apirógena800.00 ml
(PALEX)

- ajustar pH a 5 con ac acético (SCHARLAU)
- enrasar a 1000 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

TAMPON FOSFATO 0.2M, pH 8

- SOLUCION 1

Dihidrogenofosfato de potasio2.72 g
(KH₂PO₄ ; MERCK)

Agua bidestilada esteril, apirógena .esp100.00 ml
(PALEX)

- SOLUCION 2

Hidrogenofosfato de disodio anhidro28.39 g
(Na₂HPO₄ ; MERCK)

Agua bidestilada esteril, apirógena .esp1000.00 ml
(PALEX)

- TAMPON FOSFATO 0.2M, pH 8

Sobre la solución 2 verter la solución 1 hasta ajustar el pH de la solución 2 a 8.0.

SOLUCION DE SULFATO DE AMONIO AL 80%

- SOLUCION SATURADA DE SULFATO DE AMONIO

Sulfato de amonio80.00 g
 ((NH₄)₂ SO₄ ; MERCK)

Agua bidestilada esteril, apirógena .csp 100.00 ml
 (PALEX)

- disolver a 35°C en agitación
- dejar enfriar a temperatura ambiente
- tomar una pequeña alícuota y diluir 1/20
- ajustar, en la solución diluida, el pH a 7,2 con hidróxido de amonio (NH₄OH ; SIGMA).
- ajustar proporcionalmente el pH de la solución concentrada

- SOLUCION DE SULFATO DE AMONIO AL 80 %

Solución saturada de sulfato de amonio.....80.00 ml

Agua bidestilada esteril, apirógena20.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION SATURADA DE CLORURO DE BARIO

Agua bidestilada esteril, apirógena 100.00 ml
 (PALEX)

Cloruro bórico a saturación
 (Cl₂Ba 2H₂ O ; PANREAC)

- disolver a 35°C en agitación
- dejar enfriar a temperatura ambiente

TAMPON FOSFATO SALINO (PBS)

Cloruro sódico	7.65 g
(CINa ; PROBUS)	
Hidrogenofosfato de disodio anhidro	0.72 g
(Na ₂ HPO ₄ ; MERCK)	
Dihidrogenofosfato de potasio	0.27 g
(KH ₂ PO ₄ ; MERCK)	
Agua bidestilada esteril, apirógena csp	1000.00 ml
(PALEX)	

- comprobar que el pH sea 7.2

ELECTROFORESIS EN GELES DE POLIACRILAMIDA

SOLUCION MADRE DE ACRILAMIDA AL 40%

Acrilamida	38.96 g
(Acrylamide ; BIO-RAD)	
Bis-acrilamida	1.04 g
(N,N'-methylene-bis-acrylamide ; BIO-RAD)	
Agua bidestilada esteril, apirógena csp	100.00 ml
(PALEX)	

TAMPON GEL SEPARADOR (TRIS-HCl 1.5 M, pH 8.8, SDS 0.4%)

Trizma [®] base	181.70 g
(tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)	
SDS (sodium dodecyl sulfate)	4.00 g
(Lauryl sulfate, sodium salt ; SIGMA)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	800.00 ml
(PALEX)	

- ajustar pH a 8.8 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 1000 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

TAMPON GEL APILADOR (TRIS HCl 0.5 M, pH 6.8, SDS 0.4%)

Trizma[®] base60.40 g
(tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)

SDS (sodium dodecyl sulfate)4.00 g
(Lauryl sulfate, sodium salt ; SIGMA)

Agua bidestilada esteril, apirógena800.00 ml
(PALEX)

- ajustar pH a 6.8 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 1000 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

PERSULFATO DE AMONIO AL 10%

Persulfato de amonio0.10 g
(NH₄)₂ S₂ O₈ ; BIO-RAD)

Agua bidestilada esteril, apirógena csp1.00 ml
(PALEX)

- solución extemporanea

SDS (SODIUMDODECYLSULFATE) AL 20%

SDS (sodium dodecyl sulfate)20.00 g
(Lauryl sulfate, sodium salt ; SIGMA)

Agua bidestilada esteril, apirógena csp100.00 ml
(PALEX)

EDTA (ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID) 0.01 M

EDTA-Na0.34 g
(Ethylenediaminetetraacetic acid,
disodium salt ; SIGMA)

Agua bidestilada esteril, apirógena csp100.00 ml
(PALEX)

AZUL DE BROMOFENOL AL 0.1%

Azul de Bromofenol0.10 g
(SCHARLAU)

Agua bidestilada esteril, apirógena csp100.00 ml
(PALEX)

PREPARACION DE LOS GELES DE POLIACRILAMIDA

	GEL APILADOR Tris-HCL 0.125 M pH 6.8, SDS 0.1%	GEL SEPARADOR Tris-HCl 0.375 M, pH 8.8, SDS 0.1%			
		5%	8%	12%	20%
Acrilamida- bisacrilamida 40%	1.0 ml	2.5 ml	4 ml	6 ml	10 ml
Tampón Tris-HCl 1.5M pH 8.8 SDS 0.4%	-	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Tampón Tris-HCl 0.5M pH 6.8 SDS 0.4%	2 ml	-	-	-	-
Agua destilada	5 ml	12.3 ml	10.8 ml	8.8 ml	4.8 ml
TEMED (BIO-RAD)	8 µl	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl
Persulfato amonico 10%	80 µl	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

- Los volúmenes de la tabla corresponden a los empleados en la preparación de geles analíticos (0.75 x 160 x 200 mm).

- Para la preparación de geles preparativos (1.5 x 160 x 200 mm) emplear volúmenes dobles.

TAMPON DE MUESTRA (TRIS-HCl 0.0625 M (pH 6.8), SDS 2%, GLICEROL 10%, EDTA 0.001 M, AZUL DE BROMOFENOL 0.0025%.)

NO REDUCTOR	1 x	2 x
Tampón gel apilador	1.25 ml	2.5 ml
SDS al 20%	1.0 ml	2.0 ml
Glicerol (bacto Glycerol ; DIFCO)	1.0 ml	2.0 ml
EDTA 0.01 M	1.0 ml	2.0 ml
Azul de Bromofenol 0.1%	0.25 ml	0.5 ml
Agua bidestilada esteril, apirógena. (PALEX)	5.5 ml	1.0 ml
REDUCTOR	1 x	2 x
Tampón gel apilador	1.25 ml	2.5 ml
SDS al 20%	1.0 ml	2.0 ml
Glicerol (bacto Glycerol ; DIFCO)	1.0 ml	2.0 ml
EDTA 0.01 M	1.0 ml	2.0 ml
Azul de Bromofenol 0.1%	0.25 ml	0.5 ml
2-Mercaptoetanol (C ₂ H ₆ OS ; SIGMA)	0.5 ml	1.0 ml
Agua bidestilada esteril, apirógena. (PALEX)	5.5 ml	1.0 ml

SOLUCION DE PIRONINA

- SOLUCION MADRE DE PIRONINA

Pironina0.10 g
 (Pyronin Y(G) ; BIO-RAD)

Agua bidestilada esteril, apirógena esp..... 10.00 ml
 (PALEX)

- TAMPON TRIS 2M, pH 6.8

Trizma[®] base24.22 g
 (tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)

Agua bidestilada esteril, apirógena80.00 ml
 (PALEX)

- ajustar pH a 6.8 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 100 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

- SOLUCION DE PIRONINA PARA GELES

Solución madre de pironina0.03 ml

Glicerol0.75 ml
 (bacto Glycerol ; DIFCO)

Tris 2M, pH 6.80.037 ml

Agua bidestilada esteril, apirógena0.70 ml
 (PALEX)

- centrifuar 10 min a 3000 rpm
- recuperar el sobrenadante

TAMPON DE CUBETA (TRIS 0.025M, GLICINA 0.192M, pH 8.3, SDS 0.1%)

Trizma [®] base	3.03 g
(tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)	
Glicina	14.40 g
(H ₂ NCH ₂ COOH ; MERCK)	
SDS al 20%	5.00 ml
Agua bidestilada esteril, apirógena	800.00 ml
(PALEX)	
- ajustar pH a 8.3 con HCl (SCHARLAU)	
- enrasar a 1000 ml con H ₂ O	
- comprobar pH y ajustar	

TINCION DE GELES CON AZUL COOMASSIE

SOLUCION COLORANTE DE AZUL COOMASSIE

Azul Coomassie	1.00 g
(Coomassie brilliantblue R-250 ; MERCK)	
Metanol	225.00 ml
(CH ₃ OH ; PROBUS)	
Acido acético glacial	50.00 ml
(CH ₃ COOH ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	225.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION DECOLORANTE DE AZUL COOMASSIE

Metanol	300.00 ml
(CH ₃ OH ; PROBUS)	
Acido acético glacial	100.00 ml
(CH ₃ COOH ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	800.00 ml
(PALEX)	

TINCION DE GELES CON NITRATO DE PLATA

SOLUCION DE ETANOL AL 45%, ACIDO ACETICO 12%.

Etanol	450.00 ml
($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; PROBUS)	
Acido acético glacial	120.00 ml
(CH_3COOH ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	430.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION DE ETANOL AL 10%

Etanol	100.00 ml
($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	900.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION ARGENTICA AL 1%

Nitrato de plata	0.10 g
(AgNO_3 ; SCHARLAU)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	10.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION REVELADORA

Carbonato sódico anhidro	2.50 g
(Na_2CO_3 ; MERCK)	
Formalina	0.05 ml
(Formaldehido 35-40% ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena csp	100.00 ml
(PALEX)	

ELECTROBLOTTING

TAMPON DE TRANSFERENCIA (TRIS 0.025M, GLICINA 0.192M, METANOL 20%, pH 8.4)

Trizma [®] base	3.03 g
(tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)	
Glicina	14.40 g
(H ₂ NCH ₂ COOH ; MERCK)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	700.00 ml
(PALEX)	
- ajustar pH a 8.4 con HCl (SCHARLAU)	
- enrasar a 800 ml con H ₂ O	
Metanol	200.00 ml
(CH ₃ OH ; PROBUS)	
- comprobar pH y ajustar	

INMUNOBLOT

TRIS SALINO (TRIS 20mM, ClNa 0.13M, pH 7.6)

- TRIS SALINO 10X

Trizma [®] base	24.22 g
(tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)	
Cloruro sódico	75.97 g
(ClNa ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	800.00 ml
(PALEX)	
- ajustar pH a 7.6 con HCl (SCHARLAU)	
- enrasar a 1000 ml con H ₂ O	
- comprobar pH y ajustar	

- TRIS 20mM, ClNa 0.13M, pH 7.6

Tris salino 10x	100.00 ml
Agua bidestilada esteril, apirógena	900.00 ml
(PALEX)	
- comprobar pH y ajustar	

TRIS SALINO GELATINA (TRIS 20mM, ClNa 0.13M, GELATINA 0.75%, pH 7.6)

Gelatina7.50 g
(Gelatina en polvo ; MERCK)

Tris salino 10x 100.00 ml

Agua bidestilada esteril, apirógena800.00 ml
(PALEX)

- ajustar pH a 7.6 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 1000 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

TRIS 0.1M, pH 7.6

Trizma[®] base12.11 g
(tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)

Agua bidestilada esteril, apirógena800.00 ml
(PALEX)

- ajustar pH a 7.6 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 1000 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

SOLUCION DE DAB (DAB 0.05%, TRIS 0.1M, pH 7.6, H₂O₂ 0.01%)

DAB0.05 g
(3,3'diaminobenzidine tetra-
hydrochloride ; SIGMA)

Tris 0.1M 100.00 ml

H₂O₂ al 30%0.10 ml
(MERCK)

- preparar inmediatamente antes de su uso

TINCION PROTEICA SOBRE NITROCELULOSA**SOLUCION COLORANTE DE NEGRO AMIDO**

Negro amido	0.50 g
(Amido black 10 B ; MERCK)	
Metanol	45.00 ml
(CH ₃ OH ; PROBUS)	
Acido acético glacial	10.00 ml
(CH ₃ COOH ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	45.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION DECOLORANTE DE NEGRO AMIDO

Metanol	300.00 ml
(CH ₃ OH ; PROBUS)	
Acido acético glacial	100.00 ml
(CH ₃ COOH ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	800.00 ml
(PALEX)	

PURIFICACION DE LOS ANTISUEROS

PRECIPITACION DE LA FRACCION INMUNOGLOBULINICA

SOLUCION DE SULFATO DE AMONIO AL 70%

- SOLUCION SATURADA DE SULFATO DE AMONIO

Sulfato de amonio800.00 g
($(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$; MERCK)

Agua bidestilada esteril, apirógena .esp1000.00 ml
(PALEX)

- disolver a 60°C en agitación
- dejar enfriar a temperatura ambiente
- ajustar el pH a 7.2

- SOLUCION DE SULFATO DE AMONIO AL 70 %

Solución saturada de sulfato de amonio700.00 ml

Agua bidestilada esteril, apirógena300.00 ml
(PALEX)

TAMPON FOSFATO SALINO (PBS)

Cloruro sódico7.65 g
(ClNa ; PROBUS)

Hidrogenofosfato de disodio anhidro0.72 g
(Na_2HPO_4 ; MERCK)

Dihidrogenofosfato de potasio0.27 g
(KH_2PO_4 ; MERCK)

Agua bidestilada esteril, apirógena .esp1000.00 ml
(PALEX)

- comprobar que el pH sea 7.2

CROMATOGRAFIA DE AFINIDAD

ACIDO CLORHIDRICO 1mM

Acido clorhídrico concentrado	0.10 ml
(ClH 37% ; SCHARLAU)	
Agua bidestilada esteril, apirógena .esp	1000.00 ml
(PALEX)	

TAMPON DE SENSIBILIZACION (CO₃HNa 0.1M, ClNa 0.5M, pH 8.3)

Bicarbonato sódico	8.40 g
(CO ₃ HNa ; MERCK)	
Cloruro sódico	29.22 g
(ClNa ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	800.00 ml
(PALEX)	

- ajustar pH a 8.3 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 1000 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

SOLUCION ETANOLAMINA 2M, pH 8.0

Etanolamina	6.00 ml
(C ₂ H ₇ NO , 1.02 g/ml ; MERCK)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	30.00 ml
(PALEX)	

- ajustar pH a 8.0 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 50 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

TAMPON ACETATO 0.1M, ClNa 0.5M, pH 4

Acetato de sodio anhidro.....8.20 g
(CH₃COONa ; MERCK)

Cloruro sódico.....29.22 g
(ClNa ; PROBUS)

Agua bidestilada esteril, apirógena800.00 ml
(PALEX)

- ajustar pH a 4.0 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 1000 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

TAMPON PBS-SALINO

- TAMPON PBS

Cloruro sódico.....7.65 g
(ClNa ; PROBUS)

Hidrogenofosfato de disodio anhidro0.72 g
(Na₂HPO₄ ; MERCK)

Dihidrogenofosfato de potasio0.27 g
(KH₂PO₄ ; MERCK)

Agua bidestilada esteril, apirógena .csp1000.00 ml
(PALEX)

- comprobar que el pH sea 7.2

- TAMPON PBS-SALINO 0.5M

Cloruro sódico29.22 g
(ClNa ; PROBUS)

PBS csp1000.00 ml

TAMPON GLICINA 0.1M, ClNa 0.5M, pH 2.5

Glicina0.75 g
(H_2NCH_2COOH ; MERCK)

Cloruro sódico2.92 g
(ClNa ; PROBUS)

Agua bidestilada esteril, apirógena80.00 ml
(PALEX)

- ajustar pH a 2.5 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 100 ml con H_2O
- comprobar pH y ajustar

TAMPON PBS, TWEEN 20 0.05%, AZIDA SODICA 100mM

Tween 200.05 ml
(Polyoxyethylenesorbitan monolaurate ; PANREAC)

Azida sódica0.65 g
(NaN_3 ; MERCK)

PBS .csp 100.00 ml

INMUNOELECTROFORESIS

TAMPON VERONAL 0.05M, pH 8.2

Veronal sódico10.31 g
(Barbital, sodium salt,
 $C_8H_{11}N_2O_3Na$; MERCK)

Merthiolate^h0.10 g
(Thimerosal ; SIGMA)

Agua bidestilada esteril, apirógena800.00 ml
(PALEX)

- ajustar pH a 8.2 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 100 ml con H_2O
- comprobar pH y ajustar

CITRATO SODICO AL 5%

Citrato trisódico50.00 g
 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot x \text{2H}_2\text{O}$; SCHARLAU)
 Agua bidestilada esteril, apirógena .csp 1000.00 ml
 (PALEX)

SUERO FISIOLÓGICO (SF : ClNa 0.14M)

Cloruro sódico8.50 g
 (ClNa ; PROBUS)
 Agua bidestilada esteril, apirógena .csp 1000.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION COLORANTE DE AZUL COOMASSIE

Azul Coomassie2.50 g
 (Coomassie brilliantblue R-250 ; MERCK)
 Etanol225.00 ml
 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; PROBUS)
 Acido acético glacial ,50.00 ml
 (CH_3COOH ; PROBUS)
 Agua bidestilada esteril, apirógena225.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION DECOLORANTE DE AZUL COOMASSIE

Etanol300.00 ml
 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; PROBUS)
 Acido acético glacial100.00 ml
 (CH_3COOH ; PROBUS)
 Agua bidestilada esteril, apirógena600.00 ml
 (PALEX)

CULTIVO IN VITRO DE PROTOSCOLEX

TRATAMIENTO ENZIMATICO DE LOS PROTOSCOLEX

TAMPON FOSFATO SALINO (PBS)

Cloruro sódico	7.65 g
(ClNa ; PROBUS)	
Hidrogenofosfato de disodio anhidro	0.72 g
(Na ₂ HPO ₄ ; MERCK)	
Dihidrogenofosfato de potasio	0.27 g
(KH ₂ PO ₄ ; MERCK)	
Agua bidestilada esteril, apirógena .csp	1000.00 ml
(PALEX)	

- comprobar que el pH sea 7.2

PBS-TRIPSINA 0.25%

Solución de tripsina.....	5.00 ml
(2.5% Trypsin (1:250) in Hanks' Balanced Salts ; FLOW LABORATOIRES)	
PBS csp.....	50.00 ml

SOLUCION ACUOSA DE EOSINA AL 0.01%

Eosina.....	10.00 mg
(Eosin yellowish ; FLUKA)	
Agua bidestilada esteril, apirógena .csp	100.00 ml
(PALEX)	

CULTIVO DE PROTOSCOLEX

MEDIO MINIMO ESENCIAL DE EAGLE MODIFICADO (MEM), SIN SUERO BOVINO FETAL (SBF).

Medio Minimo Esencial 10x	50.00 ml
(Minimum Essential Medium Eagle, Modified with Earle's Salts 10x ; FLOW LABORATOIRES)	
Aminoácidos no esenciales 100x	5.00 ml
(Non-Essential Amino Acids for Minimum Essential Medium Eagle 100x; FLOW LABORATOIRES)	
Solución HEPES	4.00 ml
L-Glutamine 200 mM	10.00 ml
(FLOW LABORATOIRES)	
Solución madre de penicilina-estreptomicina...	1.00 ml
Solución madre de neomicina	1.00 ml
Agua bidestilada esteril, apirógena esp.....	500.00 ml
(PALEX)	

- ajustar el pH a 7.5 con CLH (SCHARLAU)

SOLUCION DE HEPES

HEPES.....	119.00 g
(N-2-hydroxyethylpiperazine-N'- 2-ethanesulfonic acid ; SIGMA)	
Agua bidestilada esteril, apirógena esp	500.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION MADRE DE PENICILINA - ESTREPTOMICINA

Penicilina G sódica	10 ⁷ UI
(Peniroger 5.000.000 UI ; ROGER)	
Estreptomicina	10.00 g
(Estreptomicina sulfato 1 g ; ANTIBIOTICOS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena esp	50.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION MADRE DE NEOMICINA

Neomicina0.03 g
 (Neomycin sulfate ; GIBCO)

Agua bidestilada esteril, apirógena .esp.....50.00 ml
 (PALEX)

ESTRUCTURA E INMUNOLocalIZACION DE LAS FRACCIONES ANTIGENICAS POR MICROSCOPIA OPTICA

FIJACION DEL MATERIAL Y OBTENCION DE CORTES HISTOLOGICOS

SOLUCION DE FORMALINA AL 10% TAMPONADA A pH 7.0

Formalina	100.00 ml
(Formaldehído 35-40% ; PROBUS)	
Fosfato sódico dibásico, anhidro.....	6.50 g
(Na ₂ HPO ₄ ; MERCK)	
Fosfato sódico monobásico, anhidro	4.00 g
(NaH ₂ PO ₄ ; MERCK)	
Agua bidestilada esteril, apirógena .csp	1000.00 ml
(PALEX)	

AGAR AL 5%

Agar bacteriológico.....	5.00 g
(Agar bacteriological, Agar N° 1 ; OXOID)	
Agua bidestilada esteril, apirógena .csp	100.00 ml
(PALEX)	

- llevar al ebullición tres veces
- dejar enfriar a 50-60 °C

SOLUCION DE GELATINA - CROMO III

Gelatina.....	3.00 g
(Gelatina en polvo ; MERCK)	
Agua bidestilada esteril, apirógena .csp	1000.00 ml
(PALEX)	

- disolver en agitación a 60 °C
- dejar enfriar a temperatura ambiente

Cromo III.....	0.50 g
(Cromo III sulfato potásico ; PANREAC)	

- enfriar a 4 °C
- filtrar si es preciso
- emplear el mismo día

TINCION DE HEMATOXILINA EOSINA

SOLUCION DE ALCOHOL ACIDO (ETANOL 70%, ACIDO CLORHIDRICO 1%)

Etanol	700.00 ml
(CH_3CH_2OH ; PROBUS)	
Acido clorhidrico concentrado	10.00 ml
(ClH ; SCHARLAU)	
Agua bidestilada estéril, apirógena .esp	1000.00 ml
(PALEX)	

AGUA AMONIACAL

Amoníaco	4.00 ml
(Amonium hidroxide, 28-30% ; PROBUS)	
Agua del grifo esp	1000.00 ml

SOLUCION DE EOSINA-FLOXINA

- SOLUCION DE EOSINA AL 2%

Eosina	5.00 g
(Eosín Y ; SIGMA)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	250.00 ml
(PALEX)	
- disolver en agitación	

- SOLUCION DE FLOXINA AL 2%

Floxina	5.00 g
(Phloxine B ; SIGMA)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	250.00 ml
(PALEX)	
- disolver en agitación	

- SOLUCION DE TRABAJO

Solución de eosina al 2%	100.00 ml
Solucion de floxina al 2%	10.00 ml
Alcohol 96°	780.00 ml
Acido acético glacial	4.00 ml
(CH_3COOH ; PROBUS)	
- solución extemporánea	

TINCION DE MAY-GRUNWALD - GIEMSA

SOLUCION ACUOSA DE ACIDO ACETICO AL 0.2%

Acido acético glacial	1.00 ml
(CH ₃ COOH ; PROBUS)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	499.00 ml
(PALEX)	

TINCION TRICROMICA DE MASSON

SOLUCION DE FORMALINA AL 10% TAMPONADA A pH 7.0

Formalina	100.00 ml
(Formaldehido 35-40% ; PROBUS)	
Fosfato sódico dibásico, anhidro	6.50 g
(Na ₂ HPO ₄ ; MERCK)	
Fosfato sódico monobásico, anhidro	4.00 g
(NaH ₂ PO ₄ ; MERCK)	
Agua bidestilada esteril, apirógena .esp	1000.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION DE BOUIN

Solucion de formalina al 10 %, pH 7.0	400.00 ml
Acido acético glacial	20.00 ml
(CH ₃ COOH ; PROBUS)	
Acido pícrico	a saturación
(C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ ; MERCK)	

SOLUCION DE FUCSINA Y ESCARLATA DE BIEBRICH

- SOLUCION ACUOSA DE ESCARLATA DE BIEBRICH AL 1%

Escarlata de Biebrich10.00 g
(Biebrich scarlet ; SIGMA)

Agua bidestilada estéril, apirógena .csp1000.00 ml
(PALEX)

- SOLUCION ACUOSA DE FUCSINA ACIDA AL 1%

Fucsina10.00 g
(Acid fuchsin, calcium salt ; SIGMA)

Agua bidestilada estéril, apirógena .csp1000.00 ml
(PALEX)

- SOLUCION DE FUCSINA Y ESCARLATA DE BIEBRICH

Escarlata de Biebrich al 1%90.00 ml

Fucsina ácida al 1%10.00 ml

Acido acético glacial1.00 ml
(CH₃COOH ; PROBUS)

SOLUCION ACUOSA DE ACIDO ACETICO AL 0.2%

Acido acético glacial1.00 ml
(CH₃COOH ; PROBUS)

Agua bidestilada estéril, apirógena499.00 ml
(PALEX)

SOLUCION DE ACIDO FOSFOMOLIBDICO Y FOSFOTUNGSTICO

Acido fosfomolibdico5.00 g
(Phosphomolybdic acid ; SIGMA)

Acido fosfotúngstico5.00 g
(Tungstophosphoric acid ; SIGMA)

Agua bidestilada estéril, apirógena .csp200.00 ml
(PALEX)

SOLUCION DE VERDE CLARO AL 2%

Verde claro	2.00 g
(Light green, SF yellowish ; MERCK)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	98.00 ml
(PALEX)	
Acido acético glacial	1.00 ml
(CH ₃ COOH ; PROBUS)	

TINCION TRICROMICA DE PAPANICOLAOU

SOLUCION ACUOSA DE ACIDO CLORHIDRICO AL 0.25%

Acido clorhídrico concentrado	2.50 ml
(ClH ; SCHARLAU)	
Agua bidestilada estéril, apirógena ,	997.50 ml
(PALEX)	

TINCION DE P.A.S. PARA CARBOHIDRATOS

SOLUCION ACUOSA DE ACIDO PERIODICO AL 0.5%

Acido periódico.....	0.50 g
(H ₅ IO ₆ ; MERCK)	
Agua bidestilada estéril, apirógena .esp	100.00 ml
(PALEX)	

TINCION DE P.A.S. TRAS DIGESTION CON DIASTASA

TAMPON FOSFATO SALINO pH 6.0

Cloruro sódico.....	8.00 g
(ClNa ; PROBUS)	
Fosfato sódico dibásico, anhidro.....	0.28 g
(Na ₂ HPO ₄ ; MERCK)	
Fosfato sódico monobásico, anhidro	1.97 g
(NaH ₂ PO ₄ ; MERCK)	
Agua bidestilada estéril, apirógena .esp	1000.00 ml
(PALEX)	

- comprobar que el pH sea 6.0

SOLUCION DE DIASTASA

Diastasa de malta	0.10 g
(μ -amylase, type VIII-A, from barley malt, 100.000 u/mg ; SIGMA)	
Tampón fosfato salino pH 6.0.....	100.00 ml

- solución extemporánea

TINCION DE AZUL ALCIAN pH 2.5

SOLUCION ACUOSA DE ACIDO ACETICO AL 3%

Acido acético glacial	3.00 ml
(CH ₃ COOH ; PROBUS)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	97.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION DE AZUL ALCIAN AL 1%

Azul alcian	1.00 g
(Alcian blue 8GX ;SIGMA)	
Solucion de acido acetico al 3% esp	100.00 ml

SOLUCION DE KERNECHITROT

Sulfato de aluminio	4.00
(Al ₂ (SO ₄) ₃ ; SIGMA)	
Rojo nuclear fuerte	0.25 g
(Nuclear fast red ; SIGMA)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	100.00 ml
(PALEX)	

- disolver en agitacion a 60 °C
- dejar enfriar y filtrar
- añadir algunos cristales de timol

TINCION DE KINYOUN

SOLUCION DE KINYOUN

Fucsina básica	4.00 g
(Pararosaniline, base ; SIGMA)	
Cristales de fenol	8.00 g
(C ₆ H ₆ O ; SIGMA)	
Alcohol 96°	20.00 ml
(PROBUS)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	100.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION DE ALCOHOL ACIDO (ETANOL 70%, ACIDO CLORHIDRICO 1%)

Etanol.....	700.00 ml
($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; PROBUS)	
Acido clorhídrico concentrado	10.00 ml
(HCl ; SCHARLAU)	
Agua bidestilada estéril, apirógena .csp	1000.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION DE VERDE CLARO AL 2%

Verde claro	2.00 g
(Light green, SF yellowish ; MERCK)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	98.00 ml
(PALEX)	
Acido acético glacial	1.00 ml
(CH_3COOH ; PROBUS)	

TINCION ARGENTICA DE GOMORI - GROCOTT

SOLUCION ACUOSA DE ACIDO CROMICO AL 5%

Acido crómico.....	5.00 g
(CrO_3 ; MERCK)	
Agua bidestilada estéril, apirógena .csp	100.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION ACUOSA DE BISULFITO SODICO AL 1%

Bisulfito sódico	1.00 g
(NaHSO_3 ; SIGMA)	
Agua bidestilada estéril, apirógena .csp	100.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION ACUOSA DE NITRATO DE PLATA AL 5%

Nitrato de plata.....5.00 g
 (AgNO₃ ; SCHARLAU)
 Agua bidestilada estéril, apirógena csp100.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION ACUOSA DE METENAMINA AL 3%

Metenamina3.00 g
 (Hexamethylenetetramine ; SIGMA)
 Agua bidestilada estéril, apirógena csp100.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION ACUOSA DE BORAX AL 5%

Borax5.00 g
 (Sodium tetraborate anhydrous ; SIGMA)
 Agua bidestilada estéril, apirógena csp100.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION DE METENAMINA ARGENTICA

- SOLUCION MADRE METENAMINA-NITRATO DE PLATA

Solución de metenamina al 3%.....100.00 ml
 Solución de nitrato de plata al 5%.....5.00 ml

- guardar en nevera un mes

- SOLUCION DE TRABAJO

Solución de metenamina-nitrato de plata25.00 ml
 Agua bidestilada estéril, apirógena25.00 ml
 (PALEX)
 Solución de borax al 5%.....2.00 ml

- solución extemporánea

SOLUCION ACUOSA DE CLORURO DE ORO AL 0.1%

- SOLUCION DE CLORURO DE ORO AL 1%

Cloruro de oro.....1.00 g
($\text{HAuCl}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$; SIGMA)

Agua bidestilada estéril, apirógena csp100.00 ml
(PALEX)

- SOLUCION DE TRABAJO

Solución de cloruro de oro al 1%10.00 ml

Agua bidestilada estéril, apirógena90.00 ml
(PALEX)

SOLUCION ACUOSA DE TIOSULFATO SODICO AL 2%

Tiosulfato sódico.....2.00 g
($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; MERCK)

Agua bidestilada estéril, apirógena csp100.00 ml
(PALEX)

SOLUCION ACUOSA DE VERDE CLARO

- SOLUCION MADRE AL 0.2%

Verde claro ,0.20 g
(Light green, SF yellowish ; MERCK)

Agua bidestilada estéril, apirógena100.00 ml
(PALEX)

Acido acético glacial0.20 ml
(CH_3COOH ; PROBUS)

- SOLUCION DE TRABAJO

Solución de verde claro al 0.2%10.00 ml

Agua bidestilada estéril, apirógena40.00 ml
(PALEX)

TINCIÓN ARGENTICA PARA FIBRAS DE RETICULINA

SOLUCION ACUOSA DE PERMANGANATO POTASICO AL 0.25%

Permanganato potásico0.25 g
($KMnO_4$; PANREAC)

Agua bidestilada estéril, apirógena csp100.00 ml
(PALEX)

SOLUCION ACUOSA DE ACIDO OXALICO AL 5%

Acido oxálico5.00 g
($C_2H_2O_4$; SIGMA)

Agua bidestilada estéril, apirógena csp100.00 ml
(PALEX)

SOLUCION AMONIACAL DE NITRATO DE PLATA

- SOLUCION ACUOSA DE NITRATO DE PLATA AL 10%

Nitrato de plata2.50 g
($AgNO_3$; SCHARLAU)

Agua bidestilada estéril, apirógena25.00 ml
(PALEX)

- SOLUCION AMONIACAL DE NITRATO DE PLATA

Amoniaco1.00 ml
(Amonium hidroxide, 28-30% ; PROBUS)

Solución de nitrato de plata al 10%25.00 ml

- agregar gota a gota, el amoniaco sobre la solución de nitrato de plata, hasta que se forma una ligera turbidez que no se disuelve al agitar

Agua bidestilada estéril, apirógena25.00 ml
(PALEX)

SOLUCION DE FORMALINA AL 1%

Formalina1.00 ml
 (Formaldehído 35-40% ; PROBUS)

Agua bidestilada estéril, apirógena100.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION ACUOSA DE CLORURO DE ORO AL 0.2%

- SOLUCION DE CLORURO DE ORO AL 1%

Cloruro de oro1.00 g
 ($\text{HAuCl}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$; SIGMA)

Agua bidestilada estéril, apirógena esp100.00 ml
 (PALEX)

- SOLUCION DE TRABAJO

Solución de cloruro de oro al 1%20.00 ml

Agua bidestilada estéril, apirógena90.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION ACUOSA DE TIOSULFATO SODICO AL 5%

Tiosulfato sódico5.00 g
 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; MERCK)

Agua bidestilada estéril, apirógena esp100.00 ml
 (PALEX)

SOLUCION DE KERNECHTROT

Sulfato de aluminio4.00
 ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$; SIGMA)

Rojo nuclear fuerte0.25 g
 (Nuclear fast red ; SIGMA)

Agua bidestilada estéril, apirógena100.00 ml
 (PALEX)

- disolver en agitacion a 60 °C
- dejar enfriar y filtrar
- añadir algunos cristales de timol

INMUNOLocalIZACION DE LAS FRACCIONES ANTIGENICAS

TAMPON TRIS SALINO (20 mM, 0.13 M, pH 7.6)

- TRIS SALINO 10x.

Trizma [®] base	24.22 g
(tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)	
Cloruro sódico	75.97 g
(ClNa ; PROBUS)	
Agua bidestilada esteril, apirógena	800.00 ml
(PALEX)	

- ajustar pH a 7.6 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 1000 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

- TRIS SALINO 20 mM, 0.13 M, pH 7.6

Tris salino 10x	200.00 ml
Agua bidestilada esteril, apirógena	1800.00 ml
(PALEX)	

- comprobar que el pH sea 7.6

TAMPON TRIS SALINO GELATINA 0.75%

Tris salino 10x	70.00 ml
Gelatina	5.25 g
(Gelatina en polvo ; MERCK)	
Agua bidestilada esteril, upirógena esp	700.00 ml
(PALEX)	

- disolver en agitación a 60 °C
- dejar enfriar
- comprobar que el pH sea 7.6

TAMPON TRIS 50 mM

Trizma[®] base1.21 g
(tris-hydroxymethyl-aminomethane ; SIGMA)

Agua bidestilada esteril, apirógena180.00 ml
(PALEX)

- ajustar pH a 7.6 con HCl (SCHARLAU)
- enrasar a 200 ml con H₂O
- comprobar pH y ajustar

SOLUCION DE H₂O₂ AL 3%

H₂O₂ 30%.....25.00 ml
(H₂O₂ ; MERCK)

Agua bidestilada esteril, apirógena225.00 ml
(PALEX)

- solución extemporanea

SOLUCION DE SAPONINA AL 0,05%

Saponina125.00 mg
(Saponin, from gypsophila ; SIGMA)

Agua bidestilada esteril, apirógena csp250.00 ml
(PALEX)

- solución extemporanea

SOLUCION DE BLOQUEO

Suero no inmune.....0.10 ml
(Normal goat serum ; VECTOR LABORATORIES)

Tris salino 20 mM, 0.13 M, pH 7.6.....0.90 ml

Seroalbúmina bovina0.05 g
(Albumin fraction V ; MERCK)

SOLUCION DAB-H₂O₂

DAB.....	0.06 g
(3,3'diaminobenzidine tetra- hydrochloride ; SIGMA)	
H ₂ O ₂ al 30%	0.20 µl
(H ₂ O ₂ ; MERCK)	
Tris 50 mM csp	100.00 ml

ESTRUCTURA E INMUNOLocalización DE LAS FRACCIONES ANTIGENICAS POR MICROSCOPIA ELECTRONICA

FIJACION DEL MATERIAL

TAMPON FOSFATO SALINO 0.1M, pH 7.3 (PBS 0.1M, pH 7.3)

- SOLUCION 1

Dihidrogenofosfato de sodio27.60 g
(NaH_2PO_4 ; MERCK)

Agua bidestilada estéril, apirógena .esp1000.00 ml
(PALEX)

- SOLUCION 2

Hidrogenofosfato de disodio anhidro28.39 g
(Na_2HPO_4 ; MERCK)

Agua bidestilada estéril, apirógena .esp1000.00 ml
(PALEX)

- TAMPON FOSFATO 0.1M, ClNa 0.15M

Solución A.....23.00 ml

Solución B.....77.00 ml

Cloruro sódico1.75 g
(ClNa ; PROBUS)

Agua bidestilada estéril, apirógena .esp200.00 ml
(PALEX)

- comprobar que el pH sea 7.3

**SOLUCION DE PARAFORMALDEHIDO AL 4%,
GLUTARALDEHIDO AL 0.3%**

- SOLUCION DE PARAFORMALDEHIDO AL 8%

Paraformaldehído8.00 g
(Paraformaldehyde ; SIGMA)

PBS 0.1M, pH 7.3.....100.00 ml

- calentar a 65 °C
- disolver en agitación

- SOLUCION DE GLUTARALDEHIDO AL 0.6%

Glutaraldehído0.60 g
(C₅H₈O₂)

PBS 0.1M, pH 7.3.....100.00 ml

**- SOLUCION DE PARAFORMALDEHIDO AL 4%,
GLUTARALDEHIDO AL 0.3%**

Solución de paraformaldehído al 8%.....50.00 ml

Solución de glutaraldehído al 0.6%.....50.00 ml

- conservar a 4 °C un máximo de 15 días

SOLUCION DE CLORURO DE AMONIO 50mM

Cloruro de amonio.....0.27 g
(NH₄Cl ; SIGMA)

Tampón PBS 0.01M, pH 7.3 esp.....100.00 ml

INMUNOLocalIZACION DE LAS FRACCIONES ANTIGENICAS

TAMPON PBS-GLICINA 0.1M

PBS 0.1M, pH 7.3.....	100.00 ml
Glicina	0.75 g
(H ₂ NCH ₂ COOH ; MERCK)	

TAMPON PBS OVOALBUMINA 1%

PBS 0.1M, pH 7.3.....	100.00 ml
Ovoalbúmina	1.00 g
(Chicken albumin, fraction V powder ; SIGMA)	

CONTRASTADO DE LAS PREPARACIONES

SOLUCION ACUOSA DE ACETATO DE URANILO AL 2%

Acetato de uranilo.....	0.10 g
Agua bidestilada estéril, apirógena	5.00 ml
(PALEX)	

SOLUCION DE REYNOLDS

Nitrato de plomo	1.33 g
(Pb(NO ₃) ₂ ; SIGMA)	
Citrato trisódico	1.76 g
(Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ x 2H ₂ O ; SCHARLAU)	
Agua bidestilada estéril, apirógena	30.00 ml
(PALEX)	

- agitar y antes de 30' añadir 8 ml de NaOH 1N
- enrasar a 50 ml con agua destilada





Servei de Biblioteques

Reg. 222512

Sig. _____

Ref. 12900

