

REVISIÓN

Teniasis/Cisticercosis: Avances en diagnóstico inmunológico y molecular

Elizabeth Ferrer*

La teniasis es la infección parasitaria producida por el adulto de *Taenia solium* y *T. saginata*, mientras que la cisticercosis es causada por el estadio larvario (cisticerco) de estos ténidos en hospedadores intermediarios; el hombre puede de forma accidental adquirir la cisticercosis. El binomio teniasis/cisticercosis causa graves problemas de salud pública y económicos en las zonas endémicas de África, Asia, y Latinoamérica, además de otras áreas como consecuencia de los viajes y las migraciones. La neurocisticercosis es la enfermedad parasitaria más importante del sistema nervioso central. El diagnóstico de la teniasis se logra generalmente mediante exámenes coprológicos, mientras que el diagnóstico de la cisticercosis se lleva a cabo por métodos parasitológicos, por técnicas de imágenes y una amplia variedad de ensayos inmunológicos. Los métodos de diagnóstico inmunológico convencional presentan graves limitaciones, baja sensibilidad y especificidad, no estandarizados convenientemente y basados en la utilización como antígeno del siempre escaso material parasitario. Actualmente se están utilizando nuevas herramientas y técnicas que permiten un mejor diagnóstico de estas enfermedades, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, antígenos recombinantes, péptidos sintéticos, PCR, cuya manipulación es de fácil estandarización e independientes de las fuentes del siempre preciado material parasitario.

Palabras claves: teniasis, cisticercosis, diagnóstico, antígeno recombinante, péptido sintético, PCR.

INTRODUCCIÓN

El binomio teniasis/cisticercosis es producido por parásitos del género *Taenia*. Así, la teniasis es causada por la fase adulta de *Taenia saginata* o *Taenia solium*, mientras que la cisticercosis es consecuencia de la infección por el estado larvario del parásito (cisticerco o metacestode). La teniasis solo afecta al humano ya que éste es el único hospedador definitivo del parásito, mientras que la cisticercosis ocurre en hospedadores intermediarios. El cisticerco de *T. saginata* (*Cisticercus bovis*) provoca la cisticercosis bovina y el cisticerco de *T. solium* (*Cisticercus cellulosae*) causa la cisticercosis porcina y humana, ya que el hombre también puede accidentalmente

convertirse en hospedador intermediario de *T. solium*. (White, 1997).

Estudios recientes revelan la presencia de otro ténido que afecta a humanos (Fan, 1988), el cual tiene como hospedadores intermediarios al cerdo y otros animales silvestres (Hoberg, 2002). Este ténido ha sido clasificado como una subespecie de *T. saginata* (*T. saginata asiatica*) por algunos autores (Fan *et al.*, 1995; Loos-Frank, 2000) y como otra especie (*T. asiatica*) por otros (de Queiroz & Alkire, 1998; Hoberg, 2002), por lo que su clasificación taxonómica todavía es incierta. Aún no se ha confirmado si este ténido produce cisticercosis en el humano, algunos investigadores han sugerido esta posibilidad (Galán-Puchades & Fuentes, 2000).

En el ciclo biológico se distinguen tres estadios: el adulto, el cisticerco y el huevo. Los huevos son eliminados en las heces del portador del adulto, contaminando aguas, suelos o alimentos, y son ingeridos por cerdos o vacas. En el sistema digestivo de estos animales se libera y activa la oncosfera, la cual penetra la pared intestinal, alcanza la circulación

Departamento de Parasitología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo Sede Aragua. Final de Avenida Leonardo Ruiz Pineda, La Morita II, Maracay, Edo. Aragua. Venezuela

Centro de Investigaciones Biomédicas (BIOMED) Universidad de Carabobo Sede Aragua. Final de Calle Cecilio Acosta, Urbanización Cantarrana, Las Delicias, Maracay, Edo. Aragua. Venezuela.

*Autor de correspondencia: elizabeth.ferrer@gmail.com

general y es transportada a diferentes tejidos y órganos, donde evoluciona a cisticerco. Cuando el hombre ingiere la carne de cerdo o vaca, contaminada con cisticercos viables, se desarrolla la teniasis. El hombre también puede de forma accidental adquirir la cisticercosis al ingerir los huevos de *T. solium* a través alimentos y aguas contaminadas. Estos huevos se desarrollan hasta la fase larvaria (cisticerco o metacestode) en diferentes tejidos, como músculo esquelético, tejido subcutáneo, ojo y sistema nervioso central (SNC), causando en este último caso la neurocisticercosis (NCC) (Del Brutto *et al.*, 1996).

La teniasis es generalmente asintomática, aunque los individuos pueden desarrollar algunos síntomas tales como dolor abdominal, debilidad, pérdida de peso, etc. La gravedad de la cisticercosis en el hombre depende de la localización y número de cisticercos. En músculo esquelético y tejido subcutáneo generalmente no se producen patologías importantes. La localización del cisticerco en ojo causa daño en la visión y puede conducir a la ceguera. La NCC produce una serie de manifestaciones clínicas como convulsiones, mareos, cefaleas, desórdenes mentales, hidrocefalia, hipertensión intracraneal, crisis epilépticas, etc, pudiendo ocasionar en algunos casos la muerte. La enfermedad se ha clasificado según la viabilidad de los cisticercos como activa (cisticercos viables) e inactiva (cisticercos calcificados) (Del Brutto *et al.*, 1996).

AVANCES EN DIAGNÓSTICO

DIAGNÓSTICO DE TENIASIS

Es importante tener en cuenta, que junto a la teniasis por *T. solium* el paciente puede padecer cisticercosis, consideración de relevancia a la hora del diagnóstico y seguimiento del individuo, así como de sus contactos. Además, hay que destacar que los enfermos con teniasis son el origen de la cisticercosis vacuna por una parte y de la porcina y humana por otra (Topley & Wilson, 1999).

Diagnóstico parasitológico

El diagnóstico Parasitologyógico se basa en el hallazgo y diferenciación de proglótides grávidas, el cual se puede hacer mediante tamizaje de heces, o por encuentro casual en las heces del paciente. Proglótides

con menos de 15 ramas uterinas corresponden a *T. solium*, mientras que las de *T. saginata* presentan más de 15. Hay que tener en cuenta que muchas veces las proglótides están en mal estado por lo que la identificación específica es muy difícil (Mayta *et al.*, 2000). Por otra parte, la observación microscópica de huevos, mediante exámen directo o método de Graham, sólo puede indicar teniasis, pero no sirve para determinar si la enfermedad está producida por *T. solium* o *T. saginata*, dado que morfológicamente los huevos son indistinguibles. Estos métodos Parasitologyógicos se caracterizan por exhibir baja sensibilidad (Allan *et al.*, 2003).

Diagnóstico inmunológico

El diagnóstico inmunológico se basa en la detección de antígenos del parásito o anticuerpos contra el parásito en el hospedador. En cuanto al primer caso, se han desarrollado técnicas de detección de coproantígenos utilizando para su captura anticuerpos policlonales de conejos inmunizados con extractos crudos del verme adulto. Esta técnica presenta 100% de sensibilidad y 94% de especificidad ya que permite detectar a los portadores de *Taenia* sp, pero no consigue distinguir entre *T. solium* y *T. saginata*. Cuando la determinación se realiza en tira reactiva (“dipsticks”), la sensibilidad disminuye al 85%, aunque con esta variante se puede analizar un mayor número de muestras y no se necesita de equipo costoso (Allan *et al.*, 1990, 1993). Este ensayo ha sido empleado en trabajos epidemiológicos y demostró ser una técnica muy sensible en la determinación de la prevalencia de teniasis (Allan *et al.*, 1996), además de su gran utilidad en la evaluación de la eficacia de tratamiento en masa de poblaciones de las áreas endémicas (Allan *et al.*, 1997). Otros grupos han desarrollado métodos de detección de coproantígenos similares donde los sueros policlonales de conejos están dirigidos contra antígenos de excreción/secreción o antígenos de superficie de *T. saginata* (Deplazes *et al.*, 1991; Machnicka *et al.*, 1996), pero presentan el mismo inconveniente que la técnica descrita por Allan *et al.*, (1990), de no permitir un diagnóstico especie-específico. También existen variantes diagnósticas que utilizan anticuerpos monoclonales para la identificación de huevos de *T. solium*, que empleados con la técnica de EITB (“Enzyme-Linked Immunelectrotransfer Blot Assay” o “Western blot”), rinden 100% de sensibilidad y especificidad (Montenegro *et al.*, 1996).

Por otro lado se han desarrollado diversas técnicas para la detección de anticuerpos en sueros de individuos con teniasis, la mayoría con pobre sensibilidad y especificidad. Sin embargo, en 1999, se estandarizó un ensayo de detección de anticuerpos mediante “EITB”, utilizando un antígeno de excreción/secreción de *T. solium*, con el que lograron obtener 95% de sensibilidad y 100% de especificidad en la identificación de portadores del ténido. Dicho ensayo logró detectar teniasis en Guatemala, Perú e Indonesia. (Wilkins *et al.*, 1999). Ultimamente, se han identificado por proteómica 2 antígenos de el adulto de *T. solium*, TSES33 y TSES38, que fueron reconocidos por sueros de teniasicos y no por aquellos de pacientes con cisticercosis, demostrando que son estadio-específicos (Levine *et al.*, 2004). A pesar de estos avances hay que tener en cuenta que la detección de anticuerpos en teniasis tiene como desventaja que después del tratamiento los anticuerpos permanecen y podrían rendir falsos positivos (Allan *et al.*, 2003).

Diagnóstico molecular

Para el diagnóstico diferencial de *T. solium* y *T. saginata* se han utilizado técnicas de biología molecular, tales como sondas de ADN y PCR (“Polymerase Chain Reaction” o reacción en cadena de la polimerasa). En 1990, Harrison *et al.*, clonaron 2 sondas de ADN, HDP1 y HDP2, en una genoteca genómica de *T. saginata*, que permitieron la identificación diferencial por hibridación de los dos grandes ténidos del hombre. Igualmente, en 1995, Chapman *et al.*, clonaron de genotecas genómicas de *T. solium* y *T. saginata* dos sondas, pTsol-9 y pTsag-16, específicas de *T. solium* y *T. saginata* respectivamente y que logran distinguir los dos ténidos. La primera PCR en *Taenia* fue desarrollada por Gottstein *et al.* (1991) y lograba la identificación de *T. saginata*. Posteriormente otros grupos desarrollan PCRs que diferencian *T. saginata* de *T. saginata asiatica* (Zarlenga *et al.*, 1991; Bowles & McManus, 1994). A partir de la secuencia de la sonda HDP2 (Harrison *et al.*, 1990), se ha diseñado una “multiplex PCR” que posibilita un diagnóstico diferencial de *T. solium* y *T. saginata*. (González *et al.*, 2000, 2002a; Montero *et al.*, 2003a). Esta PCR ha sido utilizada para la identificación de aislados de los ténidos procedentes de distintas zonas geográficas (González *et al.*, 2002b). Paralelamente, Mayta *et al.*, (2000) realizaron la detección diferencial de *T. solium* y *T. saginata* mediante una PCR-RFLP

(“PCR-restriction fragment length polymorphism”, polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción), basada en la amplificación del gen 5.8S ribosomal además de los espaciadores intergénicos ITS1 e ITS2 y posterior digestión con enzimas de restricción. Recientemente se ha desarrollado una PCR-RFLP que amplifica la secuencia 12S ribosomal del ADN mitocondrial, seguido por digestión con la enzima DdeI, que permite diferenciar *T. solium* de *T. saginata* (Rodríguez-Hidalgo *et al.*, 2002). También se han realizado estudios filogenéticos utilizando distintas técnicas, que además de identificar los ténidos han demostrado, en base a análisis de los genes mitocondriales, que *T. solium* forma dos grupos filogenéticos o genotipos, uno constituido por los aislados americanos y africanos y otro por los asiáticos (Gasser *et al.*, 1999; Hancock *et al.*, 2001; Nakao *et al.*, 2002; Yamasaki *et al.*, 2002; Ito *et al.*, 2003). Utilizando la PCR basada en la amplificación de la secuencia HDP2 en Brasil se logró la diferenciación de *T. solium* y *T. saginata* (Nunes *et al.*, 2003). Posteriormente, se han desarrollado “multiplex” PCRs que permiten diferenciar *T. saginata* de *T. saginata asiática* (González *et al.*, 2004) y *T. saginata*, *T. saginata asiática* y los 2 genotipos de *T. solium* (Yamasaki *et al.*, 2004). Recientemente, Nunes *et al.* (2005) han desarrollado una PCR-RFLP que amplifica la secuencia HDP2, seguido por digestión con la enzima DraI, que permite diferenciar *T. solium* de *T. saginata*.

Todos estos trabajos demuestran que las técnicas de biología molecular, en especial la PCR son un gran avance en el diagnóstico especie-específico de teniasis.

DIAGNÓSTICO DE CISTICERCOSIS

El diagnóstico de cisticercosis se lleva a cabo por métodos parasitológico, por técnicas de imágenes y una amplia variedad de ensayos inmunológicos.

Diagnóstico parasitológico

El diagnóstico parasitológico requiere la demostración del parásito, y en este caso se realiza generalmente en autopsias (post-mortem) y pocas veces en biopsias del paciente (Restrepo *et al.*, 2001; Schantz *et al.*, 1992). En formas extracerebrales, los

cisticercos pueden localizarse en el globo ocular donde son visualizados mediante examen oftalmológico, en los músculos esqueléticos o tejido subcutáneo, en los que se les puede identificar por palpación y biopsia, aunque éstos deben diferenciarse de nódulos producidos en otras enfermedades.

Diagnóstico por imágenes

Las técnicas de neuroimágenes, tales como Tomografía Axial Computarizada (TAC) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN), son útiles para el diagnóstico, porque proveen evidencia objetiva del número y topografía de las lesiones, su estado de evolución y el grado de reacción inflamatoria del hospedador contra el parásito (García & Del Brutto, 2003), pero la infección puede pasar desapercibida cuando el número de cisticercos es bajo o las imágenes no son concluyentes. Es imprescindible un diagnóstico diferencial con otras enfermedades infecciosas y con neoplasias del SNC. Por otro lado, estas técnicas aunque son de amplio uso en las zonas urbanas, son muy costosas y de difícil acceso en la mayoría de las áreas donde la cisticercosis es endémica (Del Brutto *et al.*, 1996).

Diagnóstico inmunológico

Las técnicas de inmunodiagnóstico incluyen la detección de antígenos circulantes del parásito y de anticuerpos anti-cisticerco tanto en suero como en líquido céfalo-raquídeo (LCR) y resultan de gran utilidad para la identificación de cisticercosis (Del Brutto *et al.*, 1996).

Se han desarrollado varios ensayos para la detección de antígenos circulantes tanto en suero como en LCR pero los mejores son los basados en el uso de anticuerpos monoclonales. En 1989, Harrison *et al.*, diseñaron un sistema de inmunodiagnóstico por captura de antígeno utilizando un anticuerpo monoclonal (HP10), que reconoce un epítipo glucídico repetido, presente en proteínas secretadas por los cisticercos de *T. saginata* y otros ténidos. La prueba ha sido utilizada tanto en suero como en LCR con buenos resultados (Correa *et al.*, 1989; García *et al.*, 1998, 2002; Ferrer *et al.*, 2002, 2003a). Se ha encontrado una sensibilidad del 85%, sin embargo este parámetro descende al 65% en pacientes con un solo quiste (García *et al.*, 2000). En 1992, Wang

et al., produjeron un anticuerpo monoclonal contra antígenos de cisticerco de *T. solium* que también lo utilizaron en un sistema de captura para la detección de antígeno circulante en LCR de pacientes con NCC. En el mismo año Brandt *et al.*, desarrollan un método de captura de antígenos con dos anticuerpos monoclonales 12G5 y 2H8, este ensayo mostró buena correlación con TAC y biopsias (Erhart *et al.*, 2002), permitiendo hacer el diagnóstico de cisticercosis activa y la evaluación del tratamiento (Nguekam *et al.*, 2003). Además se han estandarizado sistemas de captura de antígenos basados en el uso de anticuerpos policlonales de conejo, rindiendo buena sensibilidad y especificidad (Pardini *et al.*, 2001, Wagner, 2001). En cuanto a la detección de anticuerpos contra el parásito se han desarrollado varios ensayos en suero, saliva y LCR, empleando diferentes técnicas. Es importante tener en cuenta que la detección de anticuerpos indica exposición a la infección y no necesariamente una infección activa, ya que los anticuerpos pueden persistir por mucho tiempo después que el parásito ha sido eliminado, bien por el sistema inmune o por tratamiento (Harrison *et al.*, 1989; García *et al.*, 2001). En zonas endémicas, más del 10% de la población puede tener anticuerpos anti-*T. solium* y no reflejar la verdadera prevalencia de la cisticercosis (Bern *et al.*, 1999; García *et al.*, 2001). Durante años, la mayoría de los ensayos para la detección de anticuerpos han utilizado como antígeno extractos crudos o fluido vesicular del parásito (Diwan *et al.*, 1982; Larralde *et al.*, 1986), pero estas pruebas carecen de la adecuada sensibilidad y especificidad debido a la gran reactividad cruzada con otras parasitosis, tales como hidatidosis, esquistosomiasis, himenolepiasis, y otras helmintiasis (Gottstein *et al.*, 1987; Pammenter *et al.*, 1992).

Debido a la dificultad en la obtención de material parasitario específico se ha recurrido al empleo de antígenos heterólogos. Así, se ha utilizado en el diagnóstico de cisticercosis humana, antígenos de *T. saginata* (Harrison & Parkhouse, 1989), *T. crassiceps* (Larralde *et al.*, 1990; Vaz *et al.*, 1997; Pardini *et al.*, 2002; Espíndola *et al.*, 2002, 2005) y *T. hydatigena* (Hayunga *et al.*, 1991), que pueden sustituir a los de *T. solium* en la detección serológica de cisticercosis.

En las últimas décadas se han realizado esfuerzos para caracterizar antígenos que puedan mejorar la especificidad de los ensayos y utilizar estos

antígenos purificados en el inmunodiagnóstico de la enfermedad.

Uno de los antígenos mejor caracterizados del cisticerco de *T. solium* es el antígeno B (AgB). AgB fue identificado como un arco de precipitación en inmunoelectroforesis al confrontar un extracto de cisticercos con sueros de pacientes con neurocisticercosis y fue el antígeno reconocido con mayor frecuencia por anticuerpos de los sueros de pacientes con la enfermedad (Flisser *et al.*, 1980, 1986). Estudios moleculares demostraron que AgB corresponde a paramiosina, una proteína de músculo del ténido (Laclette *et al.*, 1991 Landa *et al.*, 1993). Las glicoproteínas han sido señaladas como antígenos específicos en cisticercosis, al respecto Tsang *et al.* (1989) lograron purificar por cromatografía de afinidad con lectina de lenteja, siete glicoproteínas (GP13, GP14, GP18, GP21, GP24, GP39-42, GP50) de metacestodos de *T. solium*, que exhibían un 98% de sensibilidad y 100% de especificidad en el diagnóstico de cisticercosis, empleándolas en la técnica de EITB. Dicho ensayo fue reconocido por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) como el método inmunológico de elección para el inmunodiagnóstico de neurocisticercosis (Greene *et al.*, 2000).

La caracterización bioquímica completa de estas glicoproteínas no se ha realizado. Plancarte *et al.* (1999) estudiaron parcialmente dos de ellas, GP39-42 y GP24, por ser las más frecuentemente reconocidas y también una banda de 10 kDa (GP10), que se forma cuando estas glicoproteínas son reducidas.

Se han realizado varios estudios para evaluar las propiedades diagnósticas de estas glicoproteínas. Así, un trabajo reciente demuestra mayor sensibilidad del EITB que del ELISA con antígeno crudo (Proaño-Narvaez *et al.*, 2002), aunque se encontró que la sensibilidad del EITB es muy baja (28%) cuando se evaluaron casos de neurocisticercosis con un solo quiste en el cerebro (Wilson *et al.*, 1991). En otro estudio se compararon los ensayos de EITB comercial con "Western blot", utilizando glicoproteínas obtenidas por cromatografía de afinidad y fluido vesicular, y se encontraron resultados similares con los tres ensayos, por lo que se sugiere la utilización del fluido vesicular en "Western blot" como herramienta diagnóstica en países en vías de desarrollo, donde el ensayo de EITB comercial y la purificación de glicoproteínas resultan más costosos (Villota *et al.*, 2003).

Además, otro grupo ha desarrollado un método de purificación de glicoproteínas por iso-electroenfoque en un solo paso, extracto aplicable en ELISA y "Western blot" que presenta la misma sensibilidad y especificidad que el EITB clásico y que se ha utilizado con buenos resultados en el diagnóstico de cisticercosis (Ito *et al.*, 1998).

Los antígenos de excreción/secreción (E/S) de cisticercos de *T. solium* también han sido evaluados en el diagnóstico de la enfermedad, obteniendo buenos resultados. En este sentido, en un estudio en 1994, Ng & Ko compararon los antígenos E/S con extracto crudo, antígeno de membrana y fluido vesicular mediante ELISA y FAST-ELISA y, de los cuatro antígenos evaluados, el antígeno E/S fue el más sensible y específico. Posteriormente se ha descrito que antígenos de E/S de 14 y 18 kDa son reconocidos por sueros de pacientes con cisticercosis, y un anticuerpo monoclonal anti-E/S es capaz de detectar estos antígenos en LCR de pacientes con cisticercosis (Espíndola *et al.*, 2002). A su vez se debe destacar que los antígenos E/S han mostrado tener la capacidad de discriminar entre cisticercosis activa e inactiva (Molinari *et al.*, 2002).

Los antígenos de bajo peso molecular de cisticercos de *T. solium* (8-30 kDa) han sido muy estudiados debido a su alta especificidad. Nascimiento *et al.* (1987) purificaron dichos antígenos de cisticercos de *T. solium* por cromatografía de afinidad, utilizando anticuerpos monoclonales contra proteínas de esta fase parasitaria, y emplearon estos productos purificados en el diseño de un sistema de inmunodiagnóstico de cisticercosis mediante ELISA. De igual manera, estudios de "Western blot" con extractos de metacestodos de *T. solium* revelaron el reconocimiento mayoritario de dos bandas de 8 y 26 kDa, cuando se utilizaban suero y LCR de pacientes con neurocisticercosis (Gottstein *et al.*, 1987). Ev *et al.* (1999) analizaron 3 antígenos de pesos moleculares de 13, 17 y 26 kDa, encontrando especificidades de 53%, 88% y 100%, respectivamente. Además, diversos trabajos demuestran la importancia de un antígeno de 10 kDa que ha sido identificado en el fluido quístico de las diferentes especies de *Taenia* y ha resultado útil en el diagnóstico de cisticercosis. La detección de este antígeno es bastante patente en los casos de cisticercosis activa (Hayunga *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 1998; Park *et al.*, 2000).

DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO-MOLECULAR

Antígenos recombinantes

Aunque se han realizado múltiples estudios sobre antígenos específicos para el diagnóstico de la enfermedad, la purificación de éstos requiere gran cantidad de material parasitario, además de equipos sofisticados y técnicas laboriosas, por lo que se ha recurrido a la tecnología del ADN recombinante para la clonación de las moléculas de interés diagnóstico. La utilización de los antígenos recombinantes, o péptidos derivados de sus secuencias, obtenidos a partir de genes de *T. solium* y otras tenias podría solventar las limitaciones actuales, del diagnóstico serológico de la enfermedad (Greene *et al.*, 2000).

Así, la clonación y expresión de la paramiosina, y fragmentos truncados de ésta, ha permitido estudiar el valor diagnóstico de la misma y hacia cual región de la proteína se dirige la respuesta inmune del hospedador. Varios estudios demuestran que los anticuerpos reaccionan principalmente con el extremo carboxilo-terminal de la molécula (Vazquez-Talavera *et al.*, 2001; Ferrer *et al.*, 2003b).

Chung *et al.*, en 1999 caracterizaron en una genoteca de expresión de metacestodes de *T. solium*, un gen que expresa un antígeno de 10 kDa (CyDA). El antígeno recombinante mostró una sensibilidad del 97% y especificidad del 98% en el inmunodiagnóstico de la neurocisticercosis activa, mientras que en pacientes crónicos la sensibilidad descendió al 14%. Otros autores (Hubert *et al.*, 1999) aislaron dos clones, NC-3 y NC-9, de una genoteca de expresión de metacestodes de *T. solium* mediante cribado con mezcla de sueros de pacientes con cisticercosis. NC-3 y NC9 codifican proteínas de 8 y 13 kDa respectivamente. Estas proteínas expresadas las utilizaron en ELISA para el diagnóstico de pacientes con cisticercosis, NC-3 presentó una sensibilidad de 96,3% y 91,5% de especificidad, mientras que NC-9 exhibió una sensibilidad de sólo 33,3%. Posteriormente, Greene *et al.* (2000) clonaron, en una genoteca de expresión de metacestodes de *T. solium*, dos genes que expresan las glicoproteínas de 14 kDa (TS14) y 18 kDa (TS18), descritas anteriormente por Tsang *et al.* (1989). Al hacer la evaluación serológica de dichos antígenos, observaron que eran reconocidos por sueros de los pacientes con cisticercosis y no por los de los pacientes con parasitosis relacionadas. En otro trabajo, Sako *et al.* (2000) aislaron de una

genoteca de expresión de metacestodes de *T. solium*, mediante inmunocribado, cuatro genes muy similares entre sí, Ag1, Ag1V1, Ag2 y Ag2V1. Dichos genes, expresaban moléculas de bajo peso molecular, entre 7 y 10 kDa y tras su evaluación serológica encontraron que los antígenos más reactivos eran Ag1V1 y Ag2 y construyeron una quimera de estas 2 moléculas que fue utilizada en ensayos de ELISA, apreciando una sensibilidad del 89,7% y una especificidad del 100%. Recientemente, en otro trabajo, se ha clonado un gen de metacestodes de *T. solium*, F18, cuyo producto expresado ha mostrado gran utilidad en el diagnóstico de la enfermedad (Montero *et al.*, 2003b). En el 2004 se clonó el gen correspondiente a la glicoproteína de 50 kDa (descrita por Tsang en 1989) en el sistema Baculovirus. La proteína expresada mostró eficacia en el diagnóstico de cisticercosis (Hanckok *et al.*, 2004). Recientemente se ha clonado un gen de choque térmico de bajo peso molecular, cuyo antígeno recombinante expresado mostró 83,9% de sensibilidad en el diagnóstico de NCC activa y 71% en NCC inactiva, dicho antígeno exhibió una especificidad de 88,5% (Ferrer *et al.*, 2005a).

Péptidos sintéticos

La utilización de péptidos sintéticos derivados de antígenos previamente caracterizados evitaría la necesidad de purificación de los antígenos recombinantes y podría asegurar la reproducibilidad de los ensayos. Por ello, últimamente se han realizado diversos trabajos en este sentido. Gevorkian *et al.* (1996) describen la utilización de tres péptidos sintéticos, GK1, GK2 y GK3, derivados de la secuencia del clon KETc7, gen obtenido del cribado de una genoteca de expresión de metacestodes de *T. crassiceps* (Manoutcharian *et al.*, 1996); dichos péptidos fueron evaluados con sueros de pacientes con cisticercosis, y aunque la sensibilidad no fue muy alta, si se apreció cierta respuesta humoral frente a los péptidos. Posteriormente se reportó la utilización de otros péptidos sintéticos (KETc1, KETc12, KETc410 y KETc413) diseñados a partir de las secuencias de ADNc de los clones KETc1, KETc4 y KETc12 aislados también en el cribado de la genoteca mencionada anteriormente (Manoutcharian *et al.*, 1996) y se propuso un sistema de diagnóstico basado en la utilización combinada de los péptidos citados (Hernández *et al.*, 2000). En un estudio sobre glicoproteínas de metacestodes de *T. solium* se prepararon péptidos sintéticos con la secuencia

aminoacídica completa de las glicoproteínas TS14 (sTS14) y TS18 (sTS18) y se evaluaron en el diagnóstico de cisticercosis, mediante FAST-ELISA, siendo sTS14 reconocido por el 53% de los sueros de pacientes con cisticercosis, mientras que la sensibilidad de sTS18 fue mucho menor; la especificidad de ambos péptidos fue del 100%. Paralelamente, los autores realizaron la mezcla de sTS14 y sTS18 pero no mejoraron los resultados obtenidos (Greene *et al.*, 2000). En otro trabajo con esta familia de moléculas, ahora llamada “antígenos de 8 kDa de metacestodes de *T. solium*” (debido al tamaño del esqueleto peptídico de las distintas glicoproteínas) se sintetizaron químicamente nueve péptidos distintos y se utilizaron en ELISA en el inmunodiagnóstico de la enfermedad. Uno de estos péptidos (TsRS1) ha mostrado 100% de sensibilidad y especificidad cuando fue sometido a una batería de sueros de pacientes con la enfermedad, enfermedades heterólogas e individuos sanos (Hancock *et al.*, 2003). En otro trabajo el mismo grupo de investigadores compararon los péptidos sintéticos TS14, TS18var1, TSRS1, y TSRS2var1 por ELISA y “Western blot” obteniendo mejor sensibilidad y especificidad de estos péptidos con el formato de “Western blot” (Scheel *et al.*, 2005). En otro estudio se evaluaron por ELISA cinco péptidos sintéticos derivados de moléculas protectoras de oncosferas de *T. saginata* (HP6-3, Ts45W-1, Ts45W-5, Ts45S-10, TEG-1) con LCR de individuos con cisticercosis obteniendo buena sensibilidad y especificidad (Fleury *et al.*, 2003). Posteriormente estos mismos péptidos fueron estudiados con sueros de individuos con cisticercosis de diferentes zonas geográficas de Venezuela obteniendo con la mayoría de ellos buena sensibilidad y especificidad, pero apreciándose un reconocimiento diferencial de algunos péptidos en las distintas zonas, por lo que se sugiere el uso de un cóctel de péptidos (Ferrer *et al.*, 2005b).

Por los diferentes trabajos descritos se puede inferir que el uso de antígenos recombinantes y péptidos sintéticos en el inmunodiagnóstico de cisticercosis podría mejorar la especificidad de los ensayos.

CONCLUSIONES

El binomio teniasis/cisticercosis continúa siendo un problema de salud pública. Las mejoras en el diagnóstico han contribuido a conocer mejor

la magnitud del problema. La utilización de técnicas de PCR en el diagnóstico de teniasis ha mejorado la detección especie-específica de los portadores de *Taenia* sp. El inmunodiagnóstico de cisticercosis basado en antígenos recombinantes y péptidos sintéticos ha mostrado resultados prometedores, mejorando la especificidad de las técnicas, sin embargo, hacen falta mas estudios para la completa evaluación de estas nuevas herramientas y su aplicación en el diagnóstico de la enfermedad.

Taeniasis/cysticercosis: Advances in immunological and molecular diagnosis.

SUMMARY

Taeniasis is a parasitic infection caused by the adult of *Taenia solium* and *T. saginata*, while cysticercosis is caused by the larval stage (*Cysticercus*) of these parasites in intermediary hosts; humans can accidentally acquire cysticercosis. Taeniasis/cysticercosis causes serious public health and economic problems in endemic areas of Africa, Asia, and Latin America, in addition to other areas as a result of the travel and migration. Neurocysticercosis is the most important parasitic disease of the central nervous system. Taeniasis diagnosis is obtained generally by stool exams, whereas cysticercosis diagnosis is carried out by parasitological methods, imaging techniques and several immunological tests. Conventional methods of diagnosis have serious limitations, such as poor sensitivity and low specificity, are not standardized properly and are based on the parasitic material which is difficult to obtain. At present new technical tools are being used that allow a better diagnosis of these diseases, for example, monoclonal antibodies, recombinant antigens, synthetic peptides, PCR, whose manipulation is easily standardized and independent of the sources of the always valuable parasitic material.

Key words: taeniasis, cysticercosis, diagnosis, recombinant antigen, synthetic peptide, PCR.

REFERENCIAS

- Allan J.C., Ávila G., García-Noval J., Flisser A. & Craig P.S. (1990). Immunodiagnosis of Taeniasis by coproantigen detection. *Parasitology*. **101**: 473-477.

- Allan J.C., Mencos F., García-Noval J., Flisser A., Wang Y., Liu D. *et al.*, (1993). Dipstick dot ELISA for the detection of *Taenia* coproantigens in humans. *Parasitology*, **107**: 79-85.
- Allan J.C., Velasquez-Tohom M., García-Noval J., Torres-Alvarez R., Yurrita P., Fletes C. *et al.*, (1996). Epidemiology of intestinal *Teniasis* in four, rural, Guatemalan communities. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **90**: 157-165.
- Allan J.C., Velasquez-Tohom M., Fletes C., Torres-Alvarez R., Lopez-Virula G., Yurrita P. *et al.*, (1997). Mass chemotherapy for intestinal *Taenia solium* infection: effect on prevalence in humans and pigs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **91**: 595-598.
- Allan J.C., Wilkins P., Tsang V. & raig P.S. (2003). Immunodiagnostic tools for *Teniasis*. *Acta Trop.* **87**: 87-93.
- Bern C., García H.H., Evans C., González A.E., Verastegui M., Tsang, V.C. *et al.*, (1999). Magnitude of the disease burden from neurocysticercosis in a developing country. *Clin. Infect. Dis.* **29**: 1203-1209.
- Bowles J.R. & McManus D.P. (1994). Genetic characterization of the Asian *Taenia*, a newly described taeniid cestode of humans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **50**: 33-44.
- Brandt J.R., Geerts S., De Deken R., Kumar V., Ceulemans F., Brijs L. *et al.*, (1992). A monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating excretory-secretory antigens in *Taenia saginata* cysticercosis. *Int. J. Parasitol.* **22**: 471-477.
- Chapman A. Vallejo V., Mossie K.G., Ortiz D., Agabian N. & Flisser A. (1995). Isolation and characterization of species-specific DNA probes from *Taenia solium* and *Taenia saginata* and their use in an egg detection assay. *J. Clin. Microbiol.* **33**: 1283-1288.
- Chung J.Y., Bahk Y.Y., Huh S., Kang S.Y. & Kong Y., Cho S.Y. (1999). A recombinant 10 kDa protein of *Taenia solium* metacestodes specific to active neurocysticercosis. *J. Infect. Dis.* **180**: 1307-1315.
- Correa D., Sandoval M.A., Harrison L.J., Parkhouse R.M., Plancarte A., Meza-Lucas A. *et al.*, (1989). Human neurocysticercosis: comparison of enzyme immunoassay capture techniques based on monoclonal and polyclonal antibodies for the detection of parasite products in cerebrospinal fluid. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **83**: 814-816.
- Del Brutto O.H., Wadia N.H., Dumas M., Cruz M., Tsang V.C. & Schantz P.M. (1996). Proposal of diagnostic criteria for human neurocysticercosis. *J. Neurol. Sci.* **42**: 1-6.
- Deplazes P., Eckert J., Pawlowski Z.S., Machowska L. & Gottstein B. (1991). An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnostic detection of *Taenia saginata* copro-antigens in humans. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **85**: 391-396.
- de Queiroz A. & Alkire N.L. (1998). The phylogenetic placement of *Taenia* cestodes that parasitize humans. *J. Parasitol.* **84**: 379-383.
- Diwan A.R., Coker-Vann M., Brown P., Subianto D.B., Yolken R. *et al.*, (1982). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to cysticerci of *Taenia solium*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **20**: 775-779.
- Erhart A., Dorny P., Van De N., Vien H.V., Thach D.C., Toan N.D. *et al.*, (2002). *Taenia solium* cysticercosis in a village in northern Viet Nam: seroprevalence study using an ELISA for detecting circulating antigen. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **96**: 270-272.
- Espíndola N.M., Vaz A.J., Pardini A.X. & Fernández I. (2002). Excretory/secretory antigens (ES) from in-vitro cultures of *Taenia crassiceps* cysticerci, and use of an anti-ES monoclonal antibody for antigen detection in samples of cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **96**: 361-368.
- Espíndola N.M., Iha A., Fernandes I., Takayanagui O., Machado L., Livramento J. *et al.*, (2005). Cysticercosis immunodiagnosis using 18- and 14-kilodalton proteins from *Taenia crassiceps* cysticercus antigens obtained by immunoaffinity chromatography. *J. Clin. Microbiol.* **43**: 3178-3184.

- Ev L.V., Maia A. A., Pianetti G. & Nascimento E. (1999). Immunological evaluation of a 26-kDa antigen from *Taenia solium* larvae for specific immunodiagnosis of human neurocysticercosis. *Parasitol. Res.* **85**: 98-102.
- Fan, P.C. (1988). Taiwan *Taenia* and *Taeniasis*. *Parasitol. Today*. **4**: 86-88.
- Fan P.C., Lin C.Y., Chen C.C. & Chung W.C. (1995). Morphological description of *Taenia saginata asiatica* (Cyclophyllidae: Taeniidae) from man in Asia. *J. Helminthol.* **69**: 299-303.
- Ferrer E., Cortéz M. M., Pérez H., De La Rosa M., De Noya A B., Dávila I. *et al.*, (2002) Serological evidence for recent exposure to *Taenia solium* in Venezuelan Amerindians. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66**: 170-174.
- Ferrer E., Cabrera Z., Rojas G., Lares M., Vera A., Alarcón de Noya B. *et al.*, (2003a) Evidence for high seroprevalence of *Taenia solium* cysticercosis in individuals from three rural communities in Venezuela. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **97**: 522-526.
- Ferrer E., Moyano E., Benítez L., González L.M., Bryce D., Foster-Cuevas M. *et al.*, (2003b) cloning and characterization of *Taenia saginata* paramyosin cDNA. *Parasitol. Res.* **91**: 60-67.
- Ferrer E., González L.M., Foster-Cuevas M., Cortéz M.M., Dávila I., Rodríguez M. *et al.*, (2005a) *Taenia solium*: characterization of a small heat shock protein (Tsol-sHSP35.6) and its possible relevance to the diagnosis and pathogenesis of neurocysticercosis. *Exp. Parasitol.* **110**: 1-11.
- Ferrer E., Cortéz M.M., Cabrera Z., Rojas G., Dávila I., Alarcón de Noya B. *et al.*, (2005b) Oncospheral peptide-based ELISAs as potential seroepidemiological tools for *Taenia solium* cysticercosis/neurocysticercosis in Venezuela. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **99**: 568-576.
- Fleury A., Beltran C., Ferrer E., Gárate T., Harrison L.J., Parkhouse R.M.E. *et al.*, (2003). Application of synthetic peptides to the diagnosis of neurocysticercosis. *Trop. Med. Int. Health.* **8**: 1124-1130.
- Flisser A., Woodhouse E. & Larralde C. (1980). Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders. *Clin. Exp. Immunol.* **39**: 27-37.
- Flisser A., Espinoza B., Tovar A., Plancarte A. & Correa D. (1986). Host-parasite relationship in cysticercosis: immunologic study in different compartments of the host. *Vet. Parasitol.* **20**: 95-102.
- Galán-Puchades M.T. & Fuentes M.V. (2000). Human cysticercosis and larval tropism of *Taenia asiatica*. *Parasitol. Today*. **16**: 174.
- García H. H., Harrison L. J., Parkhouse R. M., Montenegro T., Martínez S. M., Tsang V. C. *et al.*, (1998) A specific antigen-detection ELISA for the diagnosis of human neurocysticercosis. The cysticercosis working group in Peru. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **92**: 411-414.
- García H.H., Parkhouse R.M., Gilman R.H., Montenegro T., Bernal T., Martinez S.M. *et al.*, (2000). Serum antigen detection in the diagnosis, treatment, and follow-up of neurocysticercosis patients. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **94**: 673-676.
- García H.H., González A.E., Gilman R.H., Palacios L.G., Jimenez I., Rodríguez S. *et al.*, (2001). Short report: transient antibody response in *Taenia solium* infection in field conditions-a major contributor to high seroprevalence. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **65**: 31-32.
- García H.H., González A.E., Gilman R.H., Bernal T., Rodríguez S., Pretell E.J. *et al.*, (2002). Circulating parasite antigen in patients with hydrocephalus secondary to neurocysticercosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66**: 427-430.
- García H. & Del Bruto O. (2003). Imaging findings in neurocysticercosis. *Acta Trop.* **87**: 71-78.
- Gasser R.B., Zhu X. & Woods W. (1999) Genotyping *Taenia* tapeworms by single-strand conformation polymorphism of mitochondrial DNA. *Electrophoresis*, **20**: 2834-2837.
- Gevorkian G., Manoutcharian K., Larralde C., Hernandez M., Almagro J.C., Viveros M. *et al.*,

- (1996). Immunodominant synthetic peptides of *Taenia crassiceps* in murine and human cysticercosis. *Immunol. Lett.* **49**: 185-189.
- González L.M., Montero E., Harrison L.J.S., Parkhouse R.M.E. & Gárate T. (2000). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* infection by PCR. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 737-744.
- González L. M., Montero E., Sciutto E., Harrison L. J. S., Parkhouse R. M. E. & Gárate T. (2002a). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* infections: from DNA probes to polymerase chain reaction. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **96**: S243-250.
- González L. M., Montero E., Puente S., Lopez-Velez R., Hernández M., Sciutto E. *et al.*, (2002b). PCR tools for the differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* Taeniasis/cysticercosis from different geographical locations. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **42**: 243-249.
- González L. M., Montero E., Morakote N., Puente S., Diaz De Tuesta J., Serra T. *et al.*, (2004). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia saginata asiatica* Taeniasis through PCR. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **49**: 183-188.
- Gottstein B., Zini D. & Schantz P. M. (1987). Species-specific immunodiagnosis of *Taenia solium* cysticercosis by ELISA and immunoblotting. *Trop. Med. Parasitol.* **38**: 299-303.
- Gottstein B., Deplazes P., Tanner I. & Skaggs J. (1991). Diagnostic identification of *Taenia saginata* with the polymerase chain reaction. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **85**: 248-249.
- Greene R. M., Hancock K., Wilkins P. P. & Tsang V. C. (2000) *Taenia solium*: molecular cloning and serologic evaluation of 14 and 18 kDa related, diagnostic antigens. *J. Parasitol.* **86**: 1001-1007.
- Hancock K., Broughel D. E., Moura I. N., Khan A., Pieniazek N. J., Gonzalez A. E. *et al.*, (2001). Sequence variation in the cytochrome oxidase I, internal transcribed spacer 1, and Ts14 diagnostic antigen sequences of *Taenia solium* isolates from South and Central America, India, and Asia. *Int. J. Parasitol.* **31**: 1601-1617.
- Hancock K., Khan A., Williams F. B., Yushak M. L., Patabhi S., Noh J. *et al.*, (2003). Characterization of the 8-Kilodalton Antigens of *Taenia solium* Metacestodes and Evaluation of Their Use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Serodiagnosis. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 2577-2586.
- Hancock K., Patabhi S., Greene R. M., Yushak M., Williams F. B., Khan A. *et al.*, (2004). Characterization and cloning of GP50, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis. *Mol. Biochem. Parasitol.* **133**: 115-124.
- Harrison L. J. S & Parkhouse R. M. E. (1989) *Taenia saginata* and *Taenia solium*: reciprocal models. *Acta Leiden.* **57**: 143-152.
- Harrison L. J. S., Joshua G. W., Wright S. H. & Parkhouse R. M. E. (1989). Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *Taenia saginata* cysticercosis. *Parasite Immunol.* **11**: 351-370.
- Harrison L. J. S., Delgado J. & Parkhouse R. M. E. (1990). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* with DNA probes. *Parasitology.* **100**: 459-461.
- Hayunga E. G., Sumner M. P., Rhoads M. L., Murrell K. D. & Isenstein R. S. (1991). Development of a serologic assay for cysticercosis, using an antigen isolated from *Taenia* spp cyst fluid. *Am. J. Vet. Res.* **52**: 462-470.
- Hernández M., Beltran C., García E., Fragoso G., Gevorkian G., Fleury A. *et al.*, (2000) Cysticercosis: towards the design of a diagnostic kit based on synthetic peptides. *Immunol. Lett.* **71**: 13-17.
- Hoberg E. P. (2002). *Taenia* tapeworms: their biology, evolution and socioeconomic significance. *Microbes Infect.* **4**: 859-866.
- Hubert K., Andriantsimahavandy A., Michault A., Frosch M. & Mühlischlegel F. (1999). Serological diagnosis of human cysticercosis by use of recombinant antigens from *Taenia solium* cysticerci. *Clín. Diagn. Lab. Immunol.* **6**: 479-482.

- Ito A., Plancarte A. & Ma L. (1998). Novel antigens for neurocysticercosis: simple method for preparation and evaluation for serodiagnosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **59**: 291-294.
- Ito A., Yamasaki H., Nakao M., Sako Y., Okamoto M., Sato M. *et al.*, (2003). Multiple genotypes of *Taenia solium*-ramifications for diagnosis, treatment and control. *Acta Trop.* **87**: 95-101.
- Laclette J. P., Landa A., Arcos L., Willms K., Davis A. E. & Shoemaker C. B. (1991). Paramyosin is the *Schistosoma mansoni* (Trematoda) homologue of antigen B from *Taenia solium* (Cestoda). *Mol. Biochem. Parasitol.* **44**: 287-296.
- Landa A., Laclette J. P., Nicholson-Weller A. & Shoemaker C. B. (1993). cDNA cloning and recombinant expression of collagen-binding and complement inhibitor activity of *Taenia solium* paramyosin (AgB). *Mol. Biochem. Parasitol.* **60**: 343-347.
- Laralde C., Laclette J., Owen C., Madrazo I., Sandoval M., Bojalil R. *et al.*, (1986). Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and hemagglutination tests. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **35**: 965-973.
- Laralde C., Sotelo J., Montoya R. M., Palencia G., Padilla A., Govezensky T. *et al.*, (1990). Immunodiagnosis of human cysticercosis in cerebrospinal fluid. Antigens from murine *Taenia crassiceps* cysticerci effectively substitute those from porcine *Taenia solium*. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **114**: 926-928.
- Levine M., Calderon J., Wilkins P. P., Lane W., Asara J., Hancock K. *et al.*, (2004). Characterization, cloning, and expression of two diagnostic antigens for *Taenia solium* tapeworm infection. *J. Parasitol.* **90**: 631-638.
- Loos-Frank B. (2000). An up-date of Verster's (1969). 'Taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus' (Cestoda) in table format. *Syst. Parasitol.* **45**: 155-183.
- Machnicka B., Dziemian E. & Zwierz C. (1996). Detection of *Taenia saginata* antigens in faeces by ELISA. *Appl. Parasitol.* **37**: 106-110.
- Manoutcharian K., Rosas G., Hernández M., Fragoso G., Aluja A., Villalobos N. *et al.*, (1996). Cysticercosis: identification and cloning of protective recombinant antigens. *J. Parasitol.* **82**: 250-254.
- Mayta H., Talley A., Gilman R. H., Jiménez L., Verastegui M., Ruiz M. *et al.*, (2000). Differentiating *Taenia solium* and *Taenia saginata* infections by simple Hematoxylin-Eosin Staining and PCR-Restriction Enzyme Analysis. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 133-137.
- Molinari J. L., García-Mendoza E., de la Garza Y., Ramírez J. A., Sotelo J. & Tato P. (2002). Discrimination between active and inactive neurocysticercosis by metacestode excretory/secretory antigens of *Taenia solium* in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66**: 777-781.
- Montenegro T. C., Miranda E. A. & Gilman R. (1996). Production of monoclonal antibodies for the identification of the eggs of *Taenia solium*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **90**: 145-155.
- Montero E., Gonzalez L. M., Puente S. & Gárate T. (2003a). Diagnosis of human *Taeniasis* by multiplex-PCR. *Med. Clin. (Barc)*. **120**: 37.
- Montero E., González L. M., Harrison L. J., Parkhouse R. M. & Gárate T. (2003b). *Taenia solium* cDNA sequence encoding a putative immunodiagnostic antigen for human cysticercosis. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **786**: 255-269.
- Nakao M., Okamoto M., Sako Y., Yamasaki H., Nakaya K. & Ito A. (2002). A phylogenetic hypothesis for the distribution of two genotypes of the pig tapeworm *Taenia solium* worldwide. *Parasitology*. **124**: 657-662.
- Nascimento E., Tavares C.A. & Lopes J. D. (1987). Immunodiagnosis of human cysticercosis (*Taenia solium*) with antigens purified by monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* **25**: 1181-1185.
- Ng T.F. & Ko R.C. (1994). Serodiagnosis of cysticercosis: specificity of different antigens and enzyme-linked immunosorbent assays. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **88**: 421-422.

- Nguekam J. P., Zoli A. P., Ongolo-Zogo P., Dorny P., Brandt J. & Geerts S. (2003) Follow-up of neurocysticercosis patients after treatment using an antigen detection ELISA. *Parasite*. **10**: 65-68
- Nunes C., Lima L., Manoel C., Pereira R., Nakano M. & García J. (2003). *Taenia saginata*: polymerase chain reaction for Taeniasis diagnosis in human fecal samples. *Exp. Parasitol.* **104**: 67-69.
- Nunes C., Dias A., Dias F., Aoki S., de Paula H., Lima L. *et al.*, (2005). *Taenia saginata*: differential diagnosis of human Taeniasis by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay. *Exp. Parasitol.* **110**: 412-415.
- Pammenter M. D., Epstein S. R. & Rees R. T. (1992). Cross reactions in the immunodiagnosis of schistosomiasis and cysticercosis by a cerebrospinal fluid enzyme-linked immunosorbent assay. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **86**: 51-52.
- Pardini A. X., Vaz A. J., Dos Ramos Machado L. & Livramento J. A. (2001). Cysticercus antigens in cerebrospinal fluid samples from patients with neurocysticercosis. *J. Clin. Microbiol.* **39**: 3368-3372.
- Pardini A. X., Peralta R. H., Vaz A. J., Dos Ramos Machado L. & Peralta J. M. (2002). Use of *Taenia crassiceps* cysticercus antigen preparations for detection of antibodies in cerebrospinal fluid samples from patients with neurocysticercosis (*Taenia solium*). *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **9**: 190-193.
- Park S. K., Yun D. H., Chung J. Y., Kong Y. & Cho S. Y. (2000). The 10 kDa protein of *Taenia solium* metacestodes shows genus specific antigenicity. *Korean J. Parasitol.* **38**: 191-194.
- Plancarte A., Hirota C., Martinez-Ocaña J., Mendoza-Hernandez G., Zenteno E. & Flisser A. (1999). Characterization of GP39-42 and GP24 antigens from *Taenia solium* cysticerci and their antigenic GP 10 subunit. *Parasitol. Res.* **85**: 680-684.
- Proaño-Narvaez J. V., Meza-Lucas A., Mata-Ruiz O., García-Jeronimo R. C. & Correa D. (2002). Laboratory diagnosis of human neurocysticercosis: double-blind comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and electroimmunotransfer blot assay. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 2115-2118.
- Restrepo B. I., Alvarez J. I., Castano J. A., Arias L. F., Restrepo M., Trujillo J. *et al.*, (2001). Brain granulomas in neurocysticercosis patients are associated with a Th1 and Th2 profile. *Infect. Immun.* **69**: 4554-4560.
- Rodríguez-Hidalgo R., Geysen D., Benítez-Ortiz W., Geerts S. & Brandt J. (2002). Comparison of conventional techniques to differentiate between *Taenia solium* and *Taenia saginata* and an improved polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay using a mitochondrial 12S rDNA fragment. *J. Parasitol.* **88**: 1007-1011.
- Sako Y., Nakao M., Ikejima T., Piao X.Z., Nakaya K. & Ito A. (2000). Molecular characterization and diagnostic value of *Taenia solium* low-molecular-weight antigens genes. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 4439-4444.
- Schantz P. M., Moore A. C., Muñoz J. L., Hartman B. J., Schaefer J. A., Aron A.M. *et al.*, (1992). Neurocysticercosis in an Orthodox Jewish community in New York City. *N. Engl. J. Med.* **327**: 692-695.
- Scheel C., Khan A., Hancock K., García H. H., González A. E., Gilman R. H. *et al.* (2005). Serodiagnosis of neurocysticercosis using synthetic 8-kd proteins: comparison of assay formats. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **73**: 771-776.
- Topley & Wilson (1999). Microbiology and microbial infections. Ninth edition. Volume 5 *Parasitology* U.K.
- Tsang V., Brand J. A. & Boyer A. E. (1989). An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J. Infect. Dis.* **159**: 50-59.
- Vaz A. J., Nunes C. M., Piazza R. M., Livramento J. A., Da Silva M. V., Nakamura P. M. *et al.*, (1997). Immunoblot with cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis using antigens from cysticerci of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **57**: 354-357.

- Vazquez-Talavera J., Solis C. F., Medina-Escutia E., Lopez Z. M., Proaño J., Correa D. *et al.*, (2001). Human T and B cell epitope mapping of *Taenia solium* paramyosin. *Parasite Immunol.* **23**: 575-579.
- Villota G. E., Gomez, D. I., Volcy M., Franco A. F., Cardona E. A., Isaza R. *et al.*, (2003). Similar diagnostic performance for neurocysticercosis of three glycoprotein preparations from *Taenia solium* metacestodes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **68**: 276-280.
- Wagner A. (2001). *Inmunodiagnóstico de la cisticercosis: ensayos de detección de anticuerpos y de antígenos circulantes*. Trabajo especial de grado presentado en la Universidad Central de Venezuela para optar al título de Magíster Scientiarum.
- Wang C. Y., Zhang H. H. & Ge L. Y. (1992). A Mab-based ELISA for detecting circulating antigen in CSF of patients with neurocysticercosis. *Hybridoma*. **11**: 825-827.
- White A.C., Jr. (1997). Neurocysticercosis: a major cause of neurological disease worldwide. *Clin. Infect. Dis.* **24**: 101-115.
- Wilkins P. P., Allan J. C., Verastegui M., Acosta M., Eason A. G., García, H. H. *et al.*, (1999). Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* Taeniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **60**: 199-204.
- Wilson M., Bryan R. T., Fried J. A., Ware D. A., Schantz P. M., Pilcher J. B. *et al.*, (1991). Clinical evaluation of the cysticercosis enzyme-linked immunoelectrotransfer blot in patients with neurocysticercosis. *J. Infect. Dis.* **164**: 1007-1009.
- Yamasaki H., Nakao M., Sako Y., Nakaya K., Sato M.O., Mamuti W. *et al.*, (2002). DNA differential diagnosis of human taeniid cestodes by base excision sequence scanning thymine-base reader analysis with mitochondrial genes. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 3818-3821.
- Yamasaki H., Allan J., Sato M., Nakao M., Sako Y., Nakaya K. *et al.*, (2004). DNA differential diagnosis of *Taeniasis* and cysticercosis by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 548-553.
- Yang H. J., Chung J. Y., Yun D. H., Kong Y., Ito A., Ma L. *et al.*, (1998). Immunoblot analysis of a 10 kDa antigen in cyst fluid of *Taenia solium* metacestodes. *Parasite Immunol.* **20**: 483-488.
- Zarlenga D. S., McManus D. P., Fan P. C. & Cross J. H. (1991) Characterization and detection of a newly described Asian taeniid using cloned ribosomal DNA fragments and sequence amplification by the polymerase chain reaction. *Exp. Parasitol.* **72**: 174-183.

Recibido el 15/12/2005
Aprobado el 03/04/2006