UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

CISTICERCOSIS HUMANA:
EPIDEMIOLOGIA Y ANALISIS DE ANTIGENOS POR WESTERN BLOT

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS (BIOLOGIA CELULAR)

P R E S E N T A

BIOL. JOSE ALEJANDRO PADILLA TREJO

DIRECTOR DE TESIS DR. CARLOS LARRALDE RANGEL

MEXICO, D.F. 1994

FALLA DE ORIGEN

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos:

Al Doctor:

Carlos Larralde

Por brindarme la oportunidad de colaborar con él y su grupo de trabajo

A los Doctores:

Ruy Pérez Montfort

Enrique Ortega Soto

Fernando García Tamayo

Abraham Landa Piedra

Edmundo Lamoyi Velázquez

Roberto Hernández Fernández

Emma Melendro

Edda Sciutto Conde

Por sus sus sugerencias y críticas en la elaboración de esta tesis.

Esta tesis se realizó con la asesoría técnica de:

M. en C. Rosa María Montoya Herrera

Ing. Tzipe Govezensky Zack

Biól. María Luisa Díaz Servín

A quienes también deseo expresar mi agradecimiento

CISTICERCOSIS HUMANA: SEROEPIDEMIOLOGIA Y ANALISIS DE ANTIGENOS POR WESTERN BLOT.

INDICE:

Resumen 2

Introducción 4

Objetivos 13

Seroepidemiología de la cisticercosis en México Larralde C., **Padilla A.**, Hernández M., Govezensky T., Sciutto E., Gutiérrez G., Tapia-Conyer R., Salvatierra B., Sepúlveda J. Salud Pública de México vol 34(2):197-210 16

Immunodiagnosis of human cysticercosis in cerebrospinal fluid antigens from murine *Taenia crassiceps* cysticerci effectively substitute those from porcine *Taenia solium*. Larralde C., Sotelo J., Montoya R.M., Palencia G , **Padilla A.**, Govezensky T., Díaz M L., Sciutto E. Arch Pathol Lab Med. Vol 114, 1990 p926-928 17

Immunodiagnosis of neurocysticercosis dissapointing performance of serology (Enzime-Linked immnunosorbent assay) in an unbiased sample of neurological patients. Ramos-Kuri M., Montoya R.M., **Padilla A.**, Govezensky T., Díaz M L., Sciutto E., Sotelo J., Larralde C. J Arch Neurol vol 49 1992 p633-636 18

Resultados adicionales

Material y Métodos 19

Resultados 22

Discusión General 30

Conclusiones Generales 36

Bibliografía 38

RESUMEN

En esta tesis se realizaron trabajos que tratan dos aspectos de la cisticercosis humana, el primer aspecto está dirigido a conocer la epidemiología y el segundo trata algunos avances sobre el diagnóstico de la neurocisticercosis (NCC).

La seroepidemiología de la cisticercosis humana en México, se realizó con una muestra de sueros (66754) representativa de la población abierta del país, se utilizó la técnica de hemaglutinación indirecta (HIA) para detectar anticuerpos anticisticerco de *Taenia solium*.

Los resultados muestran una seroprevalencia promedio de 1.2%, la cual nos indica que en toda la extensión de México existe el riesgo de entrar en contacto con *T. solium*, así sea en sus distintos sectores sociales, o en sus grupos de edades y sexuales. También muestra diferencias estadísticamente significativas en cuanto al riesgo de contacto, las que desfavorecen al centro del país, a los desvalidos, a los niños y viejos y a las mujeres, pero estas diferencias son siempre pequeñas. La lección principal de este estudio es que el riesgo de infectarse con *T. solium* afecta a casi todos por igual, por tanto, las medidas para el control de la transmisión deben enfocarse a toda la comunidad buscando su desarrollo social.

Se presentan los resultados de la utilización de los antígenos de *T. crassiceps* en el diagnóstico de la NNC, como una fuente de antígenos alternativos a los de *T. solium*. Para ésto se analizaron 192 líquidos cefalorraquídeos (96 de enfermos de NCC y 96 de enfermos con otros problemas neurológicos) la eficiencia obtenida es del 96.5% (sensibilidad 95% y especificidad 98%). Los resultados prueban que los antígenos de *T. crassiceps* efectivamente pueden sustituir a los antígenos de *T. solium* en el diagnóstico de la NCC.

RESUMEN:

En esta tesis se realizaron trabajos que tratan dos aspectos de la cisticercosis humana, el primer aspecto está dirigido a conocer la epidemiología y el segundo trata algunos avances sobre el diagnóstico de la neurocisticercosis (NCC)

La seroepidemiología de la cisticercosis humana en México, se realizó con una muestra de sueros (66754) representativa de la población abierta del país, se utilizó la técnica de hemaglutinación indirecta (HIA) para detectar anticuerpos anticisticerco de la *Taenia solium*.

Los resultados muestran una seroprevalencia promedio de 1.2%, la cual nos indica que en toda la extensión de México existe el riesgo de entrar en contacto con *T. solium*, así sea en sus distintos sectores sociales, o en sus grupos de edades y sexuales. También muestra diferencias estadísticamente significativas en cuanto al riesgo de contacto, las que desfavorecen al centro del país, a los desvalidos, a los niños y viejos y a las mujeres, pero estas diferencias son siempre pequeñas. La lección principal de este estudio es que el riesgo de infectarse con *T. solium* afecta a casi todos por igual; por tanto, las medidas para el control de la transmisión deben enfocarse a toda la comunidad buscando su desarrollo social.

Se presentan los resultados de la utilización de los antígenos de *T. crassiceps* en el diagnóstico de la NNC, como una fuente de antígenos alternativos a los de *T. solium*. Para ésto se analizaron 192 líquidos cefalorraquídeos (96 de enfermos de NCC y 96 de enfermos con otros problemas neurológicos) la eficiencia obtenida es del 96.5% (sensibilidad 95% y especificidad 98%). Los resultados prueban que los antígenos de *T. crassiceps* efectivamente pueden sustituir a los antígenos de *T. solium* en el diagnóstico de la NCC.

También se evaluó la prueba de ELISA en el diagnóstico serológico de NCC con una muestra de sueros grande y heterogénea (1066 sueros) de enfermos con problemas neurológicos. Se encontró una sensibilidad del 69% y especificidad del 71%. La principal conclusión es que el diagnóstico de la NCC no funciona lo suficientemente bien para resolver las necesidades de inmunodetección de personas infectadas en una zona endémica, se recomienda evaluar los diferentes métodos diagnósticos con un número de sueros significativo y representativo de la heterogeneidad de los enfermos neurológicos, optimizar los métodos y usar antígenos purificados que ayuden a resolver los problemas de inespecificidad.

Otra parte de este trabajo estudia los antígenos del cisticerco asociados a la positividad de los sueros, estudiando por western blot la reacción de sueros negativos y sueros de enfermos de neurocisticercosis (NCC), con la finalidad de establecer un diagnóstico discriminante de la NCC.

El análisis de la reactividad de los sueros en western blot se realizó por el método del inmunoplot y regresión logística. Los resultados muestran cinco proteínas antigénicas discriminantes (223, 139, 114, 63 y 22 KD) capaces de diagnosticar enfermos de NCC con una sensibilidad del 90% y especificidad del 98.5%.

Finalmente se investigó la presencia de anticuerpos en contra de los antígenos específicos de enfermos de NCC, en 242 sueros positivos por HIA de la población abierta elegidos al azar de la totalidad de sueros positivos de la encuesta serológica nacional, se encontró que la mitad (51.2%) son positivos por western blot. La reactividad con antígenos discriminantes sugiere que estas personas probablemente están infectadas por el cisticerco.

INTRODUCCION:

La NCC humana es una enfermedad causada por la larva de la *Taenia solium*. En esta enfermedad el parásito causa lesiones al sistema nervioso central (Del Brutto O.H., *et al.* 1988) que se asocian con diferentes manifestaciones patológicas debidas a la combinación de la respuesta inflamatoria, la topografía de la lesión, el número de parásitos y resultados de infestaciones previas. La sintomatología puede variar desde una alteración neurológica discreta hasta la más dramática alteración cerebral (Madrazo I. 1989, y Shriqui CL. 1992).

EPIDEMIOLOGIA:

La NCC es una enfermedad común en toda Latinoamérica (de Kaminsky RG 1991 Chequer RS, *et al.* 1990. Schenone H. *et al.* 1982), exceptuando Argentina. Se encuentra en Asia (Pathak KM 1989), Africa (Dumas M *et al.* 1990), Australia (Mc Dowell D *et al.* 1990), y en algunos países de Europa (García-Albea 1989). En México la NCC es la causa principal de epilepsia tardía (Del Brutto O H., *et al.* 1988), es la principal causa de neurocirugía en instituciones especializadas (Zenteno G. 1965), y se encuentra entre el 2 y 3 por ciento de las necropsias (Rabiela MT 1979, Albores-Saavedra. 1971). Tiene gran importancia económica ya que el 75 por ciento de los enfermos de NCC sintomática se encuentran en edad productiva y son incapaces de trabajar mientras presentan los síntomas (Velasco-Suárez M., *et al.* 1982).

La ingestión de huevecillos de *T. solium* resulta en cisticercosis pero el vector principalmente responsable no ha sido plenamente identificado, aunque se sospecha que son los alimentos contaminados los directamente involucrados (Beneden 1853, Kuckenmeister

1855, Leuckart 1856, citado por Nieto D. 1982), si bien nunca se ha encontrado ningún alimento, vector u acarreador de los huevecillos. En México existen todos los factores sociales asociados a la persistencia del ciclo biológico como son porcicultura rústica, fecalismo al aire libre, falta de higiene personal, y otras características asociadas al tercer mundo. Constantemente se sospecha de las hortalizas regadas con aguas negras contaminadas con heces humanas, que pueden llevar los huevecillos de *T. solium*, hasta la cocina de los comensales.

También se ha pensado en las moscas como acarreador de los huevecillos de la tenia desde las heces fecales humanas depositadas al aire libre hasta los alimentos o utensilios de cocina en el hogar (Pokrovskii S.N., *et al.* 1938 Gemell M., *et al.* 1985).

Por otro lado, para completar el ciclo biológico, se involucran los productos del cerdo como son el chorizo, y la longaniza en la transmisión de la teniasis al hombre.

La encuesta serológica realizada en San Cristóbal de las Casas (Chiapas) encontró que la seroprevalencia de la serología positiva para la cisticercosis era más alta en los asentamientos pequeños (8%) y disminuía en los más grandes y urbanizados (2%). Esta es la primera evidencia de que el ciclo biológico se completa en comunidades rurales y mantiene a las zonas urbanas (Flisser A., *et al.* 1976)

En la primera Encuesta Serológica Nacional realizada en 1972 en México, se analizaron 20000 sueros de derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social. Se encontró una seropositividad del 1%, con variaciones regionales importantes, apareciendo el Bajío como la región de más alta seroprevalencia con 15%. A la porcicultura intensiva que ahí se practica se le atribuyó proveer el sustrato propicio para el ciclo de vida de la *T.*

solium. Como en esa misma encuesta no se encontró ninguna correlación entre los indicadores de nivel socioeconómico y la serología positiva, se propuso que la cisticercosis se transmite al humano por vías no discriminantes de lo social y se aventuró la sospecha de que el camino sea el aéreo. El hábito del fecalismo al aire libre y las condiciones dramáticas en las épocas de secas, en las que las tolvaneras se encargarían de esparcir los huevecillos sin mayor distinción de clases (Woodhouse E., *et al.* 1982). Se ha pensado también que las trabajadoras domésticas juegan un papel importante al ser las introductoras de costumbres y de patologías del medio rural al medio urbano, explicando como es que la enfermedad alcanza todos los niveles sociales, incluyendo los más privilegiados de México y hasta varios casos de extranjeros infectados de NCC con mexicanos en su servicio doméstico (Richards F.O., *et al.* 1985, Earnest M., *et al.* 1987, Lettau L.A., *et al.* 1992).

Así aparecía, por primera vez, la posible importancia del entorno íntimo en la transmisión de la cisticercosis, del que el Dr. Mazzotti sospechó desde hace muchos años (1974) al encontrar huevecillos de tenia en ropa interior, pantalones, manos, muslos y ano de los portadores del gusano adulto, así como en el piso de los alrededores de las casa de los teniásicos. En 1985 un documento de la Organización Mundial de la Salud (OMS) mencionó la posibilidad de que transitara de manera más estrecha a través de prácticas como el *cunnilingus* (Gemmell M. *et al.* 1985). Las últimas contribuciones señalan como importante factor de riesgo la convivencia con un teniásico, al encontrar una mayor seroprevalencia de la cisticercosis en sus familias que en el resto de la comunidad del mismo poblado (Díaz-Camacho S., *et al.* 1990, Schantz P M., *et al* 1992), y a las condiciones domiciliarias y peridomiciliarias, por su capacidad de sostener el ciclo completo del parásito (Aluja A. *et al.* 1982, Sartí-Gutierrez EJl, *et al.* 1988 Díaz-Camacho S., *et al* 1990). Además, el que ninguno de nuestros innumerables visitantes turísticos haya desarrollado cisticercosis sintomática tarde o temprano después de regresar a su país de origen, y sí en cambio los

soldados ingleses que oprimían a la India hasta 1947 (Blacklock D B., *et al.* 1974, Keilbach M., *et al.* 1989) son argumentos adicionales en favor de la necesidad de un contacto íntimo y prolongado con las fuentes de infección para contraerla.

INMUNODIAGNOSTICO

El inmunodiagnóstico de la cisticercosis se realiza detectando anticuerpos que reaccionan en contra de los antígenos del cisticerco de *T. solium* en fluídos biológicos como el suero (Larralde C., *et al.* 1986), líquido cefalorraquídeo (Sotelo J., *et al.* 1990) y saliva (Feldman M., Flisser A., *et al.* 1990).

Las técnicas empleadas para la inmunodetección son hemaglutinación indirecta (HIA), ensayo inmunoenzimático (ELISA) (Larralde C., *et al.* 1986), western blot (Tsang V C W. 1989), dot blot (Flisser A., *et al.* 1990), fijación de complemento (Rosas N., Sotelo J., *et al.* 1986), aglutinación, inmunofluorescencia indirecta (Feldman M., Flisser A., *et al.* 1990; Gutiérrez Q.M. 1989), e inmunoelectroforesis (Woodhouse I., *et al.* 1982). Los antígenos que se usan son mezclas complejas que se obtienen a partir de cisticercos de las siguientes formas:

1) Homogeneizados de membranas o de escólex (Feldman M., Flisser A., *et al.* 1990).
2) Extracción del fluído vesicular (Larralde C *et al.* 1986).
3) Homogeneizado de cisticerco completo (Rosas N. Sotelo J., *et al.* 1986).
4) Purificaciones parciales de los antígenos crudos por afinidad a la lectina de la lenteja (Tsang V C W. 1989).

Los cisticercos de los cuales se preparan los antígenos que se utilizan en el diagnóstico proviene de cerdos infectados naturalmente que se decomisan en rastros. También existe la posibilidad de adquirir los cerdos parasitados directamente de criadores no tecnificados en zonas con una alta endemia de cisticercosis porcina. Como la infección de los cerdos sucede naturalmente no se puede saber la edad y el estado general de los cisticercos por lo que una estandarización de los antígenos para resolver la heterogeneidad resulta muy difícil. (Correa D., *et al.* 1987; Yakolef-Greenhouse V. 1982).

El hallazgo de anticuerpos que reaccionan con los antígenos de *T. solium* en un donador de suero lo clasifica como seropositivo. En la población abierta la seropositividad nos indica contactos con la *T. solium* con cualquiera de sus estadíos: ya sea en forma adulta, como larva o con los huevecillos en un tiempo no necesariamente contemporáneos a la toma de la muestra de la sangre. La seropositividad pudiera también indicar reacción cruzada de los anticuerpos con algún otro céstodo relacionado (Larralde C., *et al.* 1989), como *Taenia saginata, Echinococcus granulosus* o *T. crassiceps*, aunque los dos últimos parásitos son prácticamente inexistentes en México en su forma natural. La seropositividad en la población de enfermos neurológicos refuerza el diagnóstico de NCC en países en los que la cisticercosis es endémica y se consolida con la ayuda de datos clínicos y epidemiológicos. Los estudios imagenológicos en muchas ocasiones por si solos establecen el diagnóstico de NCC, pero su precio es tan elevado que lo hace inaccesible a la mayoría de los enfermos.

Las publicaciones del diagnóstico reportan sensibilidades y especificidades del diagnóstico de NCC cercanas al 100% (Coker-Van M., *et al.* 1986; Corona T., *et al.* 1986; Flisser A., Woodhouse E., *et al.* 1986; Flisser A.,. Larralde C., *et al.* 1986; Schantz P M., *et al.* 1988), evaluándose con grupos de sueros control positivos y negativos bien clasificados,

pero no se ha realizado una evaluación más severa de las pruebas con un número significativo y representativo de la heterogeneidad de la población neurológica.

Algunos grupos han tratado de identificar antígenos del cisticerco con la finalidad de eliminar reacciones de inespecificidad e incluso se han realizado purificaciones parciales del cisticerco. El Dr. Victor Tsang, trató de optimizar un western blot utilizando las glucoproteínas que se pegan a las lectinas de lentejas, a partir de un extracto crudo de cisticercos de *T. solium*. La fracción que purificó contiene 7 glucoproteínas (Gp 50, 42, 24, 21, 18, 14, 13 KD) que muestran una sensibilidad del 98 % y especificidad del 100 % con un grupo de sueros de NCC y de personas negativas bien clasificadas (Tsang V.C.W, *et al.* 1989). Recientemente se evaluó este western blot con un grupo de sueros de enfermos de NCC de una zona endémica de cisticercosis en la que resultó ser poco sensible (42%) (García H.H. *et al* 1991). El Dr. Larralde y su grupo han identificado por western blot unas proteínas de peso molecular de 108, 103, y 23 KD del fluído vesicular de *T. solium* y una proteína 88 KD del fluído vesicular de *T. crassiceps* (Larralde C., *et al.* 1986, 1988). Varios trabajos sugieren el uso de antígenos del cisticerco de *T. solium* para el diagnóstico por ELISA con una sensibilidad variable; el Dr. Chromanski *et al.* en 1990, recomienda un antígeno de 110 KD que se purifica por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de líquido cefalorraquídeo de enfermos de NCC, el Dr. Grogl M., *et al.* 1985 reporta 3 proteínas identificadas por western blot 64, 53, y 32-30 KD, finalmente el Dr. Téllez-Girón E., *et al.* 1989 recomienda un antígeno de 66 KD.

INMUNOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS

El estudio de la respuesta inmune en las relaciones huésped-parásito ha demostrado ser de gran utilidad, dada su aplicación en el diagnóstico de la enfermedad, en la búsqueda

de antígenos del parásito que inducen una respuesta protectora y de antígenos que permiten un diagnóstico específico y altamente sensible, igualmente ha permitido la identificación de las partes del sistema inmune que confieren inmunidad y los mecanismos responsables, así como las acciones que emplean los parásitos para evadir el sistema inmune.

Antígenos:

Los antígenos que se usan en vacunas experimentales de cisticercosis por *T. solium* son mezclas complejas a partir de extractos crudos de diferentes ténidos (Sciutto E., *et al.* 1990. Kwa B.H *et al.* 1974, Campbell D H 1936). Recientemente se prueban antígenos purificados de *T. crassiceps* (56, 66, y 74 KD) en vacunación contra la cisticercosis murina con resultados alentadores (Valdez F., *et al.* 1993). Con técnicas de DNA recombinante se han producido dos proteínas recombinantes de peso molecular de 48 y 55 KD aislado de *Taenia ovis* las cuales se están probando en la protección contra *T. solium* (Howell M. J., y Hargreaves J.J. 1988). El Dr. Julio Sotelo propone una proteína de 70 KD de la membrana del cisticerco, que se purifica del líquido cefalorraquídeo y del suero de personas con NCC como un inmunógeno útil para la vacunación (Khan N A. y Sotelo J. 1989). De la inmensa composición antigénica del cisticerco de *T. solium* aún sin conocer en detalle, el antígeno mejor caracterizado, clonado y secuenciado es el antígeno B o paramiosina del que se conoce funciona como un inhibidor del complemento y de la inflamación (Landa A., *et al* 1993, Laclette J.P., *et al.* 1992).

Inmunidad humoral:

Desde hace años se conoce que el parásito estimula al sistema inmune a formar anticuerpos en contra de muchos antígenos (Flisser A., *et al.* 1980). Los anticuerpos

circulantes son principalmente de tipo IgG seguido por IgM y en algunos casos se detectan anticuerpos de tipo IgA e IgE. Estudios de inmunidad humoral con *T. crassiceps* en ratones, encuentran que hay una relación directa entre el número de parásitos y el título de anticuerpos, siendo mayor éste cuando mayor es la carga parasitaria y se sospecha que la respuesta inmune humoral no parece estar involucrada en la protección del huésped contra el parásito (Sciutto E., *et al.* 1990). No se ha realizado una valorización del sistema inmune midiendo diversas citocinas y hormonas peptídicas (Interleucinas 1, 2, 4, 5, 6, 8, 10 y 12, interferón γ, factor de necrosis tumoral), que proporcione una idea más profunda del estado inmunológico de enfermos de NCC y ésto aclararía la red de los mecanismos inmunológicos que participan en la relación huésped parásito.

Complemento:

Las proteínas del complemento juegan un papel relevante en la eliminación temprana de los agentes infecciosos. Se piensa que el cisticerco ha desarrollado mecanismos de evasión a través de la paramiosina que interacciona con la proteína C1q inhibiendo la vía clásica del complemento (Laclette J.P., *et al.* 1990). También, los antígenos del cisticerco podrían inhibir la vía alterna a través de residuos glucosídicos en las proteínas, ya que se ha visto que los residuos de ácido siálico en las proteínas del cisticerco de *T. pisiformis* inhiben la activación de C3b de la vía alterna del complemento (Williams J., *et al* 1980).

Inmunidad celular:

La inmunidad celular parece estar disminuída en enfermos con NCC. Esto se ha observado al medir la respuesta en piel a antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* con PPD (derivado de proteína purificada) y al estudiar la proliferación blastoide de linfocitos T

estimulados con fitolaca americana, fitohemaglutinina, y concanavalina A (Flisser A., Rivera L., *et al.* 1982). Estudios con *T. crassiceps* en cisticercosis murina señalan que la respuesta inmune celular se inhibe durante el desarrollo de la infección, al medir la disminución de la hipersensibilidad retardada en el cojinete plantar en respuesta a los antígenos del cisticerco. Resultados similares se han encontrado en *T. taeniaformis* (Williams J., *et al.* 1982). Los resultados del cultivo de linfocitos de ratón señalan al macrófago como uno de los principales protagonistas en la susceptibilidad de *T. crassiceps* al liberar factores que inhiben la función de subclonas de linfocitos T (Th1) (Terrazas I., *et al.* 1993).

Eosinófilos:

Los eosinófilos son un grupo numeroso de células que aparece constantemente en la cisticercosis, se le ha reportado en la infección de cerdos con *T. solium* (Aluja A., *et al.* 1988) y también con *T. crassiceps*, (Good A H., *et al.* 1982) y *T. taeniaeformis* (Mitchell G F., *et al.* 1982) y se piensa que puedan jugar un papel relevante en la inmunidad.

OBJETIVOS:

En epidemiología:

Investigar el estado endémico de la cisticercosis humana en la población abierta de México.

Asociar la seropositividad con las variables de orden social, económico, biológico, geográfico y educativo a fin de encontrar factores únicos o agrupados que aumenten el riesgo de entrar en contacto con la *T. solium.*

Por otro lado, aprovechar la excelente oportunidad para examinar la validez de algunas de las hipótesis mencionadas en la introducción.

La importancia de la geografía.
La influencia del tercermundismo y el urbanismo.
La influencia de las condiciones del hogar.
La importancia de los factores socioeconómicos.

En diagnóstico:

Probar los antígenos de *T. crassiceps* en el inmunodiagnóstico de la NCC.

Evaluar la eficiencia del diagnóstico serológico de la NCC (por ELISA) con una muestra representativa de la heterogeneidad de los enfermos con padecimientos neurológicos.

Analizar por western blot la respuesta de los sueros positivos, negativos, así como la de los sueros de enfermos de Neurocisticercosis.

Identificar los antígenos discriminantes en el western blot del diagnóstico de NCC.

Conocer el perfil antigénico con el que reaccionan los sueros positivos de la población abierta.

A continuación se presentan copias de los artículos que se desarrollaron durante el trabajo de tesis, y los resultados adicionales del análisis de western blots para la búsqueda de antígenos discriminantes.

SEROEPIDEMIOLOGÍA DE LA CISTICERCOSIS EN MÉXICO

CARLOS LARRALDE, DR. EN C.,[1] ALEJANDRO PADILLA, M. C.,[1]
MARISELA HERNÁNDEZ, LIC. EN BIOL.,[1] TZIPE GOVEZENSKY, M. EN C.,[1]
EDDA SCIUTTO, M. EN C.,[1] GONZALO GUTIÉRREZ, M.C., M.S.P.,[2]
ROBERTO TAPIA-CONYER, M.C., M.S.P., M. EN C.,[3] BENITO SALVATIERRA, M.C., M. EN C.,[3]
JAIME SEPÚLVEDA, M.C., M.S.P., DR. EN C.[4]

Larralde C, Padilla A, Hernández M, Govezensky T, Sciutto E, Gutiérrez G, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Sepúlveda J. Seroepidemiología de la cisticercosis en México. Salud Publica Mex 1992;34:197-210.

RESUMEN:

La seroprevalencia de la cisticercosis indica que en todo México existe el riesgo de entrar en contacto con la **Taenia solium**, *en cualquiera de las distintas localidades geográficas, sectores sociales o grupos de edad y sexo. También es cierto es que hay diferencias estadísticamente significativas en cuanto al riesgo de contacto, que afectan al centro y sureste del país, al medio rural, a los desvalidos, a los niños y viejos, y a las mujeres, pero éstas son siempre pequeñas. La lección principal de este estudio es que el riesgo de infectarse con* **T. solium** *afecta a casi todos por igual; por tanto, las medidas para el control de la trasmisión deben enfocarse a toda la comunidad buscando su cabal desarrollo social.*

Palabras clave: cisticercosis, *T. solium*, seroepidemiología

Larralde C, Padilla A, Hernández M, Govezensky T, Sciutto E, Gutiérrez G, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Sepúlveda J. Seroepidemiology of cisticerciasis in Mexico. Salud Publica Mex 1992;34:197-210.

ABSTRACT:

The seroprevalence of cisticerciasis indicate that there is a high risk of contact with **Taenia solium** *in Mexico, including both genders and all regions, socioeconomic group, and ages. There are some statistically significant differences in risk of contact, affecting principally the center and southeast of the country, rural areas, handicapped persons, children, old people and women. However, these differences are small. This study emphasizes the fact that the risks of infection by* **Taenia solium** *are important in all groups, and therefore, the programs for the control of this disease should be focused at the entire population and emphasize strategies for social development.*

Key words: cisticerciasis, *Taenia solium*, seroepidemiology

Solicitud de sobretiros. Dr. Carlos Larralde, Departamento de Inmunología, UNAM, Ciudad Universitaria, Apdo. Postal 70228, 04510 México, D.F.

(1) Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
(2) Dirección General de Coordinación Estatal, Secretaría de Salud (SSA), México.
(3) Dirección General de Epidemiología, SSA.
(4) Subsecretaría de Coordinación y Desarrollo, SSA.

Fecha de recibido: 4 de noviembre de 1991 **Fecha aprobado:** 11 de diciembre de 1991

La neurocisticercosis humana es bien conocida en Mexico.[1,2] Se le encuentra en aproximadamente 2 por ciento de las necropsias de adultos;[3,4] es el motivo de 20 a 25 por ciento de las craneotomías en las instituciones especializadas[5] y la principal causa de consulta neurológica por epilepsia.[6] Tampoco es desconocida en el resto de Latinoamérica,[7] ni en gran parte de Asia y Africa.[8-11] Apenas en este siglo dejó de ser un problema de salud en Europa, donde se le conoce desde la antigüedad[12] y prácticamente se le erradicó con base en obras de ingeniería sanitaria, higiene personal, inspección efectiva de rastros, tecnificación de la porcicultura y un desarrollo general de la comunidad.[13]

Por el contrario, en México aún subsisten las condiciones macroscópicas que propician la trasmisión de la cisticercosis: extensión de la porcicultura rústica a casi toda la República, fecalismo al aire libre en medios rural y urbano, hacinamiento en la vivienda, insuficiente inspección sanitaria e insalubridad ambiental y conductual. De esta realidad nacional y del ciclo biológico de la *T. solium* se derivan conjeturas más o menos razonables sobre los detalles de su trasmisión, que se toman por verdades absolutas sin que medie verificación formal. Así, se han visto involucradas la hortaliza nacional y la cocina popular en el contagio de la cisticercosis, y los chorizos y la longaniza en el de la teniasis. La consagración de la sabiduría convencional entraña el peligro de soslayar otros factores o mecanismos tanto o más importantes que los triviales en esta enfermedad.

Sin menospreciar el sentido común, lo cierto es que el detalle íntimo de la trasmisión apenas empieza a dilucidarse científicamente, y con ello el dibujo a grandes rasgos de la perspectiva epidemiológica nacional y regional sobre prevalencia y factores de riesgo.

En 1976, el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, en San Cristóbal de las Casas, recogió sueros de diversas poblaciones de los Altos de Chiapas, y encontró que la prevalencia de la serología positiva era más alta en los asentamietos más pequeños (8%) y tendía a 2 por ciento en los más populosos. Esto sería la primera documentación de la idea de que el ciclo rural de trasmisión mantiene a la endemia urbana.[14] Otra encuesta serológica levantada en 1974 por el Instituto Mexicano del Seguro Social, alegadamente representativa de la población urbana nacional, indicó una prevalencia global de seropositividad a la cisticercosis de aproximadamente 1 por ciento, con importantes variaciones regionales, apareciendo El Bajío como la región de más alta prevalencia, con 15 por ciento. A la porcicultura intensiva que ahí se practica se le atribuyó proveer el sustrato propicio para el ciclo de vida de la *T. solium*. Como en esa misma encuesta no se encontró ninguna correlación entre los indicadores de nivel socioeconómico y la serología positiva, se propuso que la cisticercosis se trasmite al humano por vías no discriminantes de lo social, y se aventuró la sospecha de que tal vez el camino sea el aéreo: las tolvaneras se encargan de esparcir los huevecillos sin mayor distinción de clase. En las discusiones de estos trabajos en un primer encuentro internacional sobre cisticercosis[15] resurgieron sospechas sobre el papel de las moscas como vectores mecánicos.[16] Tampoco escaparon a la suspicacia las trabajadoras domésticas, en su papel de introductoras de las costumbres y la patología del medio rural al medio urbano, para explicar cómo es que la enfermedad alcanza todos los niveles sociales, incluyendo los más privilegiados de México, y hasta a un desprevenido estadounidense con una mexicana en su servicio doméstico.[17,18]

Así, aparecía, por primera vez para muchos, la posible importancia del entorno íntimo en la trasmisión de la cisticercosis, al que Mazzotti inculpó hace muchos años,[19] al encontrar huevecillos de tenia en ano, muslos, manos, cama, calzones y pantalones de los portadores del gusano adulto, así como en el piso y en los alrededores de las casas de los teniásicos. En 1985, un documento de la Organización Mundial de la Salud (OMS) mencionó la posibilidad de que transitara a través del *cunnilingus*.[20] Las últimas contribuciones señalan como importantes factores de riesgo la convivencia con un teniásico, al encontrarse una mayor prevalencia de la seropositividad en sus familias que en el resto de la comunidad del mismo poblado,[21] y a las condiciones domiciliarias y peridomiciliarias, por su capacidad de sostener el ciclo completo del parásito (convivencia con teniásico, fecalismo al aire libre, porcicultura rústica, deficiente higiene personal, presencia de humanos y porcinos susceptibles).[22,23] Además, el que ninguno de nuestros innumerables visitantes turísticos haya desarrollado cisticercosis sintomática tarde o temprano después de regresar a su país de origen, y sí en cambio los soldados ingleses que oprimían a la India hasta 1947,[24,25] son argumentos adicionales en favor de la necesidad de un contacto íntimo y prolongado con las fuentes de infección para contraerla.

El conocimiento tradicional sobre el padecimiento tal vez sufra modificaciones de fondo que el sólo incorporar al entorno íntimo entre los principales mecanismos de

trasmisión. Por ejemplo, la gran dificultad para encontrar gusanos adultos aun en sitios de altísima prevalencia de cisticercosis porcina (5 a 20%) e incluso tras numerosos coproparasitoscópicos e interrogatorios positivos,[26] es, sin lugar a dudas, la experiencia más intrigante y común de las indagaciones recientes. Tan inconspicua es la forma adulta de la *T. solium* que no falta ya quien ponga en duda la solidez del conocimiento cabal del ciclo del parásito. Recientemente falleció Antonio Acevedo, quien sospechaba de la participación de otro téníido además de *T. solium*. Paz Ma. Salazar insiste en la capacidad infectiva de las oncósferas en la carne y la sangre del cerdo,[27] e incluso otros no desdeñamos la posibilidad de que existan formas adultas de *T. solium* de muy corta vida, que sin embargo alcanzarían a liberar huevecillos infectantes para la comunidad antes de ser detectadas o colectadas.

La participación de factores biológicos en la susceptibilidad de los humanos a la *T. solium* apenas empieza a considerarse también. Además de que la sospecha de predisposición biológica se justifica ante cualquier padecimiento que afecte a una fracción muy pequeña de la totalidad expuesta, los hallazgos de Correa[28] y de Gorodesky,[29] sobre cisticercosis humana, y de Sciutto, sobre la forma experimental murina,[30] sugieren como un factor importante de susceptibilidad la compartición de antígenos y de genes del complejo mayor de histocompatibilidad entre parásito y huésped. La extensa red de eventos biológicos en la que inciden los genes del complejo mayor de histocompatibilidad[31] aseguran al determinismo genético un rol principal en esta relación huésped-parásito.

El papel de la inmunidad en la enfermedad humana es discutible y, en todo caso, complicado. Si bien Ridaura encuentra una fuerte asociación de neurocisticerocosis infantil con enfermedades relacionadas con un compromiso inmunológico,[32] y Flisser sospecha inmunodepresión en casos terminales de adultos,[33] son muy pocos casos los primeros para una inferencia inportante, y, estando moribundos los segundos, no sorprende la depresión concomitante del sistema inmune. También le resta importancia a la respuesta inmune tradicional la presencia de anticuerpos en la sangre y líquido céfalo raquídeo (LCR) de los enfermos neurocisticercosos, así como la insignificante imagen histológica en la interfase del huésped con los cisticercos vivos.[34] Sin embargo, así sea de escasa trascendencia su rol ante un cisticerco establecido, no puede soslayarse definitivamente la participación inmunológica en la susceptibilidad a un desafío con huevecillos, dado que: a) la vacunación establece estados parciales o totales de resistencia en muchas de las versiones experimentales o naturales de cisticercosis animal[35,36] y b) la evolución de la imagen histológica tras el desafío experimental de cerdos con huevecillos de *T. solium* le sugiere a Aluja que los eosinófilos son los principales protagonistas del huésped en la confrontación con el parásito y responsables de la destrucción de la mayoría de los cisticercos.[37] Así, la respuesta inmune, con sus móleculas y células constitutivas, aparece como una barrera de contención ante la que fracasa la fracción más sustancial de las oncósferas y cisticercos inmaduros procedentes de la dosis de desafío. Sin embargo, una vez franqueada, y una vez establecido el cisticerco en algún tejido del huésped, los anticuerpos y células inmunes resultan totalmente inoperantes. Al sexo, tan claramente identificado como factor de susceptibilidad en versiones animales de cisticercosis,[36] no se le implica en las series de necropsias ni de consulta por neurocisticercosis, si bien Sotelo encuentra en las mujeres una mayor inflamación alrededor de los cisticercos cerebrales que la que se observa en los varones.[38] En cuanto a la edad, se sabe que la neurocisticercosis humana se encuentra muy raramente en las necropsias de niños, y la mayoría de los casos neurológicos sintomáticos corresponden a adultos.[5,7,15] Se especula que esta predilección de la neurocisticercosis por jóvenes y adultos refleja el curso crónico de la enfermedad.

Es pues evidente cuán incompleto y hasta incierto en algunos aspectos es el conocimiento sobre la cisticercosis, y cuán aventurada parecería la aplicación de medidas de control apoyadas en tantas debilidades. Si bien puede defenderse —Aline Aluja mejor que nadie— el argumento de que la cisticercosis se asocia fuertemente al subdesarrollo social, y entonces cabría esperar su consecuente desaparición con el desarrollo cabal de México, el conocimiento que hay sobre su biología y epidemiología no está libre de dudas, ni es suficiente aún como para esperar interrumpir exitosamente la trasmisión con alguna medida específica de intervención sanitarista, tipo vacuna o tratamientos masivos.

La Encuesta Nacional Seroepidemiológica (ENSE) de 1987-1988, tan cuidadosamente diseñada y laboriosamente levantada, que incluye numerosas variables de orden biológico, geográfico, social, económico y educativo, brinda una excelente oportunidad para examinar la validez de algunas de las hipótesis mencionadas, así

como para descubrir factores únicos o agrupados que se asocien al riesgo de contraer cisticercosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó con base en el diseño metodológico y operativo del Sistema de Encuestas Nacionales de Salud (SENS), establecido por la Dirección General de Epidemiología a partir de 1985. Para ello, se integró un Marco Muestral Maestro (MMM) de viviendas, en colaboración con el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática y con los gobiernos de los estados.[39,40] Por otro lado, para el levantamiento, manejo y conservación de los sueros y la formación del banco nacional se tuvo como base la experiencia nacional sobre encuestas serológicas así como las recomendaciones de la OMS en la materia.[41,42] Los detalles sobre los padecimientos estudiados, el universo de estudio, el marco muestral, el diseño muestral, el tamaño de la muestra, las variables e instrumentos de recolección y la organización operativa se describen ampliamente en los artículos iniciales de este número de *Salud Pública de México*.

Población estudiada

El estudio se llevó a cabo en 66 754 sueros de la población mexicana, de uno a 98 años de edad, descartándose algunos porque no se tenía completo su expediente. La muestra fue representativa de todas las entidades federativas del país, de los distintos estratos socioeconómicos y de los asentamientos urbanos y rurales. También se examinó la correlación entre la seroprevalencia de la cisticercosis y la de los otros padecimientos estudiados por la ENSE para analizar la existencia de riesgos asociados. En el caso de la cisticercosis, se optó por probar la totalidad de los sueros, a fin de evaluar las hipótesis principales sobre factores de riesgo e identificar factores aislados o agrupados hasta ahora insospechados.

Serología

Por lo general, los métodos serológicos detectan anticuerpos circulantes en la sangre del donador, y de su presencia se infiere que éste ha estado en contacto con los antígenos específicos algún tiempo antes de la toma de la muestra de sangre. Es así como la serología raramente establece un diagnóstico en forma definitiva; más bien lo configura en asociación con datos clínicos y epidemiológicos. Una excepción notable a este principio es el diagnóstico de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana adquirida, que se establece por métodos serológicos, aun en ausencia de datos clínicos y epidemiológicos y ante repetidos intentos infructuosos para aislar al virus en ese mismo individuo.[43] Pero la cisticercosis humana por *T. solium* no escapa a la regla general: la serología positiva para anticuerpos anticisticerco sólo fortalece el diagnóstico de neurocisticercosis en pacientes con sintomatología neurológica residentes de un área endémica; aun así, lo fortalece en un grado variable según diversos aspectos técnicos y teóricos todavía por dilucidarse.

El hallazgo de anticuerpos en una persona asintomática no establece el diagnóstico de neurocisticercosis; se puede tratar de cisticercosis localizada en algún otro órgano —músculo esquelético, por ejemplo— o ya resuelta por destrucción del parásito pero cuyos anticuerpos aún subsisten en la circulación. Por ello, la serología positiva para la cisticercosis en la población abierta solamente documenta la experiencia de un contacto entre el donador de la sangre y los antígenos de la *T. solium*, sea ésta en forma de huevecillos, cisticercos o gusanos adultos,[44,45] en un tiempo no necesariamente contemporáneo a la toma de la muestra de sangre. Y aun así, la documentación del contacto se ve condicionada a que no se trate de una reacción cruzada con algún céstodo relacionado, como *Echinococcus granulosus*.[46] Claro que, presumiéndose que la hidatidosis es prácticamente inexistente en México,[47] la serología positiva para cisticercosis adquiere un significado más específico.

La detección de esta enfermedad se realiza por todas las técnicas inmunológicas existentes y siempre con mezclas de antígenos, aunque de diversa complejidad y con variadas propiedades de reactividad inmunológica.[43,45-47] Sin embargo, la literatura documenta que con cualquiera puede llegarse a niveles altos de especificidad y sensibilidad (95-98%), siempre que se evalúe con sueros control positivos y negativos seleccionados entre enfermos neurocisticercosos confirmados y donadores muy probablemente sanos residentes en el área endémica.

El inmunodiagnóstico actual aspira teóricamente a valores predictivos positivos de aproximadamente 80 por ciento para neurocisticercosos entre la población de enfermos neurológicos, aunque en la práctica ha demostrado ser considerablemente menor: 30 por ciento.[45] El

valor predictivo positivo de la serología para contacto con los antígenos de *T. solium* en la población abierta no se ha determinado; su evaluación se dificulta por la cisticercosis asintomática extracerebral y por los casos de parasitosis resuelta en cualquiera de sus localizaciones, que son muy difíciles y hasta imposibles de documentar con certidumbre. Así, mientras se resuelven estos asuntos, se tomará a la serología positiva en la población abierta como indicativa de contacto con *T. solium*, aunque no de caso de teniasis o cisticercosis.

Dado que se preveía analizar la totalidad de los sueros de la ENSE, y tomando en cuenta los costos del ELISA en una muestra tan numerosa, se optó por hacerlo con hemaglutinación indirecta (HAI), primero como prueba tamiz, a una sola dilución del suero 1:40, siguiendo métodos convencionales publicados con anterioridad.[49] La dilución 1:40 se tomó como nivel de corte para declarar al suero como sospechoso con base en la distribución de los valores para HAI en colecciones de sueros de donadores probablemente negativos. Los sospechosos fueron entonces sometidos a una curva completa de HAI, desde 1:20 hasta 1:640. De éstos, los que no se repitieron a títulos de 1:40 o mayores en la curva de hemaglutinación fueron considerados serológicamente negativos, mientras que los que sí repitieron calificaron como serológicamente positivos. Sin embargo, en vista de que en los estudios de verificación y reproducibilidad de resultados fueron los sueros positivos de 1:40 los que más frecuentemente decaían a negativos, todos los análisis estadísticos se realizaron tomando como positivos sólo a los sueros con hemaglutinación igual o mayor a 1:80.

Los positivos y una submuestra numerosa de negativos de cada entidad fueron después analizados por *Western Blot* e *Inmunoplot*[46] para profundizar en el análisis de los antígenos que tienen que ver con la seropositividad. En esta publicación se presentarán solamente los resultados con hemaglutinación indirecta. Los sueros se procesaron a lo largo de 18 meses, en lotes de 500 a 600 sueros por sesión de prueba tamiz y por decenas en la curva completa de HAI.

Los eritrocitos de carnero empleados en la hemaglutinación se sensibilizaron con antígenos del fluido vesicular de cisticercos de la *T. solium* disecados de cerdos parasitados, según métodos publicados.[49] Cada lote de eritrocitos sensibilizados se probó contra colecciones de sueros control positivos y negativos, y se rechazaron aquellos lotes que diferían en títulos de aglutinación con sueros estándar positivo y negativo. Además, en cada sesión de trabajo se incluyeron controles positivos y negativos para cada placa de 96 pozos, y se invalidó la totalidad de los resultados en la placa ante valores insólitos en los controles.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se estimaron las tasas de seroprevalencia según cada una de las variables. Posteriormente, se utilizó la razón de momios (RM) e intervalos de confianza al 95 por ciento ($IC_{95\%}$) para conocer el grado de asociación. Para la evaluación de las pruebas estadísticas se emplearon los paquetes DB III-plus en el manejo de los datos, y SAS para la frecuencia y pruebas de significancia estadística.

Las principales hipótesis que se desprenden del pensamiento actual sobre la trasmisión de la cisticercosis y sobre la reactividad inmunológica, resumidas en la introducción, y que aquí se pondrán a prueba, se refieren a la existencia de diferencias significativas en el nivel de seroprevalencia asociadas a la geografía, al grado de urbanización, al nivel socioeconómico y cultural, a la calidad de la vivienda, a la convivencia con un teniásico, a la edad y al sexo. También se examinó la correlación existente entre la seroprevalencia de la cisticercosis y la de las otras 14 enfermedades estudiadas por la ENSE a fin de evaluar la existencia de riesgos asociados.

RESULTADOS

GEOGRAFÍA

El cuadro I muestra los valores de seroprevalencia para cada entidad de México, con los que se sombrea el mapa del país (figura 1) con tres tonalidades de gris, según los niveles de seroprevalencia: bajo, con rango de 0.05 a 0.09 por ciento; medio, entre 1 y 1.9 por ciento, y alto, con 1.9 a 2 por ciento. La seroprevalencia global fue de 1.2 por ciento, con grandes y significativas diferencias según los estados, que varían desde 0.06 hasta 2.97 por ciento. El mapa indica que los niveles más altos se localizan en la región centro-occidental y el sureste, mientras que el norte y el este están menos afectados. Es de notarse la inclusión del Distrito Federal con 2.95 por ciento en la categoría de alto nivel de seroprevalencia, superado únicamente por Guerrero con 2.97.

CUADRO I
Seroprevalencia de anticuerpos por entidad federativa, México 1987-1988

Entidad	Población muestral	Seropositivos[a] Población	Porcentaje
Baja California Sur	1 739	1	0.06
Sonora	2 251	5	0.22
Baja California	1 605	5	0.31
Tabasco	2 958	10	0.34
San Luis Potosí	2 125	10	0.47
Tlaxcala	1 434	7	0.49
Nuevo León	3 174	16	0.50
Tamaulipas	1 937	10	0.52
Veracruz	2 257	12	0.53
Coahuila	1 997	12	0.60
Oaxaca	1 709	12	0.70
Sinaloa	2 292	17	0.74
Chihuahua	2 194	17	0.77
Querétaro	1 642	13	0.79
Campeche	1 541	13	0.84
Morelos	1 254	13	1.04
Chiapas	1 912	20	1.05
Hidalgo	2 042	23	1.13
Estado de México	2 837	34	1.20
Yucatán	1 775	23	1.30
Colima	1 703	23	1.35
Puebla	2 814	38	1.35
Michoacán	2 036	29	1.42
Quintana Roo	1 515	22	1.45
Aguascalientes	1 518	24	1.58
Durango	1 963	31	1.58
Nayarit	1 474	30	2.04
Jalisco	3 563	75	2.10
Guanajuato	2 970	66	2.22
Zacatecas	2 162	58	2.73
Distrito Federal	2 644	78	2.95
Guerrero	1 717	51	2.97
Total	66 754	709	1.20

a Títulos por HAI ≥1:80

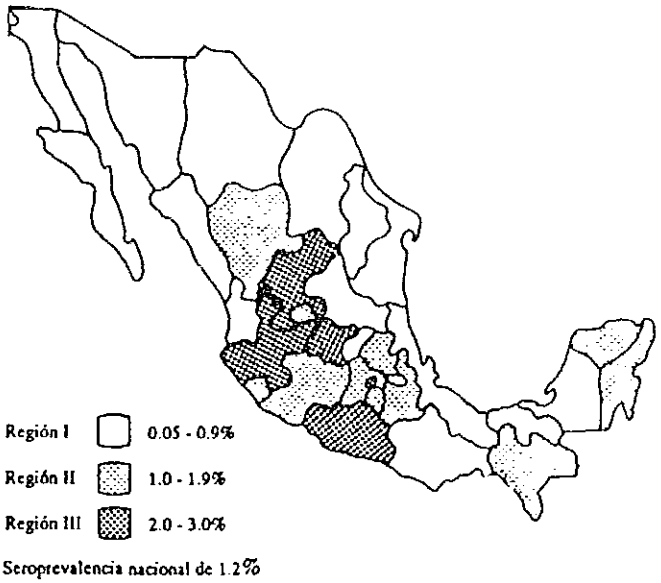


FIGURA 1. Población de 1 a 98 años según seroprevalencia de anticuerpos por entidad federativa, México 1987-1988

URBANIZACIÓN

El cuadro II muestra el contraste en la seroprevalencia a la cisticercosis entre el medio urbano (1.1%) y el rural (1.4%). El contraste favorece al segundo a razón de 30 por ciento con significancia estadística superior a 99 por ciento de confianza (RM=1.3; $IC_{95\%}$ 1.1-1.5).

SOCIOECONÓMICO

Se distinguieron tres niveles socioeconómicos —alto, mediano y bajo—, según el indicador de las condiciones de la vivienda, el nivel de hacinamiento y el de escolaridad del jefe del grupo doméstico. En el nivel socioeconómico alto se ubicó a quien clasificara bien en los tres índices; en nivel bajo, a quien lo hiciera mal en los mismos, y en el medio al resto. El cuadro III muestra la tendencia al incremento de la seroprevalencia según se desciende a los niveles socioeconómicos menos privilegiados, desde 0.9 por ciento para el nivel alto hasta 1.5 por ciento para el bajo, a razón de 70 por ciento (RM=1.7; $IC_{95\%}$ 1.4-2.1).

ESCOLARIDAD

La escolaridad se clasificó en analfabeta o con primaria incompleta, primaria terminada y secundaria o más. Así, en el análisis de esta variable se excluyó a la población menor de seis años. El cuadro IV muestra que la seropre-

CUADRO II
Seroprevalencia de anticuerpos según lugar de residencia, México 1987-1988

Lugar de residencia	Población muestral	Seropositivos[a] Población	Porcentaje	RM ($IC_{95\%}$)[b]
Urbano	36 766	389	1.1	------
Rural	29 988	410	1.4	1.3 (1.1-1.5)
Total	66 754	799	1.2	------

a Títulos por HAI ≥1:80
b Razón de momios de Mantel-Haentzel, con intervalo de confianza al 95%.

CUADRO III
Seroprevalencia de anticuerpos según nivel socioeconómico, México 1987-1988

Nivel socioeconómico	Población muestral	Seropositivos[a] Población	Porcentaje	RM ($IC_{95\%}$)[b]
Alto	23 945	216	0.9	------
Medio	17 594	202	1.1	1.2 (1.1-1.5)
Bajo	25 215	381	1.5	1.7 (1.4-2.1)
Total	66 754	799	1.2	------

a Títulos por HAI ≥1:80
b Razón de momios de Mantel-Haentzel, con intervalos de confianza al 95%

valencia es más alta entre los donadores de menor escolaridad y tiende a disminuir conforme aumenta el grado de escolaridad, desde 1.4 hasta 1 por ciento, a razón de 40 por ciento (RM=1.4; $IC_{95\%}$ 1.2-1.7).

VIVIENDA

Las condiciones de las viviendas se clasificaron según el índice de hacinamiento, el material del piso, la calidad del agua de consumo y el tipo de disposición de excretas. Fueron clasificadas como buenas si calificaban alto en las cuatro características, como malas si sólo reunieron una o ninguna de las características mencionadas, y de regulares las demás. La mayor parte de las viviendas resultaron ser buenas (45.6%) o regulares (42.2%), y sólo una minoría (12.1%) malas. Aun así, la clasificación distinguió una menor seroprevalencia en las buenas condiciones de vivienda (0.9%) que en las regulares

CUADRO IV
Seroprevalencia de anticuerpos según nivel de escolaridad, México 1987-1988

Nivel de escolaridad	Población muestral	Seropositivos[a] Población	Porcentaje	RM ($IC_{95\%}$)[b]
Ningún año y primaria incompleta	33 335	454	1.4	1.4 (1.2-1.7)
Primaria completa	10 505	135	1.3	1.3 (1.1-1.7)
Secundaria y más	14 896	148	1.0	------
No sabe o no respondió	647	6	0.9	------
Total	59 383	743	1.2	------

a Títulos por HAI ≥1:80
b Razón de momios de Mantel-Haentzel, con intervalo de confianza al 95%

(1.4%) y en las malas (1.3%), a razón de 50 por ciento (cuadro V) (RM=1.5; $IC_{95\%}$ 1.3-1.8).

ENTORNO FAMILIAR INMEDIATO

El impacto del entorno inmediato (convivencia con un teniásico) sobre la seroprevalencia se estudió de dos maneras, ambas indirectas: a) según la distribución de casos por vivienda (cuadro VI), y b) según la existencia de una asociación positiva entre seroprevalencia y hacinamiento en la vivienda (cuadro VII). Los resultados indican que la mayor parte (aproximadamente 90%) de los seropositivos se distribuyen uno en cada vivienda mientras el resto se congrega en dos o más por cada

CUADRO V
Seroprevalencia de anticuerpos según índice de condiciones de la vivienda, México 1987-1988

Indice de condiciones de la vivienda	Población muestral	Seropositivos[a] Población	Porcentaje	RM ($IC_{95\%}$)[b]
Bueno	30 470	288	0.9	------
Regular	28 197	409	1.4	1.5 (1.3-1.8)
Malo	8 087	102	1.3	1.3 (1.1-1.7)
Total	66 754	799	1.2	------

a Títulos por HAI ≥1:80
b Razón de momios de Mantel-Haentzel, con intervalo de confianza al 95%

CUADRO VI
Distribución de casos por vivienda según entidad federativa, México 1987-1988

Entidad	Viviendas con tres o más donantes	Un caso (positivo[a]) por vivienda		Dos o más casos (positivos[a]) por vivienda	
		Casos	Porcentaje	Casos	Porcentaje
Aguascalientes	259	51	19.7	7	2.7
Baja California	263	14	5.3	1	0.4
Baja California Sur	314	14	4.5	1	0.3
Campeche	281	45	16.0	4	1.4
Coahuila	352	54	15.3	12	3.4
Colima	302	63	20.9	5	1.7
Chiapas	328	34	10.4	2	0.6
Chihuahua	387	74	19.1	11	2.8
Distrito Federal	475	128	26.9	26	5.5
Durango	353	49	13.9	6	1.7
Guanajuato	503	111	22.1	30	6.0
Guerrero	300	91	30.3	14	4.7
Hidalgo	363	52	14.3	7	1.9
Jalisco	596	114	19.1	13	2.2
Estado de México	509	43	8.4	4	0.8
Michoacán	349	66	18.9	12	3.4
Morelos	222	31	14.0	5	2.3
Nayarit	245	55	22.4	7	2.9
Nuevo León	537	49	9.1	6	1.1
Oaxaca	291	36	12.4	4	1.4
Puebla	469	70	14.9	12	2.6
Querétaro	286	34	11.9	3	1.1
Quintana Roo	263	46	17.5	5	1.9
San Luis Potosí	377	25	6.6	0	0.0
Sinaloa	401	36	9.0	5	1.3
Sonora	417	37	8.9	2	0.5
Tabasco	507	30	5.9	1	0.2
Tamaulipas	347	51	14.7	18	5.2
Tlaxcala	254	16	6.3	1	0.4
Veracruz	396	52	13.1	4	1.0
Yucatán	314	66	21.0	9	2.9
Zacatecas	354	109	30.8	16	4.5
Total	11 611	1 746	15.0	253	2.2

a Títulos por HAI $\geq$1:80

vivienda (cuadro VI), y que la seroprevalencia es cerca de dos veces mayor en condiciones de hacinamiento que en viviendas no hacinadas, midiéndose esto según si el cociente de habitantes por dormitorio es mayor o menor a dos.

CUADRO VII
Seroprevalencia de anticuerpos según nivel de hacinamiento, México 1987-1988

Nivel de hacinamiento	Población muestral	Seropositivos[a] Población	Porcentaje	RM ($IC_{95\%}$)[b]
Hacinado (3 o más personas por dormitorio)	49 207	619	1.26	1.23 (1.1-1.5)
No hacinados (hasta 2.9 personas por dormitorio)	17 547	180	1.01	------

a Títulos por HAI ≥1:80
b Razón de momios de Mante-Haentzel, con intervalo de confianza al 95%

Edad

El valor de la seroprevalencia mostró cambios significativos según la edad de los donadores: se identifica una tendencia al descenso en las primeras cinco décadas, desde 1.1 hasta 0.8 por ciento (-37%), y luego un ascenso en las últimas cinco décadas, desde 0.8 a 2.3 por ciento (+87%) (cuadro VIII).

Sexo

La tasa de seroprevalencia en las mujeres (1.3%) fue 30 por ciento mayor que la de los hombres (1%) (cuadro IX), si bien los títulos de anticuerpos en hombres y mujeres seropositivos fueron similares (RM=1.24; $IC_{95\%}$ 1.1-1.4).

Riesgos asociados

La posibilidad de que algunas de las enfermedades cuya seroprevalencia se incluyó en la ENSE estén propiciadas por los mismos factores se estudió por medio de correlación lineal entre la tasa de cisticercosis y la de las demás enfermedades en cada una de las entidades federativas. En estos estudios se pudo constatar que ninguna se asocia significativamente con la de cisticercosis.

CUADRO VIII
Seroprevalencia de anticuerpos según grupos de edad, México 1987-1988

Grupo de edad (años)	Población Muestral	Seropositivos[a] Población	Porcentaje
1- 9	15 553	167	1.1
10-19	18 114	264	1.5
20-29	10 520	125	1.2
30-39	7 951	83	1.0
40-49	5 534	42	0.8
50-59	4 038	49	1.2
60-69	2 800	29	1.0
70-79	1 496	23	1.5
80 y más	748	17	2.3
Total	66 754	799	1.2

a Títulos por HAI ≥1:80

DISCUSIÓN

La distribución geográfica de la seroprevalencia de la cisticercosis fortalece la idea de que la región centro-occidental y el sureste de México son las zonas de mayor riesgo del país. Sería especular el suponer que esto se debe a la intensidad y características rústicas de la porcicultura y horticultura en el área, aunque sería consistente con el ciclo biológico del parásito. La alta sero-

CUADRO IX
Seroprevalencia de anticuerpos según sexo, México 1987-1988

Sexo	Población muestral	Seropositivos[a] Población	Porcentaje	RM ($IC_{95\%}$)[b]
Masculino	27 586	290	1.0	------
Femenino	39 168	509	1.3	1.24 (1.1-1.4)
Total	66 754	799	1.2	------

a Títulos por HAI ≥1:80
b Razón de momios de Mantel-Haentzel, con intervalo de confianza al 95%

prevalencia del Distrito Federal (2.95%) arguye enfáticamente en contra de las explicaciones fáciles; se puede pensar que es el reflejo de la migración de los habitantes de esas mismas regiones del campo a la capital, o bien manifestación de un reajuste de parámetros en el sistema de trasmisión del parásito consecuente con la alta densidad de población en el área metropolitana y con las condiciones deficientes de vida en las ciudades perdidas.

En cuanto a los factores socioeconómicos, la seroprevalencia de la cisticercosis claramente identifica como especialmente riesgosos a todos aquéllos relacionados con el subdesarrollo social —deficiente escolaridad, vivienda en malas condiciones, ruralidad, hacinamiento—, pero también señala enfáticamente que en México el riesgo de contacto con *T. solium* no es despreciable ni para los estratos sociales más privilegiados. Tan es así que la significancia estadística de estos factores se alcanza gracias al tamaño de la muestra y no por la magnitud de las diferencias entre los niveles altos y bajos, que siempre fueron inferiores al doble.

La distribución de casos por vivienda favoreció a la individual —cerca del 90 por ciento de los casos se encontraron de uno por cada vivienda— pero no fue raro encontrar más de uno, y aun varios de cuatro a cinco en una sola unidad habitacional. Esta distribución de casos parece indicar dos mecanismos de contacto. Uno, el principal, que trasciende al entorno íntimo y podría relacionarse con las condiciones sanitarias globales de México, sobre todo las referentes a la contaminación fecal del ambiente, que propiciarían el riesgo de contacto sin mayor discriminación. Y otro, de menor impacto, que se relaciona con el entorno familiar, donde la calidad de la vivienda o la presencia de un teniásico en el grupo familiar bien podrían resultar las principales determinantes del riesgo.

La seroprevalencia varió también con la edad y el sexo, favoreciendo a las mujeres y a las edades tempranas y tardías. Tal como ocurrió en los factores de orden social y geográfico, las diferencias en seroprevalencia entre sexos y edades fueron estadísticamente significativas pero pequeñas, menores al doble. No faltarían argumentos para apoyar que estas diferencias serológicas surgen propiamente de las existentes en reactividad inmunológica de hombres y mujeres, niños y viejos,[48,49] pero tampoco sería insólito atribuirlas a las diferencias sociales del sexo y la edad. Podría, por ejemplo, atribuirse la mayor seroprevalencia de los niños a su mayor cercanía con los suelos contaminados y, junto con los más viejos, a la continuidad de su presencia en la vivienda, exponiéndose así más peligrosamente a condiciones de vida que propician el contacto. Perturba un poco que la seroprevalencia de cisticercosis no se pudiera correlacionar con la de ninguna otra de las enfermedades evaluadas en la encuesta hasta la fecha. Cabría esperar que lo hiciera al menos con la amibiasis, tan relacionada también con la contaminación fecal del

ambiente. Pero, por otra parte, el resultado tranquiliza las inquietudes de reactividad cruzada con otros antígenos o epítopes en circulación en el medio nacional.

Así pues, la lección más importante que se deriva de este estudio es que el riesgo de contacto con la *T. solium*, según lo indica la seroprevalencia, está ampliamente distribuido en toda la República Mexicana, en todos sus estratos sociales, incluyendo los más privilegiados, en todas sus edades y en ambos sexos. Hay diferencias, sí, que desfavorecen al centro y sureste del país, a los más desvalidos, a las mujeres, a los niños y a los viejos, pero son mínimas. En consecuencia, si se derivaran de este estudio normas para el control de su trasmisión, vale la pena señalar que éstas deben enfocarse a la totalidad de la comunidad y a la elevación integral de las condiciones de vida y salubridad del país, y no a grupos concretos y medidas específicas.

REFERENCIAS

1. Aluja A, Escobar A, Escobedo F, Flisser A, Laclette JP, Larralde C, Madrazo I, Velázquez V, Willms K. Cisticercosis. Una recopilación actualizada de los conocimientos básicos para el manejo y control de la cisticercosis causada por *Taenia solium*. México, D.F.: FCE, 1987.
2. Velasco Suárez M, Bravo MA, Quirasco F. Human cysticercosis: medical implication and economic impact. En: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, ed. Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives. Nueva York: Academic Press, 1982:47-52.
3. Albores-Saavedra J, Altamirano-Dimas M. Algunas consideraciones sobre 9412 autopsias realizadas en el Hospital General de México. Gac Med Mex 1971;102: 193-203.
4. Rabiela MT, Rivas A, Rodríguez IJ. Consideraciones anatomopatológicas de la cisticercosis cerebral como causa de muerte. Patología 1979;17:119-136.
5. Zenteno G. Aspectos quirúrgicos de 2 000 personas internadas en la Unidad de Neurología y Neurocirugía, Hospital General de México, SSA, 1959-1963. Rev Med Hosp Gral Mex 1965;28:515-521.
6. Del Brutto OH, Sotelo J. Neurocysticercosis: an update. Rev Infect Dis 1988;10(6):1075-1087.
7. Schenone H, Villarroel F, Rojas A, Ramírez R. En: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, ed. Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives. Nueva York: Academic Press, 1982.
8. Dumas M, Grunitzky K, Belo M, Dabis F, Deniau M, Bouteille B, Kassankgno Y, Catanzano G, Alexandre MP. Epidemiological study of cysticercosis and neurocysticercosis in North Togo. Soc Path Exo Fiuliales 1990;33(2):263-274.
9. Fritzsche M, Gottstein B, Wigglesworth MC, Eckert J. Serological survey of human cysticercosis in Irianese refugee camps in Papua New Guinea. Acta Trop Dis 1990;47(2):69-77.
10. Varma TK, Ahluwalia SS. Incidence of cysticercus cellulosae in slaughtered pigs and human taeniasis in western and central Uttar Pradesh. Indian Vet J 1989;66(7): 673-674.
11. Wei GZ, Li CJ, Meng JM, Ding MC. Cysticercosis of central nervous system. A study of 1 400 cases. Chinese Med J 1988;101(7):493-500.
12. Nieto D. Historical notes on cysticercosis. En: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, ed. Cysticercosis: Present state of knowledge and perspectives. Nueva York: Academic Press, 1982.
13. Belding DL. Textbook of parasitology. 3a ed. Nueva York: Appleton-Century-Crofts, 1965.
14. Flisser A, Bulnes I, Díaz ML, Luna R, Woodhouse E, Beltrán F, Martínez I, Larralde C. Estudio seroepidemiológico de la cisticercosis humana en poblaciones predominantemente indígenas y rurales del estado de Chiapas. Arch Invest Med (Mex) 1976;7:107.
15. Woodhouse E, Flisser A, Larralde C. Seroepidemiology

of human cysticercosis in Mexico. En: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, ed. Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives. Nueva York: Academic Press, 1982:11-23.
16. Pokrovskii SN, Zima GG. Flies as carriers of tape worm eggs under natural conditions. Med Parasitol (Moscow) 1938;7:262.
17. Richards FO, Schantz PM, Ruiz Tiben E, Servillo FJ. Cysticercosis in Los Angeles County. J Am Med Assoc 1985;254:34-44.
18. Earnest MP, Reller LB, Fillexy CM, Grek AJ. Neurocysticercosis in the United States: 35 cases and a review. Rev Infect Dis 1987;9:961-979.
19. Mazzoti L. Presencia de huevecillos de taenia en región perianal. Rev Ins Sal Trop Mex 1974;10:183-202.
20. Gemmell M, Matyas Z, Pawlowski Z, Soulsby E, Larralde C, Nelso GS, Rosicky B, ed. Guidelines for surveillance prevention and control of taenia/cysticercosis. Geneva: WHO, 1985.
21. Díaz-Camacho S, Cañdil-Ruíz A, Uribe-Beltrán M, Willms K. Serology as an indicator of *Taenia solium* tapeworm infections in a rural community in Mexico. Royal Soc Trop Med Hrg 1990;84(4):563-566.
22. Aluja A. Frequency of porcine cysticercosis in Mexico. En: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, ed. Cysticercosis: present state of Knowledge and perspectives. Nueva York: Academic Press, 1982:53-62.
23. Sarti-Gutiérrez EJ, Schantz PM, Lara-Aguilera R, Gómez-Dandoy HJ, Flisser A. *Taenia solium*, teniasis and cysticercosis in a Mexican Village. Trop Med Parasitol 1988;39:194-198.
24. Blacklock DB, Mac Arthur WP. Cysticercosis as seen in the British Army, with special reference to the production of epilepsy. Transac Roy Soc Trop Med Hrg 1934;66:697-708.
25. Dixon BT, Hargeaves WH. Cysticercosis (*Taenia solium*). A further ten years clinical study covering 284 cases. Q J Med 1944;13:107-121.
26. Keilbach M, Aluja AS, Gutiérrez E. A programme to control taeniasis cysticercosis (*T. solium*): experiences in Mexican village. Acta Leidensiva 1989;57(2): 181-190.
27. Salazar-Schettino PM. Estudios sobre algunos aspectos biológicos de la cisticercosis. En: Flisser A, Malagón F, ed. Cisticercosis humana y porcina. México, D.F.: CONACYT, 1987.
28. Correa D, Godorezky C, Castro L, Rabiela MT, Fliser A. Detection of MHC products on the surface of *Taenia solium* cysticerci from humans. Rev Latinoam Microbiol 1986;28:373-379.
29. Trejo V, Talams O, Granados G, Castro L, Rabiela MT, Sotelo J, Godorezky C. What is the significance of the presence of MHC molecules on the surface of parasites in human neurocysticercosis? J Immunogenetics 1989;16(6):427-436.
30. Sciutto E, Fragoso G, Díaz ML, Valdez F, Montoya RM, Govesensky T, Lomeli C, Larralde C. Murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. H-2 and sex influence on susceptibility. Parasitol Res 1991;77:243-246.
31. Klein S. H-2 complex. Natural history of the major histocompatibility complex. USA: A Wiley-Interscience Publication, 1986:50-73.
32. Ridaura C. Cisticercosis en observaciones en material postmortem. En: Flisser, Mondragón, ed. Cisticercosis humana y porcina: su conocimiento e investigación en México. México, D.F.: Editorial Limusa, 1989.
33. Flisser A, Rivera L, Trueba J, Espinoza B, Yakoleff-Greenhouse V, Sierra A, Larralde C. Immunology of human cysticercosis. En: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, ed. Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives. Nueva York: Academic Press, 1982.
34. Márquez MH, Austria B. Cisticercosis en el Hospital General de México: estudio anatomopatológico de 165 casos. Rev Latinoam Pat 1969;88:79-86.
35. Flisser A, Pérez MR, Larralde C. The immunology of human and animal cysticercosis. Bull WHO 1979;55: 839-856.
36. Sciutto E, Fragoso G, Trueba L, Lemus D, Montoya RM, Díaz ML, Govezensk T, Lomeli C, Tapia G, Larralde C. Cysticercosis vaccine: cross protecting immunity with *T. solium* antigens against experimental murine *T. crassiceps* cysticercosis. Parasit Immunol 1990;12: 687-696.
37. Aluja A, Varga G. The histopathology of porcine cysticercosis. Vet Parasitol 1988;25:65-77.
38. Del Brutto O, García E, Talamas O, Sotelo J. Sex related severity of inflammation in parenquimal brain cysticercosis. Arch Intern Med 1988;48:544-546.
39. Gutiérrez G, Sepúlveda J, Tapia-Conyer R, Pérez R, Solache G, Valdespino JL. Encuesta Nacional Seroepidemiológica. I. Diseño conceptual y metodológico. Salud Publica Mex 1988;30(6):836-842.
40. Tapia-Conyer R, Sepúlveda J, Solache G, Gutiérrez G, Encuesta Nacional Seroepidemiológica II. Diseño operativo. Salud Publica Mex 1988;30(6):843-852.
41. Organización Mundial de la Salud. Encuestas inmunológicas y hematológicas. Ginebra: OMS, 1959.
42. Organización Mundial de la Salud. Encuestas serológicas múltiples y bancos de la OMS para sueros de referencia. Ginebra: OMS, 1970.
43. Duesberg P. Human immunodeficiency virus and acquired immunodeficiency syndrome: correlation but

causation. Proc Natl Acad Sci 1989;86:755-764.
44. Sotelo J. ELISA en el diagnóstico de neurocisticercosis. En: CONACYT. Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México. CONACYT, 1989:165-167.
45. Larralde C. Valor predictivo de la seroepidemiología. Memorias del III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. IX Congreso Nacional de Parasitología; 1990; México, D.F.
46. Larralde C, Montoya RM, Sciutto E, Díaz ML, Govezensky T, Coltorti E. Deciphering Western Blots of tapeworm antigens (*Taenia solium, Echniococcis granulosus* and *Taenia crassiceps*) reacting with sera from neurocysticercosis and hydatid disease patients. Am J Trop Med Hrg 1989;40(3):282.
47. Cruz-Reyes A, Tavisori P, D'Alessandro A. Development of adults *Echinolcoccus granulosus* from hydatids of naturally infected pigs. Memorias del VII International Congress of Parasitology; 1990; Paris.
48. Flisser A, Larralde C. Cysticercosis. En: Walls KF, Schwarts PM. Immunodiagnosis of parasitic diseases. New York: Academic Press, 1986.
49. Larralde C, Laclette JP, Owen CS, Madrazo I, Sandoval M, Bojalil R, Sciutto E, Conteras L, Arzate J, Díaz ML, Govezensky T, Montoya RM, Goodsaid F. Reilable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and hemaglutination test. Am J Trop Med Hrg, 1986;35(5):965-973.
50. Tsang VCW, Band JA, Boyer AE. An enzime-linked immuoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosis human cysticercosis (*Taenia solium*) Infect Dis 1989;159(1):50-59.
51. Ansar Ahmed S, Pnehale WJ, Talal N. Sex hormones, immune responses and autoimmune diseases. Mechanism of sex hormone action. Am J Pathol 1986;121:531-551.
52. Michaels RH, Rogers KD. Sex difference in immunologic responsivenes. Pediatrics 1971;47:120-123.

Immunodiagnosis of Human Cysticercosis in Cerebrospinal Fluid

Antigens From Murine *Taenia crassiceps* Cysticerci Effectively Substitute Those From Porcine *Taenia solium*

Carlos Larralde, PhD; Julio Sotelo, MD; Rosa M. Montoya, MSc; Guadalupe Palencia; Alejandro Padilla; Tzipe Govezensky; María L. Diaz; Edda Sciutto, MSc

• **Tapeworm antigens from *Taenia crassiceps* performed as well as those antigens from *Taenia solium* in an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Cysticercus* antibodies in 96 cerebrospinal fluid samples from patients with neurocysticercosis and in 96 CSF samples from patients with other varied neurological ailments. Thus, this manageable murine model of experimental cysticercosis solved the problem of antigen supply for clinical and epidemiological applications, and it provided an immediate means of abundant production of antigens for the wide distribution and standardization of immunodiagnostic tests for cysticercosis.**

(*Arch Pathol Lab Med.* 1990;114: 926-928)

The rising awareness of human neurocysticercosis as a severe, oftenly fatal disease, which is frequently seen in developing countries and their migrating workers, has increased the demand of *Taenia solium* antigens from research and diagnostic laboratories.[1-3] However, the procurement of cysticercotic pigs, the usual source of *T solium* antigens, is difficult due to the clandestine slaughtering and marketing of parasitized pigs in endemic areas. The worldwide availability of synthetic antigens is still in the future. Meanwhile, a practical solution for antigen supply would greatly help research and control programs for cysticercosis everywhere. The recent documentation of extensive sharing of antigens between *Taenia crassiceps* and *T solium*[4,5] led us to evaluate the possibility of substituting *T solium* antigens with those from the laboratory-adapted murine cestode *T crassiceps* ORF strain[6,7] for the immunodiagnosis of neurocysticercosis in cerebrospinal fluid (CSF).

Accepted for publication April 11, 1990.

From the Instituto de Investigaciones Biomedicas, Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico City (Dr Larralde, Mss Montoya, Govezensky, Diaz, and Sciutto and Mr Padilla), and the Instituto Nacional de Neurologia y Neurocirugia de Mexico (Dr Sotelo and Ms Palencia).

Reprint requests to Instituto de Investigaciones Biomedicas, Universidad Nacional Autonoma de Mexico, AP70228, Mexico DF 04510, Mexico (Dr Larralde).

MATERIALS AND METHODS

We studied the correlation in anti-tapeworm antibody reactivity of antigen preparations obtained from *T solium* and from *T crassiceps* in CSF samples that were obtained from patients with confirmed neurocysticercosis and from controls. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) immunological tests were performed blindly by experienced investigators in two laboratories (the Instituto Nacional de Neurologia y Neurocirugia [INNN], and the Instituto de Investigaciones Biomedicas [IIBM], both in Mexico City, Mexico), with each following its own standard procedures on each sample.[8-10] Afterward, the code was revealed, and the results were expressed as *sensitivity* (percent of ELISA-positive results in the CSF samples from confirmed neurocysticercosis cases) and *specificity* (percent of ELISA-negative results in the CSF samples from controls). The optical density (OD) readings at 405 nm of each case were also subjected to correlation analysis between the sources of antigens and between the laboratories.

One hundred ninety-two CSF samples were chosen from the CSF bank of the INNN. Ninety-six CSF samples belonged to confirmed cases of neurocysticercosis as diagnosed by their clinical pictures, by positive ELISA and complement fixation tests in CSF, by computed tomographic scans, and, in some cases, by surgery. In addition, 96 control CSF samples belonged to a comprehensive group of contemporaneous cases of other neurological diseases in which the diagnosis of cysticercosis had been discarded.

The CSF samples were processed by ELISA in the two laboratories, with each following its own techniques that have been published elsewhere.[8-10] The main divergence between the laboratories was that the

INNN utilized an antigen extract from the evaginations of the cysticerci, and it detected simultaneously both IgG and IgM antibodies. The IIBM used, as antigen, the vesicular fluid, and it detected only IgG antibodies. Each CSF sample was tested in duplicate by the INNN and in triplicate by the IIBM. The major technical differences between the ELISA protocols followed by the two laboratories on the CSF samples were as follows: (1) the INNN method used carbonated buffer (0.1 mol/L, pH 9.6) in the coupling of plaques by *T solium* and *T crassiceps* antigens, at a total protein concentration of 0.74 μg per well, 1:1000 goat anti–human IgG and IgM coupled to alkaline phosphatase (Sigma Chemical Co, St Louis, Mo) was used as the second antibody, and the CSF dilution was 1:30 in phosphate-buffered saline solution–polysorbate 80 (Tween), 0.1%; and (2) the IIBM method made the coupling of plaques with *T solium* and *T crassiceps* antigen in different buffers, TRIS–hydrochloric acid (0.01 mol/L, pH 7.5) and phosphate (0.01 mol/L, pH 7.5), respectively; it used a 0.1 μg of total sensitizing protein per well, the second antibody was 1:1000 goat anti–human IgG coupled to alkaline phosphatase (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc, Ridgefield, Conn), and the CSF dilution was 1:10 in phosphate-buffered saline solution–polysorbate 80 (Tween), 0.05%.

RESULTS

The Table shows that antigens from both *T solium* and *T crassiceps* performed equally well in the immunodiagnosis of neurocysticercosis in CSF samples: for *T crassiceps*, the sensitivity values were 92% (IIBM) and 97% (INNN), and the specificity values were 96% (INNN) and 98% (IIBM). Furthermore, ELISA OD readings, obtained with *T solium* antigens, significantly correlated with those obtained with antigens from *T crassiceps*, with the correlations being essentially similar in both laboratories (Figure).

COMMENT

Taenia crassiceps antigens showed as high a sensitivity and specificity as antigens from *T solium* in the immunodiagnosis of human neurocysticercosis in CSF samples. Furthermore, the correlations of ELISA readings on the same CSF samples between laboratories was significant (Figure), indicating the reproducibility of results. Thus, antigens from cysticerci of *T crassiceps* may confidently substitute those from *T solium* in the immunodiagnosis of neurocysticercosis, as was performed in CSF[8] with minor modifications noted herein.

Our results are not immunologically unexpected; the sharing of antigens among many metacestodes has been well documented.[5,11,12] Nonetheless, so highly a comparative performance of *T crassiceps* and *T solium* antigens, assessed in so extensive a series of well-documented neurocysticercotic and control cases, exceeded expectations.

This establishes the murine model of cysticercosis as an alternative source of antigen to be used in the diagnosis of human neurocysticercosis. As *T crassiceps* usually does not infect humans, diagnostic mistakes due to cross-reacting antibodies between both cestodes are not to be expected. Naturally, because of the extensive sharing of antigens among cestodes, crude antigen preparations from any cestode are not expected to discriminate among them. The point of our communication is that one can work with *T crassiceps* antigens instead of those from *T solium* in the regular immunodiagnosis of neurocysticercosis in CSF samples and also in the search of improving the diagnosis by way of antigen purification and in furthering immunological research. In fact, we have already shown cross-protective immunity with *T solium* antigens in mice,[12] and we are beginning to evaluate the vaccination of pigs with the murine *T crassiceps* tapeworm.

Experimental infection with *T crassiceps* is easily accomplished by injecting a few live metacestodes in the peritoneal cavity of recipient mice.[5,7] Each infect-

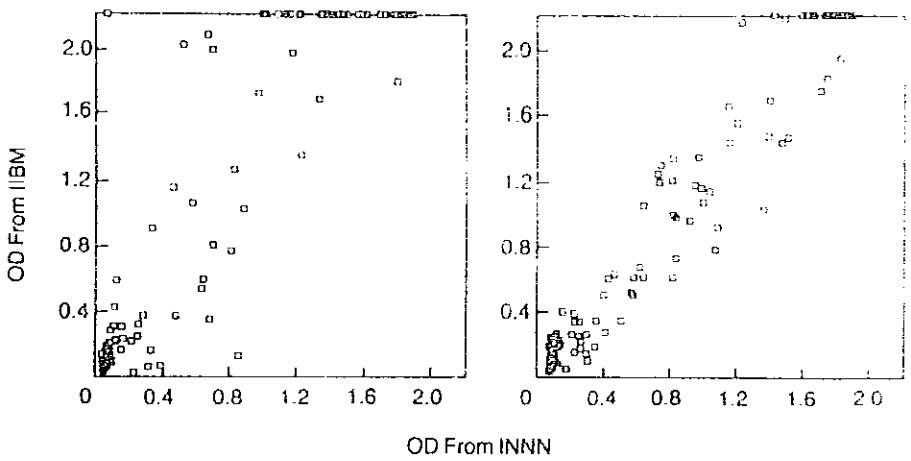
Comparative Performance of *Taenia crassiceps* and *Taenia solium* Antigens in Immunodiagnosis of Human Neurocysticercosis in CSF*

	T solium		*T crassiceps*	
Antigen Source	INNN	IIBM	INNN	IIBM
% sensitivity†	95	95	97	92
% specificity‡	96	98	96	98

*CSF indicates cerebrospinal fluid; INNN, Instituto Nacional de Neurologia y Neurocirugia, Mexico City, Mexico; and IIBM, Instituto de Investigaciones Biomedicas, Mexico City.

†(No. of Positive CSF Samples in Neurocysticercotic Cases/No. of Neurocysticercotic CSF Samples) × 10².

‡[1 − (No. of Positive Samples in Control CSF/No. of Control CSF Samples)] × 10².



Correlation between laboratories in average enzyme-linked immunosorbent assay optical density readings for anti–*Cysticercus* antibodies in 184 cerebrospinal fluid samples, by using antigens from *Taenia solium* (left) and from *Taenia crassiceps* (right). Regression analysis results were as follows: for *T solium* antigens, $R^2 = .89$, intercept = 0.100, slope (SE of slope) = 1.21 (0.03), and $df = 184$; and for *T crassiceps* antigens, $R^2 = .96$, intercept = 0, slope (SE of slope) = 1.21 (0.01), and $df = 184$. A significant correlation of results was found between laboratories with both antigens, but that with *T crassiceps* was a little tighter than that with *T solium*. OD indicates optical density at 405 nm; IIBM, Instituto de Investigaciones Biomedicas, Mexico City, Mexico; INNN, Instituto Nacional de Neurologia y Neurocirugia, Mexico City; open and more solid squares, part of a rigorous algebraic notation (ie, $[x - (1-a)] \times 10$).

of mouse yields grams of antigens in a few weeks, from which large amounts of protein antigens are easily obtained by standard and uncomplicated procedures.[7] Even if individual antigens in a pure form were deemed necessary, the murine parasite offers several of them in quantities that are amenable for purification.[7,9,10] Whether *T crassiceps* also contains the glycoproteins of *T solium*, recently reported to produce 98% sensitive and 100% specific serological results for neurocysticercosis, remains to be elucidated.[13]

An additional argument for the use of *T crassiceps* antigens instead of *T solium* is found in the need to standardize promptly the methods of immunodiagnosis in most laboratories that are presently engaged in medical and epidemiological surveillance for cysticercosis. Large variations of immunological results are to be expected if each laboratory employs its own antigen preparation, partly because of technical variations but also because of the antigenic heterogeneity of *T solium* cysticerci.[14] Besides, in the clinical investigation of a parasitic disease, as diverse of clinical situations as neurocysticercosis,[3,15] we think that a collection of antigens as those shared by cysts from *T crassiceps* and *T solium* will have a greater opportunity to be recognized by immunological variants of the disease than would an isolated antigen.

This project was partially supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México and by the Secretaría de Salud de México, Mexico City.

The live *Taenia crassiceps* ORF strain was obtained gratis from our laboratories (the Instituto de Investigaciones Biomedicas, Mexico City, and the Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Mexico City) and we would assume also from many laboratories in Latin America (E. Coltorti, CEPANZO, Buenos Aires, Argentina), the United States, and Europe that have greatly contributed to the development and study of this parasite.[6,7,11]

The authors are grateful for the secretarial work done by Violeta Aguilar.

References

1. Gemmell M, Soulsby ESL, Pawlowski Z, et al. *Guidelines for Surveillance, Prevention, and Control of Taeniasis/Cysticercosis*. VPH-83.49. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1985:207.

2. Flisser A, Larralde C. Cysticercosis. In: Walls KF, Schantz PM, eds. *Immunodiagnosis of Parasitic Infections*. Orlando, Fla: Academic Press Inc; 1986:109-161.

3. Del Brutto OH, Sotelo J. Neurocysticercosis: an update. *Rev Infect Dis*. 1988;6:1075-1087.

4. Aluja A, Escobar A, Escobedo F, et al. *Cisticercosis*. México City: Biblioteca de la Salud, Instituto Nacional de Salud Pública y Fondo de Cultura Económica; 1987.

5. Larralde C, Montoya RM, Sciutto E, Díaz ML, Govezensky T, Coltorti E. Deciphering Western blots of tapeworm antigens *T solium*, *E granulosus*, and *T crassiceps* reacting with sera from neurocysticercosis and hydatid disease patients. *Am J Trop Med Hyg*. 1989;40:282-290.

6. Freeman RS. Studies of the biology of *Taenia crassiceps*. *Can J Zool*. 1962;40:969-990.

7. Smith KJ, Esch GW, Kuhn RE. Growth and development of larval *Taenia crassiceps* (Cestoda), I: aneuploidy in the anomalous ORF strain. *Int J Parasitol*. 1972;2:261-263.

8. Rosas N, Sotelo J, Nieto D. ELISA in the diagnosis of neurocysticercosis. *Arch Neurol*. 1985;43:353-356.

9. García E, Sotelo J. Storage of cerebrospinal fluid on paper. *Lancet*. 1989;2:1046.

10. Larralde C, Laclette JP, Owen CS, et al. Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and hemagglutination tests. *Am J Trop Med Hyg*. 1986;35:965-973.

11. Gottstein B, Tsang VC, Schantz PM. Demonstration of species-specific and cross-reactive components of *T solium* metacestode antigens. *Am J Trop Med Hyg*. 1986;35:308-313.

12. Shepherd JC, McManus DF. Specific and cross-reactive antigens of *E granulosus* hydatidic cyst fluid. *Mol Biochem Parasitol*. 1987;25:143-154.

13. Sciutto E, Fragoso G, Trueba L, et al. Cysticercosis vaccine: crossprotective immunity with *T solium* cysticercosis. *Parasite Immunol*. In press.

14. Tsang VCW, Joy AB, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosis of human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis*. 1989;159:50-59.

15. Yakoleff-Greenhouse V, Flisser A, Sierra A, Larralde C. Analysis of antigenic variation in cysticerci of *T solium*. *J Parasitol*. 1982;68:39-47.

Printed and Published in the United States of America

Immunodiagnosis of Neurocysticercosis

Disappointing Performance of Serology (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) in an Unbiased Sample of Neurological Patients

Manuel Ramos-Kuri, MD; Rosa Maria Montoya, MSc; Alesandro Padilla; Tzipe Govezensky; Maria Luisa Diaz, Enda Sciutto, PhD; Julio Sotelo, MD; Carlos Larralde, MD

• To ascertain the reliability of serological diagnosis of neurocysticercosis in the everyday a priori situation of neurological consultation, the enzyme-linked immunosorbent assay test was used to predict the eventual diagnosis of neurocysticercosis in an unselected sample of 1064 consecutive neurological cases. Results showed 69% sensitivity and 71% specificity of the enzyme-linked immunosorbent assay test for the diagnosis of neurocysticercosis. In sharp contrast with publications that have proclaimed the excellent diagnostic performance of immunodiagnostic tests, our results suggest that identification of serum antibodies with standard enzyme-linked immunosorbent assay techniques is of little value when applied to a large and heterogeneous group of neurological patients in an endemic area of cysticercosis, and our results urge a reevaluation of currently used immunodiagnostic tests that are practiced in the serum of suspected cases.

(*Arch Neurol.* 1992;49:633-636)

Neurocysticercosis (NCC) is a common parasitosis of the central nervous system in Latin America, Asia, and Africa.[1,2] In Mexico, NCC is the main cause of late-onset epilepsy[3] and a major source of several other neurological disorders.[1,4,5] There is general agreement that its precise diagnosis can be achieved in specialized institutions by the simultaneous use of imaging studies (ie, computed tomographic scans or magnetic resonance imaging) and cerebrospinal fluid (CSF) analysis, which includes immunological tests that are practiced in the CSF, where they apparently achieve a high reliability.[4-6] However, the design of a simple and dependable immunodiagnostic test in serum has long been sought as it would help medical and epidemiological studies. Unfortunately, and despite various attempts using a variety of procedures in conjunction with parasite extracts in semipurified antigen preparations, the total sum of results obtained reflect a confusing range of tests that vary in specificity and sensitivity.[6-12] Indeed, so great is the variation, that the feasibility of an accurate diagnosis of NCC through detection of serum antibodies has been called into question.[4,6,13-16] As a way to settle the issue, we decided to perform routine enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) on serum samples that were obtained from neurological patients who were admitted to the National Institute of Neurology and Neurosurgery of Mexico, Mexico City, during a defined time interval but without knowledge of their presumptive or definitive neurological diagnosis at the time of the test. The sensitivity, specificity, and predictive value of the ELISAs for anticysticercus antibodies were compared a year later with the clinical records of the corresponding patients and their definitive diagnoses.

Accepted for publication December 3, 1991.

From the National Institute of Neurology and Neurosurgery of Mexico, Mexico City (Drs Ramos-Kuri and Sotelo), and the Institute of Biomedical Investigations, National Autonomous University of Mexico, Mexico City (Drs Sciutto, and Larralde, Mss Montoya, Govezensky, and Díaz, and Mr Padilla).

Reprint requests to Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, Apdo Postal 70228, 04510 México, DF México (Dr Larralde).

MATERIALS AND METHODS

Case Grouping and Sampling

Fresh serum samples that were obtained from 1064 patients were collected at random during a 6-month period at the clinical laboratory of the National Institute of Neurology and Neurosurgery of Mexico. The presumptive diagnosis was not known. All samples were tested in triplicate by the standard ELISA test for anticysticercus antibodies in serum. Two different methods of ELISA were tested: (1) 622 serum samples were screened by the alkaline phosphatase technique and (2) 442 serum samples were screened by the biotin-peroxidase technique.[16]

The diagnosis of every patient's condition whose serum was studied was disclosed from their medical records approximately 1 year after the samples were taken. Included were those cases in which a precise, final diagnosis was made with the aid of a computed tomographic scan, magnetic resonance imaging, surgery, CSF analysis, and multiple additional radiological and laboratory examinations; only patients in whom the above-mentioned studies led to a clear diagnosis and in whom the diagnosis of NCC had been either confirmed or discarded beyond reasonable doubt were selected. All those cases in which imaging and CSF studies had not been practiced, because the treating physicians considered them to be unnecessary to reach a diagnosis, were discarded because the diagnosis had been based only on clinical criteria and the possibility of NCC had not been ruled out (ie, some cases of migraine, epilepsy, schizophrenia, depression, psychosomatic illness, etc). After the clin-

Reprinted from the Archives of Neurology
June 1992 Volume 49
Copyright 1992, American Medical Association

Overall Correlation Between ELISA in Serum and Clinical Diagnosis of NCC in 678 Neurological Cases*			
ELISA in Serum	Patients With Confirmed NCC	Patients With Diagnosis Other Than NCC	Total No. (%)
Positive	31 (A)	182 (B)	213 (31)
Negative	14 (C)	451 (D)	465 (69)
Total No. (%)	45 (7)	633 (93)	678 (100)

*ELISA indicates enzyme-linked immunosorbent assay; NCC, neurocysticercosis. Sensitivity: $A/(A+C) = 31/45$ (69%). Specificity: $D/(B+D) = 451/633$ (71%). Precision: $(A+D)/(A+B+C+D) = 482/678$ (71%). Prevalence: $(A+C)/(A+B+C+D) = 45/678$ (7%). Positive predictive value: $A/(A+B) = 31/213$ (15%). Negative predictive value: $D/(C+D) = 451/465$ (97%).

ical evaluation of all cases, the results of ELISA for cysticercosis were disclosed.

From the original 1064 patients, 678 fulfilled the above-mentioned criteria of an accurate neurological diagnosis based on studies that clearly defined the presence or absence of NCC. Additionally, the conditions of 21 patients were diagnosed as cases of NCC sequelae (parenchymal granulomas or calcifications) but without evidence of active NCC according to the criteria reported elsewhere[1,4,17]; these 21 cases were analyzed apart. The 678 cases were separated into one of two groups: group 1 comprised confirmed cases of active NCC (45 patients), and group 2 comprised confirmed cases of other neurological disorders, except NCC (633 patients).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Tests for Serum Antibodies

The ELISA was employed for the serodiagnosis with the use of unfractionated vesicular fluid antigens of *Taenia solium* cysticerci.[10,13,16] The bound human immunoglobulins were then estimated with anti-human IgG coupled with alkaline phosphatase, or with biotinylated protein A, followed by streptavidin peroxidase.[16] All serum samples were diluted 1:20 or 1:1000 in phosphate-buffered saline solution (0.05 mol/L of sodium chloride for peroxidase or 0.01 mol/L of phosphate for phosphatase) and assayed in triplicate. On a given day, 50 to 100 problem serum samples were tested; in addition, eight to 12 negative control serum samples were included to provide an actualized cutoff value, and three to five positive control serum samples were included to validate reagents and procedures. A serum sample was considered to be positive when its ELISA optical density (OD) reading exceeded the mean negative control value +3 SDs.

The ELISA results were compared with the clinical diagnoses of every subject; the values of sensitivity, specificity, prevalence, and precision were obtained, along with positive and negative predictive values.

RESULTS

Of the total 678 serum samples, retrospective evaluation of medical records revealed 45 cases with NCC, ie, a prevalence of 7% in the sample. The remaining 633 serum samples belonged to patients with other neurological disorders (a comprehensive variety of neurological ailments, such as neoplasia, epilepsy, stroke, migraine, schizophrenia, dementia, vascular malformation, depression, head injury, infections, and degenerative disorders).

The Table summarizes the results, without distinction among different varieties of NCC (parenchymal, ventricular, or meningeal), nor the type of ELISA employed. A striking fact is that almost a third of all the serum samples were serologically positive (213 from 678), which is in contrast with the much lower number of confirmed NCC cases. Fifteen percent of the serologically positive cases were non-NCC. Only 31 of the 45 NCC cases were positive, while 451 of the 633 cases of non-NCC were negative. Thus, the sensitivity and specificity of the serological test was 69% and 71%, respectively. The positive predictive value of positive serology (15%) greatly duplicated the global expectation derived from the overall prevalence value of 7%. This was not so for the negative predictive value, which was 97%. The overall precision value of the test was 71%.

Twenty-one additional patients had evidence, on imaging studies, of parenchymal brain-calcified granulomas; these lesions are usually a permanent sequela of parenchymal NCC that had been previously resolved by the host. Most patients from this group had epilepsy in which the cause was related to a granuloma secondary to their previous NCC that had been resolved, in some cases several years earlier. The inclusion of these patients either in the group of NCC cases or in the group of non-NCC cases could have led to controversy and confusing interpretation of results; therefore, they were analyzed apart. Results of ELISA in these cases showed nine positives and 12 negatives, which gave values of 43% sensitivity if they were taken as NCC cases or 57% specificity if they were taken as non-NCC cases.

Among the group of patients with a diagnosis other than NCC, 38 had had a false-positive immunological test for NCC in the CSF analysis, either by complement fixation[18,19] or ELISA[6,20,21]; most of them had infectious, neoplastic, or hemorrhagic disorders within the subarachnoid space. The sero-ELISA for NCC in this subgroup showed 13 positives and 25 negatives, which gave 66% specificity in these cases.

When the type of ELISA employed was accounted for, serological results improved to some degree; ELISA with peroxidase was more efficient with regard to all parameters than ELISA with phosphatase (results not shown). In the best of cases, sensitivity reached values of 80% and the positive predictive value was slightly increased to 16%. However, low specificity and many false positives prevailed with any technique in both active and inactive NCC.

The distribution of all ELISA values among the patients with NCC and the other neurological patients showed that, although the NCC cases had much higher ELISA titers than the non-NCC cases (29% vs 5%, respectively, were above an OD reading of 0.5), it was also clear that a high percentage of NCC cases (71%) were below an OD reading of 0.5 and could be confused with values registered for the other neurological patients, whose cutoff value for the confidence interval of 95% was precisely an OD reading of 0.5.

Results of ELISA in the cases that were excluded from the analysis showed 27% positives, ie, a value that was similar to the 31% positives in the cases included in this study, thus showing the unbiased inclusion criteria.

COMMENT

Serological (ELISA) immunodiagnosis showed a disappointing performance in detecting NCC cases in an unbiased sample of a large number of neurological patients. Our results are in contrast with those of other reports of high levels of sensitivity and specificity obtained with similar methodology by a number of laboratories, including our own,[8,10,12,16,22,23] and suggest that the diagnosis of NCC through identification of serum antibodies with

standard ELISA techniques is unreliable when applied to the large and heterogeneous mass of neurological patients in an endemic area. Their significance in nonendemic areas is yet to be carefully assessed.

In this study, both sensitivity (69%) and specificity (71%) were far lower than expected. With an overall 7% prevalence of NCC in the sample, the predictive value of a positive serological result was only 15%. These low averages emerged mainly from the very high number of false-positive cases (29%) and from the high number of false-negative results (31%). Some of the difficulties in the development of a serological test of high predictive value for NCC are potentially soluble, while others seem hard to tackle.

The high number of false-positive results could result from several causes, ie, some biological and others methodological. It is possible that those patients without NCC but with positive serological tests were either infected with *T solium*, or they had been in previous contact with cysticerci, but NCC never developed; their antibodies, then, would reflect either intestinal taeniasis, muscle cysticercosis, or an immunological scar, but would provoke confusion when attempting to diagnose NCC. Also, the positive cutoff value for ELISA, as defined, may be too low, ie, the mean +3 SDs from the values obtained from healthy donors in the endemic area. This procedure was used when the ELISA test, applied herein, was first developed[16] and in every serum sample testing session in this study. Although they varied among sessions, the cutoff values never exceeded the OD value of 0.161 for alkaline phosphatase and of 0.525 for peroxidase. Consulting the distribution of OD values in the non-NCC neurological cases, we found that about a third exceeded these OD levels. Correction for this source of error is not easy, for example, choosing a lower cutoff OD value would drastically reduce the number of false-positive results to about 5% but would also further reduce the sensitivity of the test to about 30%. Another well-documented source of false-positive results is the presence of cross-reactive serum antibodies[13,24]; although not exhaustive, our results point to bacteria that are commonly found in hospitalized patients or to intestinal parasites as possibly being involved in false-positive results. Purification of specific antigens would be the obvious solution for cross-reactions. Recent investigations mention the identification of specific antigens of *T solium*[8,9,13,24,25]; other studies claim extremely high sensitivity and specificity results in Western blots with glycoproteins with an affinity for lentil lectin.[8,9,11] However, none of the latter assays have been tested in extensive field trials. A final possibility for explaining false positives is antigen sharing between *T solium* and the central nervous system tissue of patients; cysticerci are extremely complex organisms that are equipped with nerves, muscle, collagen, and a number of other biological molecules and structures that are widely distributed and preserved in the animal kingdom. If damage to the central nervous system occurs in the development of a neurological disease, the autoantibodies that are induced could cross-react with parasite components. Although this suggestion is speculative, it would provide an immediate explanation for the huge difference in the prevalence of serological positivity in the open population of Mexico (about 3%)[7] and in the neurological population of this study (about 30%). For practical purposes, such cross-reactive autoantibodies would complicate the serological diagnosis of NCC among neurological patients and provide a stimulus for the development of more precise procedures.

The low sensitivity found in this study (69%), as opposed to the very high values reported in the literature (with many values close to 100%),[8,9] has also a dual methodological and biological origin. The usual procedure to evaluate a newly developed serological method is to test its ability to discriminate among well-defined control positive and negative serum samples. We believe this procedure is usually biased by a tendency to select the most representative samples of both control serum samples: those most positive and those most negative. Thus, the variables of the method (cutoff values, dilutions, enzymes, buffers, etc) are streamlined to best meet the particular problem of distinguishing the archetypes, but not the heterogeneous masses of neurocysticercotic and nonneurocysticercotic neurological patients with overlapping distributions of serological reactivity. In our case, the standard procedure ignored that many neurocysticercotic patients do not have measurable circulating antibodies to cysticerci,[27,28] whereas many other subjects could have either cross-reactive antibodies or anticysticercus antibodies without suffering NCC. Biologically, then, deficient sensitivity of serological tests stems from those patients in whom the immune reaction against the parasite takes place only within the subarachnoid space with local production of immunoglobulins and negligible amounts of antibodies in peripheral blood,[1,6,8,9,19] or we speculate from well-established host-parasite relationships that are free from immunological confrontation, either because of specific immunodepression[28,29] or other less-defined forms of peaceful endurance between parasite and host.[27]

In contrast, negative serology to cysticercus antigens turned out to have a high predictive value for noncysticercotic neurological ailments (97%). Thus, a negative serology would practically rule out NCC from diagnostic considerations in most neurological cases. However, this attractive result should also be taken cautiously because this high value derives mostly from the high prevalence of nonneurocysticercotic cases (93%) in our sample and not, unfortunately, from scarcity of patients with NCC without antibodies in peripheral blood, which was, in fact, quite common (31%).

We conclude that currently available serological procedures are not satisfactory for the positive diagnosis of NCC in the realistic situation of confronting the heterogeneous mass of neurological ailments in an endemic area. Before diagnostic procedures that detect anticysticercus antibodies in serum are further applied, we suggest that they should be assessed in an unbiased and massive design as the one used here, rather than via the testing of panels of a limited number of previously established clearly positive or clearly negative serum samples.

References

1. Del Brutto OH, Sotelo J. Neurocysticercosis: an update. *Rev Infect Dis.* 1988;10:1075-1087.
2. Flisser A, Willms K, Laclette JP, Larralde C, Ridaura C, Beltran F, eds. *Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives.* Orlando, Fla: Academic Press Inc; 1982.
3. Medina MT, Rosas E, Rubio F, Sotelo J. Neurocysticercosis as the main cause of late-onset epilepsy in Mexico. *Arch Intern Med.* 1990;150:325-327.
4. Sotelo J, Guerrero V, Rubio F. Neurocysticercosis: a new classification based on active and inactive forms: a study of 753 cases. *Arch Intern Med.* 1985;145:442-445.
5. Grisolia JS, Wiederholt WC. CNS cysticercosis. *Arch Neurol.*

1:2,31:540-544.

6. Rosas N, Sotelo J, Nieto D. ELISA in the diagnosis of neurocysticercosis. *Arch Neurol.* 1985;43:353-356.

7. Sotelo J, Escobedo F, Rodríguez J, Torres B, Rubio F. Praziquantel for cysticercosis of the brain parenchyma. *N Engl J Med.* 1984;310:1001-1007.

8. Schantz PM, Tsanch VCW, Maddison SE. Serodiagnosis of neurocysticercosis. *Rev Infect Dis.* 1988;10:1231.

9. Tsang VCW, Joy AB, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosis of human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis.* 1989;159:50-59.

10. Flisser A, Larralde C. Cysticercosis. In: Walls KF, Schantz PM, eds. *Immunodiagnosis of Parasitic Infections.* Orlando, Fla: Academic Press Inc; 1986:109-161.

11. Kalinna B, Becker M, Geyer E. Immunoelectrophoretic analyses of antigens shared by the vesicular fluid and cyst wall of *Taenia crassiceps* and *Taenia saginata* metacestodes. *Parasitol Res.* 1989;75:568-574.

12. Coker-Van M, Brown P, Gajdusek C. Serodiagnosis of human cysticercosis using a chromatofocused antigenic preparation of *Taenia solium* cysticerci in an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1984;78:492-496.

13. Larralde C, Montoya M, Sciutto E, Díaz ML, Govezensky T, Cohorn L. 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.* 1989;40:282-290.

14. García-Albea E. *Cisticercosis cerebral: aportaciones al conocimiento de una enfermedad endemica en España e Hispanoamerica.* Madrid, Spain: ARAN Ediciones; 1991.

15. Acosta E. Antibodies to the metacestode of *Taenia solium* in the saliva from patients with neurocysticercosis. *J Clin Lab Anal.* 1990;4:90-94.

16. Larralde C, Laclette JP, Owen CS, et al. Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and hemagglutination tests. *Am J Trop Med Hyg.* 1986;35:965-973.

17. Sotelo J. Cysticercosis. In: Johnson RJ, ed. *Current Therapy in Neurologic Disease.* Philadelphia, Pa: BC Decker; 1987:114-117.

18. Nieto D. Cysticercosis of the nervous system: diagnosis by means of the spinal fluid complement fixation test. *Neurology.* 1956;6:725-738.

19. García E, Sotelo J. A new complement fixation test for the diagnosis of neurocysticercosis in cerebrospinal fluid. *J Neurol.* 1991;20:379-382.

20. García E, Sotelo J. Storage of cerebrospinal fluid on paper. *Lancet.* 1989;2:1046.

21. Larralde C, Sotelo J, Montoya RM, et al. Immunodiagnosis of human cysticercosis in cerebrospinal fluid: antigens from murine *Taenia crassiceps* cysticerci effectively substitute those from porcine *Taenia solium*. *Arch Pathol Lab Med.* 1990;114:926-928.

22. Corona T, Pascoe D, González-Barranco D, Abad P, Landa L, Estañol B. Anticysticercus antibodies in serum and cerebrospinal fluid in patients with cerebral cysticercosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1986;49:1044-1049.

23. Flisser A, Woodhouse E, Larralde C. The epidemiology of human cysticercosis in Mexico. In: Palacios E, Rodríguez-Carbajal J, Taveras JM, eds. *Cysticercosis of the Central Nervous System.* Springfield, Ill: Charles C Thomas Publisher; 1983:7-17.

24. Gottstein B, Tsang VCW, Schantz PM. Demonstration of species-specific and cross-reactive components of *Taenia solium* metacestode antigens. *Am J Trop Med Hyg.* 1986;35:308-313.

25. Grogl M, Estrada JJ, MacDonald G, Kuhn RE. Antigen-antibody analysis in neurocysticercosis. *J Parasitol.* 1985;71:433-442.

26. Baily GG, Mason PR, Trijssenar FEJ, Lyons NF. Serological diagnosis of neurocysticercosis: evaluation of ELISA test using cyst fluid and other components of *Taenia solium* cysticerci as antigens. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1988;82:295-299.

27. Flisser A, Woodhouse E, Larralde C. Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders. *Clin Exp Immunol.* 1980;39:27-37.

28. Espinosa B, Flisser A, Plancarte A, Larralde C. Immunodiagnosis of human cysticercosis: ELISA and immunoelectrophoresis. In: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Larralde C, Ridaura C, Beltran F, eds. *Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives.* Orlando, Fla: Academic Press Inc; 1982:163-170.

29. Del Brutto OH, Sotelo J. Neurocysticercosis and possible sex-related severity of inflammatory reaction. *Arch Intern Med.* 1988;148:2689.

Printed and Published in the United States of America

Western blot:

Los antígenos que se usaron para la electroforesis se obtuvieron de cisticercos de *T. crassiceps*. La prueba de western blot se realizó con 74 sueros negativos, 40 sueros de enfermos de NCC comprobada (en diferentes estadíos de la enfermedad), proporcionados por el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, y con 242 sueros positivos por HIA de la población abierta (títulos de 1:40 hasta 1:640) de la Encuesta Nacional Serológica (ENSE) seleccionados aleatoriamente por computadora (utilizando el programa Lotus 1 2 3) y representativa de la muestra total de sueros positivos.

La electroforesis se realizó en geles de poliacrilamida (PAGE), siguiendo el protocolo de Laemmli V. K. 1970, utilizando dodecil sulfato de sodio (SDS) y mercaptoetanol como agente reductor. Se utilizó un equipo de electroforesis Bio-Rad, la electroforesis se realizó a 4°C 20-40 mA, por 3 a 4 horas. El gel concentrador se hizo al 3% de acrilamida y 0.062% de SDS de un centímetro de largo. El gel separador al 7% de acrilamida 0.1% de SDS y 13 cm de largo por 13 cm de ancho. Se cargaron 4 mg de proteínas del fluído vesicular por gel. (Larralde C. *et al.*, 1989, Larralde C., *et al.*, 1990)

El inmunoblot se llevó a cabo por la transferencia electroforética de las proteínas del gel separador a hojas de papel de nitrocelulosa (Schleicher and Schuell, 0.45 micras) por una hora a 25 volts en amortiguador de glicina y tris base pH 8.35. El papel conteniendo las proteínas se sumergió en una solución de PBS albúmina al 3% durante toda la noche a 4°C para bloquear los sitios de fijación inespecífica. El papel con las proteínas transferidas se cortó en tiras de 3 mm de ancho. Cada tira se incubó con un mililitro de suero diluído 1:30

en PBS tween al 0.3% durante toda la noche a temperatura ambiente. La unión de anticuerpos a los antígenos transferidos en las tiras de nitrocelulosa se visualizó por inmersión de las tiritas en una solución de proteína A biotinilada diluída 1:200 (Amersham) por 1 hora a temperatura ambiente, se lavó y se sumergió nuevamente en una solución de strepto avidina peroxidasa diluida 1:500 (Amersham) por 30 minutos a temperatura ambiente, se lavaron nuevamente y la actividad enzimática en el papel se reveló por incubación en una solución con 30 mg de O-cloronaftol (sigma) 10 ml de metanol, 50 ml de PBS y 50 µl de peróxido de hidrógeno adicionados antes de usarse, las bandas antigénicas aparecen entre los siguientes 10 y 15 minutos y por último se lavan con agua destilada para eliminar el sustrato, se secan interpretando los resultados inmediatamente. Para preservar las tiras de nitrocelulosa con las bandas de precipitación por tiempos largos se guardan con desecador y en ausencia de luz.

Inmunoplot:

El inmunoplot es un procedimiento gráfico para analizar los antígenos que reconocen diferentes grupos de sueros, se obtiene al sacar la frecuencia con la que cada banda antigénica reacciona con los sueros de diferentes grupos de individuos y se resta a ésta la frecuencia de reacción de cada banda con el suero de individuos normales, con el fin de descartar del análisis a los anticuerpos que no son inducidos específicamente por los parásitos. Los resultados se grafican confrontando a los grupos que se desee comparar. La posición de los puntos correspondientes a cada banda en el plano de la gráfica otorga a cada antígeno un significado inmunológico inmediato. Las bandas con baja frecuencia en un eje pero alta frecuencia en el otro, son antígenos específicamente reconocidos por uno de los grupos comparados, de acuerdo con valores de umbral seleccionados arbitrariamente, las bandas con alta frecuencia en ambos ejes representan antígenos propios de la enfermedad

pero igualmente reconocidos por ambos grupos de individuos. Las bandas con frecuencia cero o negativa son de escaso interés para la inmunología de la enfermedad. Si los puntos se distribuyen por todo el plano de la gráfica, es claro que la inmunogenicidad de la mezcla antigénica es heterogénea. La pendiente lineal de la gráfica debe reflejar la existencia de alguna tendencia de los antígenos a reaccionar con un grupo dado de sueros (Larralde C., *et al.* 1989).

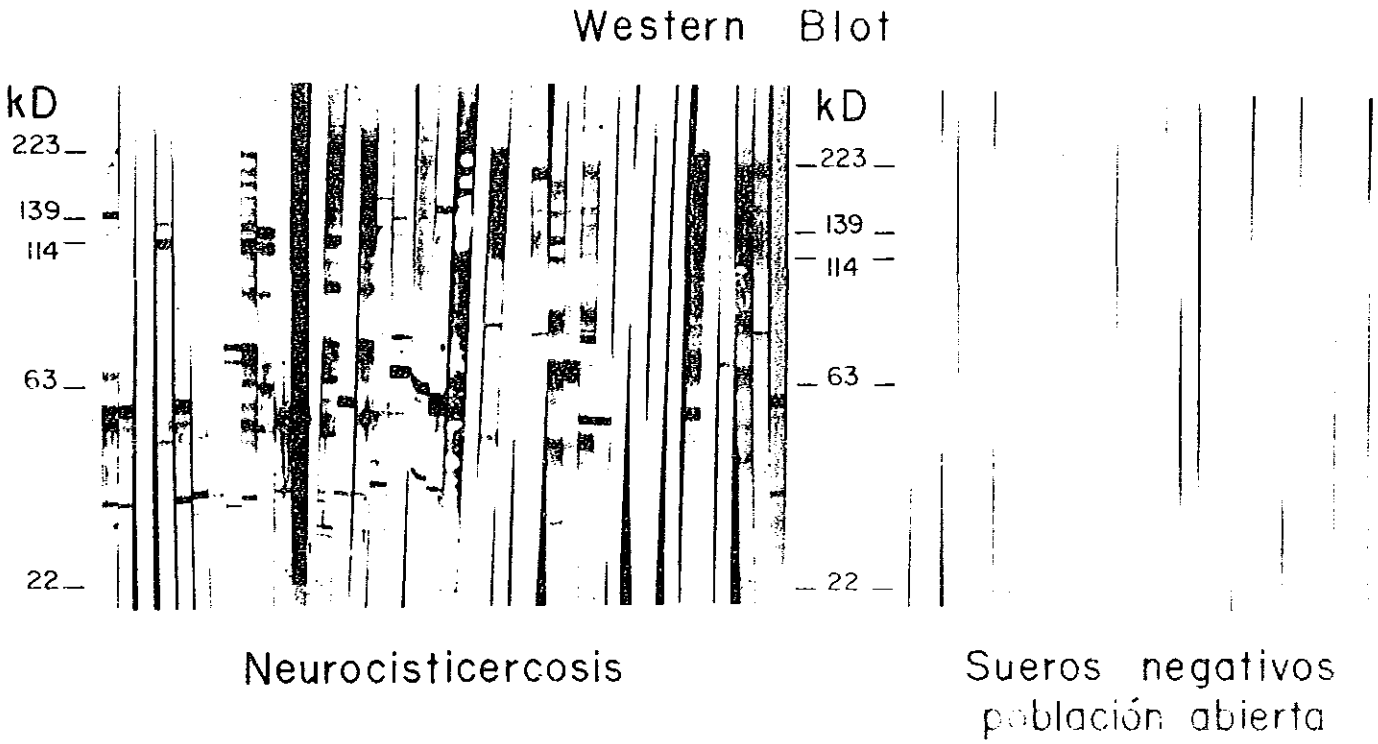
Bandas Altamente Específicas	Bandas De alta Frecuencia Cruzada
Bandas De baja Frecuencia Reacción Cruzada	Bandas Altamente Específicas

Análisis discriminante:

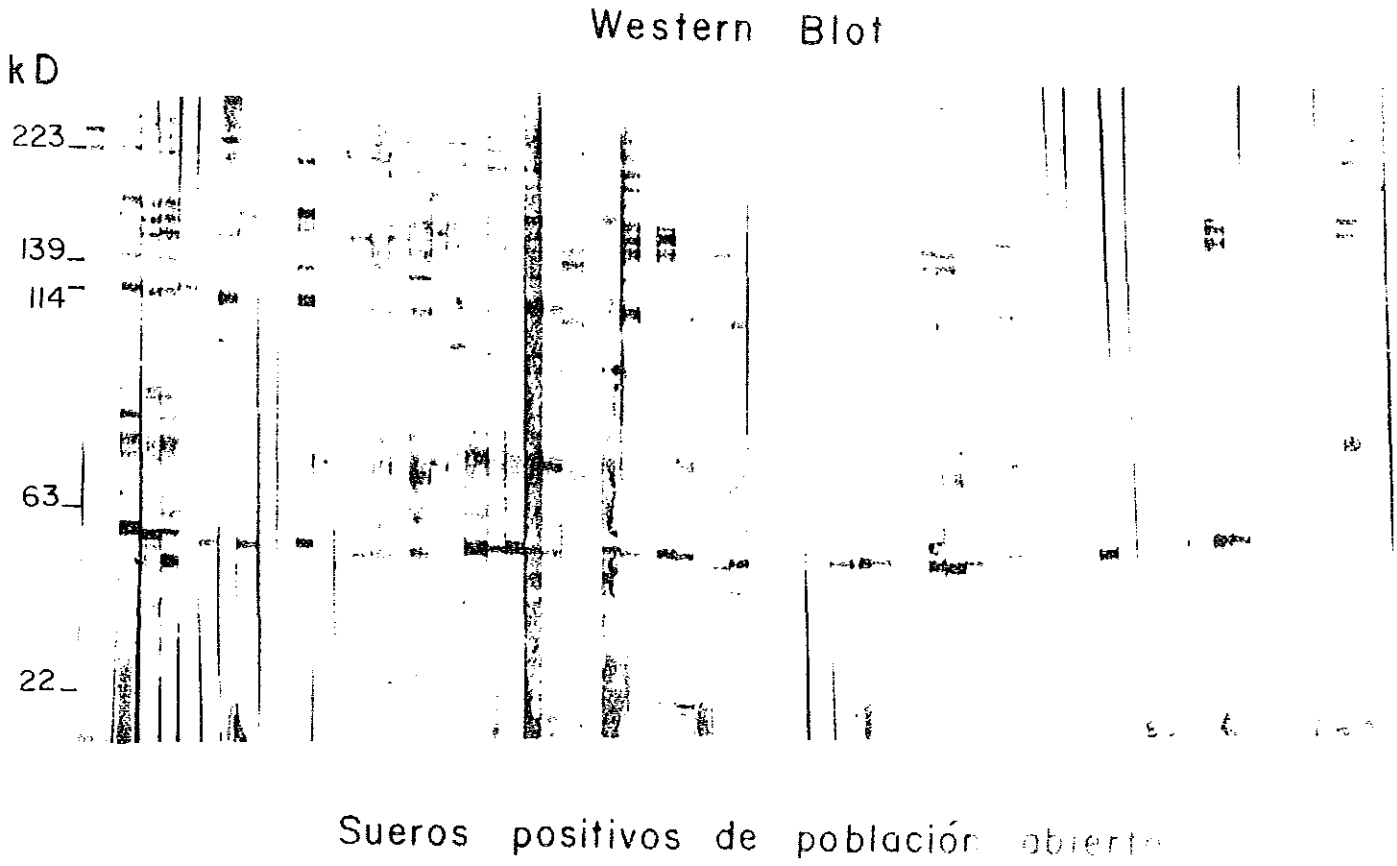
Las frecuencias antigénicas estimadas para cada uno de los sueros en los inmunoplots se analizaron por regresión logística para buscar antígenos discriminantes de NCC (Krzamososky W. J. 1990) utilizando el programa BMDP versión 1990 (VAX/VMS) by BMDP statistical softwa. e Inc).

RESULTADOS

En la Fotografía 1, se aprecian los western blot de los sueros negativos y los sueros de enfermos de NCC, en la Fotografía 2, los de sueros positivos de población abierta. Observe la heterogeneidad de la reactividad y definición de las bandas.

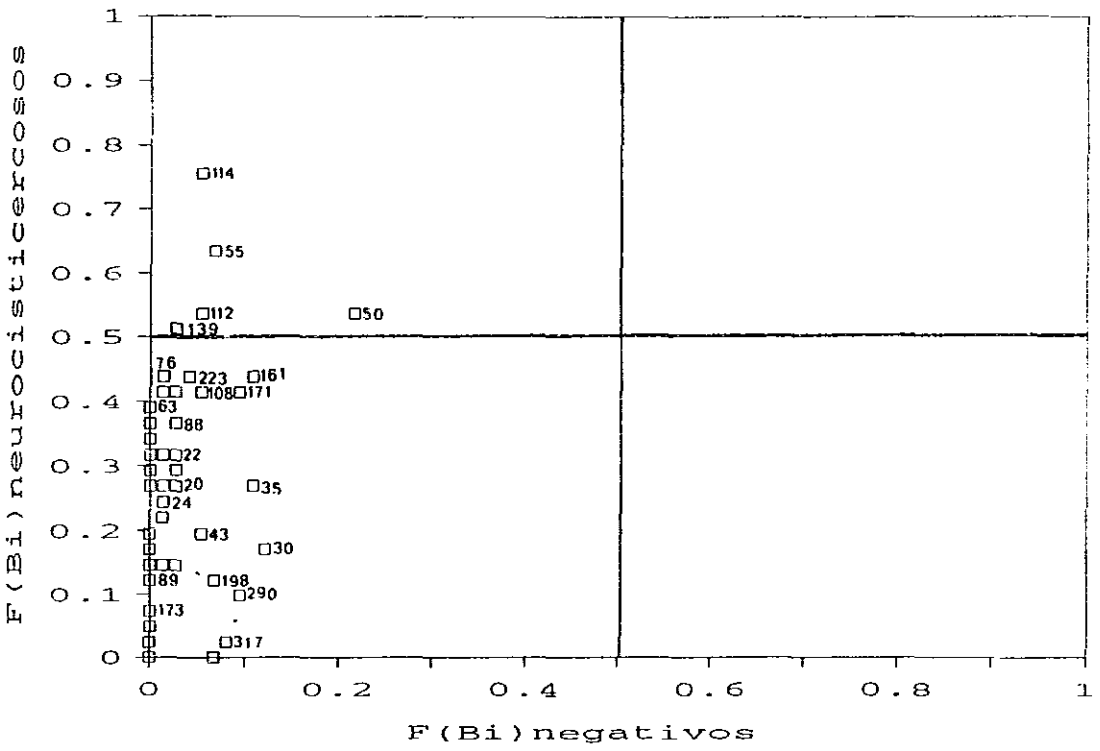


Fotografía 1. Reacción en western blots de sueros de enfermos de NCC (izquierda) y sueros negativos de población abierta (derecha), los antígenos discriminantes de NCC están señalados con su tamaño molecular.



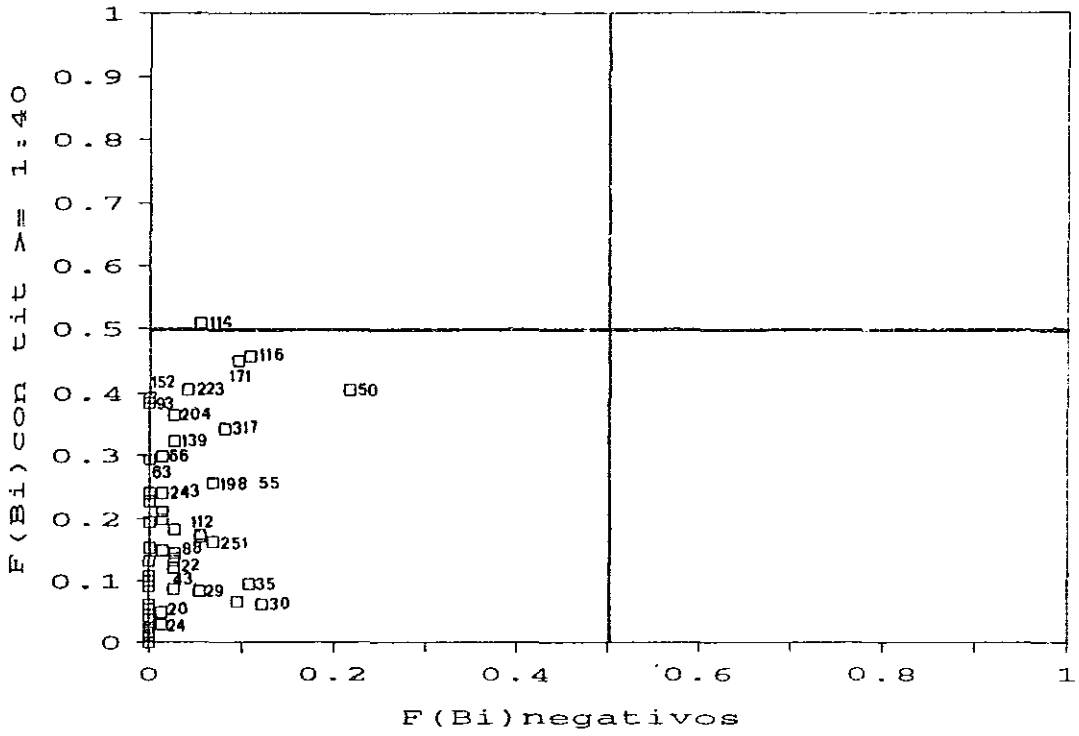
Fotografía 2.- Western blot de sueros positivos por HIA de la población abierta, observe la presencia de anticuerpos en contra de los antígenos discriminantes de NCC.

El inmunoplot 1 muestra las frecuencias de reacción de los sueros negativos en las abscisas, *versus* los sueros de enfermos de NCC en las ordenadas. En el cuadrángulo superior izquierdo observamos un grupo de antígenos que reaccionan en frecuencias altas con los sueros de enfermos de NCC (139 (52%), 114 (75%), 112 (52%), 55 (65%), y 50 (53%)). Los sueros negativos reaccionan con varios antígenos (317, 223, 198, 161, 131, 114, 55 y 50 KD) en frecuencias muy bajas, inferiores al 10% a excepción del antígeno de 50 kD que reacciona con el 20% de los sueros negativos.



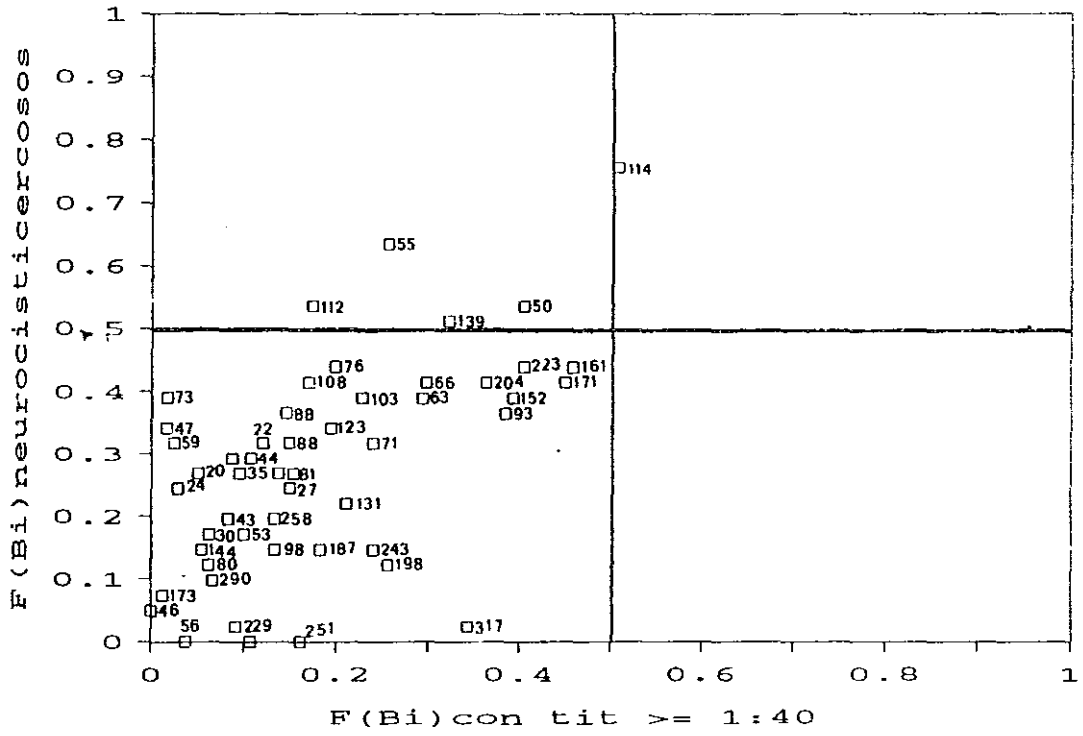
INMUNOPLOT 1

El inmunoplot 2 muestra en las abscisas las frecuencias de reacción de los seronegativos contra la frecuencia de reacción de los seropositivos de la población abierta (en las ordenadas). Observe un grupo de bandas antigénicas (223, 161, 152, 114, 161, y 171 50 KD) que reaccionan con el 40-52% de los seropositivos, y sólo reaccionan entre el 5 y el 10 % con los sueros negativos, (cuadrángulo superior izquierdo), otro antígeno, la proteína de 50 KD reacciona con el 40% de los seropositivos y el 20% de los negativos.



INMUNOPLOT 2

El inmunoplot 3 muestra la reacción de los sueros positivos, en las abscisas *versus* los sueros de enfermos de NCC en las ordenadas. La finalidad de esta confrontación es determinar los antígenos específicos con los que reacciona los seropositivos, y los antigenos específicos de enfermos de NCC y los antígenos ampliamente compartidos entre estos dos grupos. Observe que no hay un solo antígeno que reaccione con más del 70% de los sueros de cualquier grupo (el antígeno de 114 kD reacciona con el 70% de los NCC y con el 50% de los seropositvos). No hay antígenos aislados altamente específicos de enfermos de NCC ni de seropositivos. Hay principalmente antígenos igualmente reactivos en ambos grupos.



INMUNOPLOT 3

El análisis discriminante seleccionó cinco proteínas antigénicas (223, 139, 114, 63 y 22 KD) que discriminan a los sueros de enfermos de NCC. Los coeficientes y la constante de la regresión logística para cada una de las proteínas son las siguientes.

	coeficiente
Proteína de 223 KD (A)	-3.839
Proteína de 139 KD (B)	-2.961
Proteína de 114 KD (C)	-3.434
Proteína de 63 KD (D)	-3.555
Proteína de 22 KD (E)	-4.941
Constante	4.209

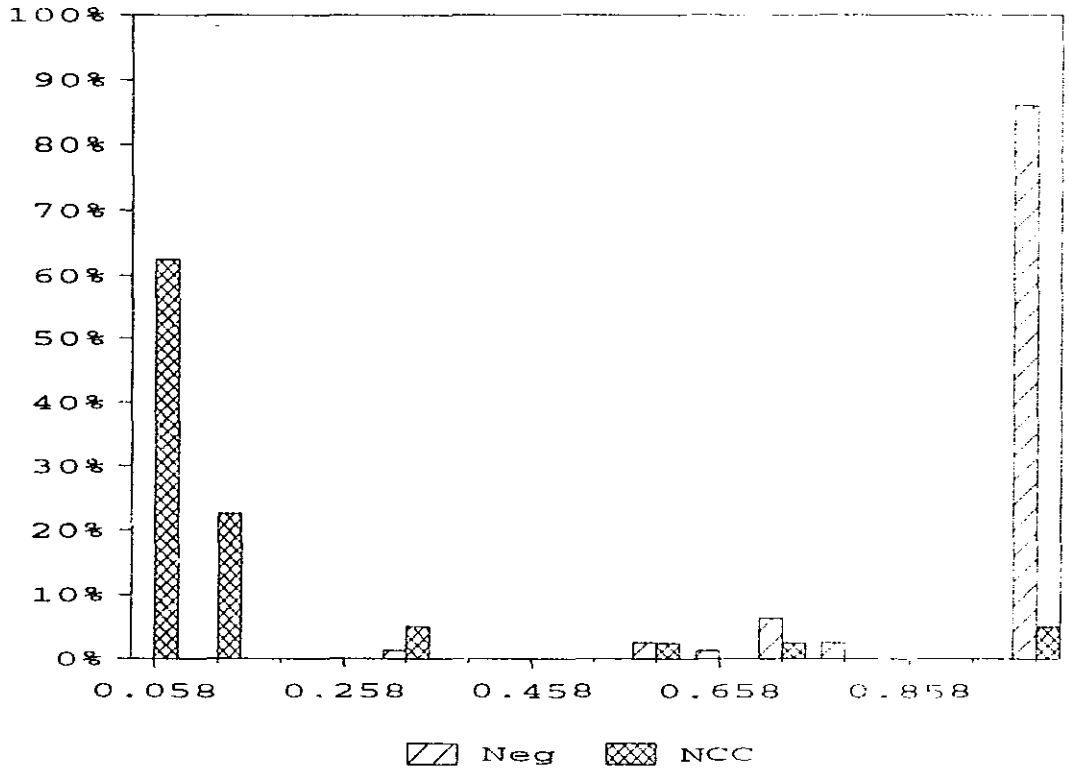
Con los coeficientes y la constante se calculó la probabilidad de ser negativo en cada uno de los sueros de enfermos de NCC, negativos y positivos de población abierta, utilizando la siguiente ecuación:

$$P.Neg = \frac{e^{4.209 - 3.839A - 2.961B - 3.434C - 3.555D - 4.941E}}{1 + e^{4.209 - 3.839A - 2.961B - 3.434C - 3.555D - 4.941E}}$$

en la que e es la base de los logaritmos naturales, y las letras mayúsculas (A,B,C,D,E) corresponden a los coeficientes de los antígenos seleccionados.

La distribución de las probabilidades de ser negativos de los sueros de enfermos de NCC y de los negativos se muestra en la Gráfica 1, los sueros se agrupan en conjuntos: el primero de baja probabilidad de ser negativos (.025 hasta .125), en el que se encuentran la mayoría de los enfermos de NCC, el segundo grupo (0.325 hasta 0.625) en el que hay sueros de enfermos de NCC y sueros negativos, y el tercero son los sueros que tienen más

alta probabilidad de ser negativo (.626 hasta 1), en el que principalmente están los sueros negativos.



Gráfica 1. Distribución de las probabilidades de ser negativo por regresión logística de sueros de NCC y sueros negativos.

El valor de corte que mejor discrimina los sueros de enfermos de NCC de las personas sanas, se distribuye en el rango de probabilidades de 0.325 y 0.575. Clasifica correctamente 114 sueros de 119, de los 5 sueros mal clasificados 4 son falsos negativos (enfermos de NCC) y 1 es falso positivo (negativo), la sensibilidad con este valor de corte es de 90% y la especificidad del 98.7% (Tabla 1).

Valor de corte	Neg	NCC	T.cla	Fp	Fn	S%	E%
008-0.324	79	34	113	0	6	85	100
325-.575	78	36	114	1	4	90	98.7
576-.675	76	37	113	3	3	92	96.5
676-.975	68	38	108	11	2	95	86
976-1	0	40	40	79	0	100	0

Tabla 1.- En la primera columna se muestran los valores de probabilidad, los rangos se agrupan de acuerdo a la mejor clasificación de los sueros (T. cla). Neg sueros negativos diagnosticados correctamente (79 sueros negativos), NCC sueros de enfermos de neurocisticercosis diagnosticados correctamente (40 sueros de NCC), T. cla número total de sueros de NCC y negativos correctamente diagnosticados (Total de sueros analizados 119), Fp (Falsos positivos), Fn (Falsos negativos), S% (Sensibilidad expresada en porcentaje), E (Especificidad expresada en porcentaje).

Para discriminar un suero positivo de un negativo por Westernblot se tomó como valor corte la probabilidad de 0.45 que es el punto medio del rango de probabilidades (0.325-0.575), que mejor diagnostica enfermos de NCC (Tabla 1). Con este valor de corte se encontró que la mitad (51.2%) de los sueros positivos por HIA de la población abierta, presentan anticuerpos en contra de los antígenos específicos de NCC.

EPIDEMIOLOGIA

La alta seroprevalencia de la cisticercosis que se encontró en el Distrito Federal (2.95%) llama la atención, ya que es difícil suponer como suceden los contactos. No hay como en la provincia, una porcicultura y horticultura que se especula podría sostener el ciclo biológico de la *T. solium*. Una de las posibles causas que explica aunque parcialmente la alta seroprevalencia, es la introducción de tenias, por personas de la provincia que van a trabajar en labores domésticas a la capital, conviviendo de manera más estrecha y prolongada con los miembros del hogar infectando a algunos de NCC, esto se ha visto ya por diferentes grupos de trabajo especialistas en el área (Richards F.O., *et al.* 1985, Earnest M., *et al.* 1987, Lettau L.A., *et al.* 1992, Díaz-Camacho S., *et al.* 1990, Schantz P M., *et al* 1992) (ver introducción). Nosotros encontramos que este tipo de contacto (presencia de un teniásico en el hogar y la influencia de las condiciones del hogar) es una forma importante de contacto pero solo sucede en el 10% de los casos, el 90% de los contactos restantes deben suceder de manera aislada, en el que pueden participar diversos mecanismos, como el reflejo de la migración de los habitantes del campo infectados con tenia en busca de trabajo a la capital, o el constante intercambio de los habitantes de la capital a la provincia a vacacionar o negociar, la concentración de productos agrícolas y pecuarios así también una concentración de aguas de la provincia en el Distrito Federal, podría ser una forma ingreso de los huevecillos, aunque existe una vigilancia sanitaria de estos productos y el agua sigue un proceso de potabilización que los eliminaría; la introducción clandestina de productos del cerdo infectados de cisticercosis por pequeños comerciantes o ingenua por parte de los viajeros también puede participar. De cualquiera de las formas que especulamos, un teniásico en el D.F., puede incrementar enormemente la probabilidad de los contactos con la

T. solium aprovechando la alta densidad de la población, ya que es comun el hacinamiento en lugares públicos (transporte, sitios de diversión y de comercio), y en las ciudades perdidas en las que la falta de higiene y el hacinamiento pueden aumentar el riesgo y de esta manera se explique la alta seroprevalencia en el D.F. Es importante dirigir investigaciones para conocer el origen de los contactos en el Distrito Federal y tomar medidas para resolver ya que podría afectar seriamente a la población.

DIAGNOSTICO:

Diagnóstico de NCC con antígenos de *T. crassiceps*.

La sustitución de antígenos del cisticerco de *T. solium* por los de *T. crassiceps* en el diagnóstico mostró ser muy eficiente 96.5% en la prueba por ELISA y 94.4% por western blot si bien los resultados del ELISA ya se han discutido extensamente en el articulo. Sólo discutimos el uso de los antígenos de *Taenia crassiceps* en el western blot (Fotografia 1 y 2 en la parte final de la tesis), se aprecia una clara reactividad y definición de la respuesta de los sueros positivos y de los enfermos de NCC y la disminución importante de las reacciones de fondo de los sueros negativos. La sensibilidad (90%) y especificidad (98.7%) que se obtiene mejora las reportadas para el western blot realizado con sueros de zonas endémicas (García H.H., *et al* 1991). Los antígenos de *T. crassiceps* ofrecen ventajas sobre los *T. solium*, como la reducción de las reacciones inespecíficas de los conjugados enzimáticos que reaccionan con las inmunoglobulinas del cerdo que acompañan al parásito y que cruzan con las humanas. Además resuelve el problema de la heterogeneidad y obtención porque los cisticercos de *T. crassiceps* crecen fácilmente en la cavidad peritoneal de ratones bajo condiciones que pueden ser estandarizadas y explotadas para la producción masiva de antígenos, ya que un ratón produce hasta 25 gramos de parásitos.

Los resultados obtenidos con los antígenos de *T. crassiceps* en el diagnóstico no son inmunológicamente sorprendentes, ya que es bien conocida la reactividad cruzada entre los céstodos (Larralde C., *et al* 1989, Gottstein B., et al 1986, Shepherd J.C., 1987) y resultados recientes refuerzan más la similitud entre *T. crassiceps* y *T. solium*, ya que el análisis de secuencias de RNA ribosomales muestran mayor cercanía evolutiva (homología del 95%) comparados con la *T. saginata* y *T. solium* (homología del 85%) (De la Torre P., *et al.* 1993).

Evaluación del Diagnóstico serológico:

Las causas biológicas y patológicas de la NCC que influyen sobre la sensibilidad y especificidad del diagnóstico por ELISA, pensamos que influyen también sobre la capacidad de detección de las otras técnicas empleadas en el diagnóstico (western blot, fijación de complemento, dot blot, inmunofluorescencia, etc.), así también los diferentes métodos que detectan anticuerpos con otros extractos antigénicos (García H.H., *et al* 1991).

Análisis de western blots:

El análisis de las reacciones en los western blots por inmunoplot, muestra, que la diferencia de la reacción entre enfermos de NCC y negativos se debe a pequeñas diferencias (inmunoplot 1) y no a una clara reacción en contra de algún o algunos antígenos, lo mismo se aprecia al estudiar la reactividad de los sueros positivos *versus* negativos (Inmunoplot 2).

La confrontación de sueros positivos *versus* NCC (Inmunoplot 3) muestra una gran semejanza en la reactividad, no se observa ningún antígeno aislado que reaccione específicamente con algún grupo, al contrario, comparten muchos antígenos.

Es sorprendente no encontrar algún o algunos antígenos que reaccionen con la totalidad de los enfermos de NCC, esto puede ser reflejo de la complejidad funcional y estructural del cisticerco que permanece aún sin conocer, aunado a la heterogeneidad patológica y variabilidad genética de los enfermos, que dificultan, la identificación de antígenos únicos.

El análisis discriminante utilizando la regresión logística seleccionó cinco antígenos discriminantes (223, 139, 114, 63, 22 KD) de los enfermos de NCC, que tienen una sensibilidad del 90% y especificidad del 98.7%. La sensibilidad del 90% en una muestra heterogénea de enfermos de NCC es buena ya que la prueba de western blot no está aún optimizada.

La evolución de la NCC puede influir en la sensibilidad del diagnóstico ya que tres de los cuatro sueros de NCC que dan reacción falsa negativa provienen de pacientes con neurocisticercosis inactiva (los cisticercos se encuentran calcificados). Este estadío de la enfermedad se asocia con una débil estimulación del sistema inmune, por lo que se dificulta detectarlos. Además todos los sueros utilizados son de enfermos sintomáticos, que son tratados con anti-inflamatorios (esteroides) para aliviar los síntomas que sufren, es conocido que las drogas administradas deprimen el sistema inmune y por lo tanto también pueden influir en el diagnóstico inmunológico, por lo que usar sueros de primer ingreso puede facilitar el diagnóstico (Grossman C.J. 1991). Además de los mecanismos de evasión e

inmunodepresión de la respuesta inmune que el cisticerco podría usar para disminuir la síntesis de anticuerpos.

La especificidad del 98.7% también es buena, y ya que la estimación se realizó con sueros de población abierta de una zona endémica para la cisticercosis donde la prevalencia de anticuerpos en contra de *T. solium* es común, disminuye la probabilidad de encontrar reacciones inesperadas cuando se aplique a zonas con alta prevalencia.

Finalmente la regresión logística aplicada a los sueros positivos por HIA de la población abierta encontró que el 51.2% de los sueros reaccionan con los antígenos discriminantes de NCC. Esta semejanza en la reacción sugiere que los donadores del suero pueden estar infectados de neurocisticercosis, permaneciendo asintomáticos por tiempos indefinidos, ésto si bien es especulación se apoya por datos clínicos e histopatológicos, ya que en la NCC humana es frecuente encontrar cisticercos viables principalmente intraparenquimatosos que no suelen acompañarse o desencadenar una respuesta inflamatoria en el huésped estos casos son los NCC asintomáticos (Rabiela M. T., *et al.* 1979), que bien podrían ser muchos de los sueros positivos por western blot de la población abierta. Por otro lado también es interesante el significado inmunológico de las bandas antigénicas no discriminantes que reaccionan con los anticuerpos de muchos donadores, ya que los sueros que las presentan podrían ser contactos resueltos, contactos recientes o, por qué no indicar protección.

Entre las perspectivas del inmunodiagnóstico de la NCC aplicado a la población de enfermos neurológicos se encuentra la purificación de antígenos para eliminar las reacciones de inespecificidad y la optimización de los métodos (selección de técnicas, concentraciones de proteínas y tiempos de incubación adecuados) para obtener mayor especificidad y

sensibilidad. El uso de sueros de pacientes de primer ingreso sin tratamiento con esteroides o inmunodepresores puede ayudar en algo para un mejor inmunodiagnóstico. El uso de técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que detecta ácidos nucleicos no se ha aplicado en la detección de NCC, pero podría ser útil junto con la imagenología (resonancia magnética nuclear o tomografía axial computarizada) en aquellos casos que no son detectables por inmunodiagnóstico.

En el diagnóstico aplicado a la población abierta con fines epidemiológicos es necesario corroborar por análisis imagenológico si la reactividad en contra de los antígenos discriminantes de los donadores de población abierta se debe realmente a la presencia del parásito.

CONCLUSIONES GENERALES:

Epidemiología:

La seroprevalencia de la cisticercosis muestra que en todo el país existe el riesgo de entrar en contacto con *la T. solium*, en cualquiera de sus distintas localidades geográficas, sectores sociales o grupos de edad o sexo.

Hay diferencias estadísticamente significativas en cuanto al riesgo de contacto, que afectan al centro (Bajío y D.F.) y sureste del país, al medio rural, a los desvalidos, a los niños y viejos y a las mujeres, pero éstas son siempre pequeñas.

La lección principal de este estudio es que el riesgo de infección con *T. solium* afecta a casi todos por igual; por lo tanto las medidas para el control de la transmisión deben enfocarse a toda la comunidad buscando su desarrollo social.

Diagnóstico:

Los antígenos de *T. crassiceps* efectivamente sustituyen a los antígenos de *T. solium* en el diagnóstico por ELISA de la NCC.

La eficiencia de los antígenos de *T. crassiceps* en el diagnóstico es reproducible por western blot.

El diagnóstico serológico de la NCC presenta una sensibilidad del 69% y especificidad del 71 % en la población de enfermos neurológicos en México (zona endémica para neurocisticercosis).

Es de esperar que la purificación de antígenos específicos que reaccionan con anticuerpos de enfermos de NCC y la identificación de los antígenos que causan la reacción cruzada resuelva el problema de la inespecificidad con otros patógenos o antígenos ambientales.

El análisis por inmunoplot de la reacción por western blot de sueros de enfermos de NCC y negativos muestra que las diferencias de reacción entre estos grupos son pequeñas y no se deben a la reactividad total con algunos antígenos del cisticerco por parte de los enfermos de NCC.

Del estudio por regresión logística se seleccionaron cinco antígenos discriminantes (223, 139, 114, 63, 22 KD) que son capaces de discriminar el 90% de los enfermos de NCC.

El western blot con los antígenos discriminantes identificados en este trabajo representa un adelanto significativo en el inmunodiagnóstico de la NCC, ya que disminuye la probabilidad de reacciones inespecíficas y mejora enormemente la sensibilidad de los métodos y antígenos reportados.

La positividad de un suero de población abierta por western blot aumenta considerablemente la probabilidad de que la reacción se deba a la presencia del cisticerco.

Acevedo-Hernández A. 1982. Economic impact of porcine cysticercosis In. Cysticercosis Present State of Knowledge and Perspectives Flisser, A., Willms, K., Laclette, J P., Larralde, C., Ridaura, C. y Beltrán, F. (Eds.) Acad Press N.Y. p 63-68

Bouteille, B., Kassankogno, Y., Catanzano, G y Alexandre, M P 1990 Epidemiological study of cysticercosis and neurocysticercosis in North Togo Soc Path. Exo. Fluliales. 33(2): 263-274.

De la Torre, P., Campos A., Laclette, J P. 1993. Una nueva especie de *Taenia* parasita al ser humano. X Congreso Nacional de Inmunología. Ixtapa Zihuatanejo México. p 51

Díaz-Camacho, S., Candil-Ruíz, A., Uribe-Beltrán, M. y Willms, K. 1990 Serology as an indicator of *Taenia solium* tapeworm infections in a rural community in Mexico Royal Sc. of Trop. Med and Hyg. 84(4): 583-586.

Dixon, B.T. y Hargeaves, W.H. 1944 Cysticercosis (*Taenia solium*). A further ten years clinical study convering 284 cases. Quatently Journal of Medicine. 13: 107-121.

Dumas M., Bouteille, B., Kassankogno, Y., Catanzano, G. y Alexandre, M.P. 1990 Epidemiological study of cysticercosis and neurocysticercosis in North Togo. Soc Path. Exo. Fluliales. 33(2): 263-274.

Earnest, M.P., Reller, L.B., Filexy, C.M. y Grek, A.J. 1987 Neurocysticercosis in the United States: 35 cases and a review. Rev. Inf. Dls. 9: 961-979.

Espinoza, B., Ruiz-Palacios G., Tovar, A., Sandoval, M.A., Piancarte, A., Flisser, A. 1986. Characterization by Enzyme-Linked immunosorbent assay of the humoral immune response in patients with neurocysticercosis and its aplication in imnunodiagnosis. J. Clinical Microbiology. p 536-541.

Feldman M., Plancarte A., Sandoval M., Wilson M., Flisser A. 1990. Comparison of two assays (EIA and EITB) and two samples (saliva and serum) for diagnosis of neurocysticercosis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 84: 559-562.

Flisser A., Plancarte A., Correa D., Rodríguez-Del Rosal E., Feldman M., Sandoval M., Torres A., Meza A., Parkhouse R M E., Harrison L J S ., Wilsom M., Avila G., Allan J., Graig P S., Vallejo V., Ortiz D., García E., Magmanus D P., 1990. New Approaches in the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis and Taeniasis. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 65 suppl. 1: 95-98.

Flisser A., Rivera L. 1985. Antigen-antibody analysis in neurocysticercosis. J. Parasit. 71(4): 433-442.

Flisser, A., Madrazo, I., González, D., Sandoval, M., Rodriguez-Carbajal J., De-Dios J. 1988. Comparative analysis of human and porcine neurocysticercosis by computed tomography. Transactions of the Royal Society of Tropical Med. Hyg. 82: 739-742.

Flisser, A., Pérez, M.R. y Larralde, C. 1978. The immunology of human and animal cysticercosis,. Bull World Health Organization 55: 839-853.

Flisser, A., Rivera, L., Trueba, J., Espinoza, B., Yakoleff-Greenhouse, V., Sierra, A. y Larralde, C. Immunology of human cysticercosis 1982. In: Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. y Beltrán, F. (Eds.) Acad. Press. N.Y. p. 560.

Fritsche M., Gottstein B., Wigglesworth M.C., Eckert J. 1990. Serological Survey of human cysticercosis in Irianese refugee campus in Papua New Guinea. Acta Tropica 47(2): 69-77.

García H.H., Martinez M., Gilman R., Herrera G., Tsang V.C.W., Pilcher J.B., Díaz F., Verastegui M., Gallo C., Porras M., Alvarado M., Naranjo J., Miranda E. 1991. Diagnosis of cysticercosis in endemic regions. The Lancet 338(31): 549-551.

García-Albea E. 1989. Cysticercosis in Spain. Epidemiologic data. Rev. Clin. Esp. 184(1): 3-6.

Gemmell, M. Matyas, Z., Pawlowski, Z., Soulsby, E., Larralde, C., Nelson, G.S. y Rosicky, B. (eds) 1985. Guidelines for surveillance prevention and control of taeniasis/cysticercosis. VPH/83-49 WHO, Genova, Switzerland.

Good A.H., Sieber A.E., Robbins P., Zaun A. 1982. Modulation of the host immune response by larvae of *Taenia crassiceps*. In: Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. y Beltrán, F. (Eds.). Acad. Press. p. 593-610.

Gottstein B., Tsang V.C., Schantz P.M.,. 1986. Demostration of species-specific and cross-reactive components of *T. solium* metacestode antigens. J. Trop Med Hyg. V 35:308-313.

Grogl, M., Estrada, J.J., MacDonald, G., Raymond, E.K. 1985. Antigen-antibody analysis in neurocysticercosis. J. Parasit. 71(4) 433-442.

Grossman C.J., 1991. Sex steroids regulation of autoimmunity. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. 40:649-659.

Gutiérrez, Q.M. 1989. Diagnóstico inmunológico de la cisticercosis. en cisticercosis humana y porcina. Flisser A. Malagón F. (editores). Limusa. p. 175-178.

Gutiérrez. G., Sepúlveda, J., Tapia-Conyer, R., Pérez, R., Solache, G. y Valdespino, J.L. 1988. Encuesta Nacional Seroepidemiologia. I. Diseño Conceptual y Metodológico, En: Revista de Sal. Púb. de Méx. Nov.-Dic., Vol. XXX:(6) 836-842.

Helbert M.R., L'ade-Stehr J.L., Mitchison N.A. 1993. Antigen presentation, loss of immunological memory and AIDS. Immunology Today. 14(3):340-343.

Keilbach, Ma., Aluja, A.S. y Gutiérrez, E. 1989. A programme to control taeniasis cysticercosis (*Taenia solium*): Experiences in a mexican villaje. Acta Leindensia. 57(2): 181-190.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Kwa, B H , Liew. 1977. Immunity in taeniasis-cysticercosis I Vaccination against *Taenia taeniaeformis* in rats using purified antigen J Exp Med 145:118-31

Laclette J.P., Shomaeker C B., Richter D., Arcos J., Ponce N., Cysen C., Ising D., Nicholson-Weller A. 1992. Paramyosin inhibits complement C1. Journal of Immunology. 148(1) 124-128

Laemmli V K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacterophage T4. Nature 227:680-685.

Landa A., Laclette J.P., Niccholson-Welier A., Shoemaker C B. 1993. cDNA cloning and recombinant expression of collagen- binding and complement inhibitor activity of *T. solium* paramyosin (Ag B). Molecular and Biochemical Parasitology. 60.343-348

Larralde , C., Montoya, R.M., Sciutto, E., Diaz, M.L., Govezensky, T., Coltorti, E. 1989 Deciphering western blots of tapeworm antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus granulosus* y *Taenia crassiceps*) reacting with sera from neurocysticercosis and hydatid disease patients. Am. J. Trop. Med. Hyg. 40(3): 282-290.

Larralde, C., Laclette, J.P., Oween, C., Madrazo,I., Sandoval,M., Bojalil, R., Sciutto, E., Contreras, L., Arzate J., Díaz, M.L., Govezensky, T., Montoya, R.M.,Goodsaid, F. 1986 Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and heamagglutination. Am. J. Trop. Hyg. 35(5):965-973.

Larralde, C., Montoya, R.M., Sciutto, E., Díaz, M.L., Govezensky, T. y Coltorti, E. Deciphering western blots of tapeworm antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus granulosus* and *Taenia crassicpes*) reacting with sera from neurocysticercosis and hydatid disease patients. Am. Journal of Tropical Medicine and Hyg. 1989. 40(3): 282.

Larralde, C., Sotelo J., Montoya R.M., Palencia G., Padilla A., Govezensky, T., Diaz, M.L., Sciutto E. 1990. Immunodiagnosis of human cysticercosis in cerebrospinal fluid Arch. Pathol. Lab. Med. 114:926-928.

Lettau L.A., Gardner S., Tennis J., Hollis S., Jones J., Kruskal B.A., Teele D. N., Month L., De María A., Spitalny K., Wintter M.W., Kaplan J., Tonowitz HB., Rowin K. 1992 Locally Acquired Neurocysticercosis North Carolina, Massachusetts, and South Carolina, 1989-1991. Morbility and Mortality Weekly report. 41(1):1-4.

Márquez, M.H y Austria, B. 1969 Cisticercosis en el Hospital General de México: Estudio anatomopatológico de 165 casos. Rev. Lat. Amer. Pat. 8: 79-86

Mazzoti L. 1974 Presencia de huevecillos de la taenia en la región perianal. Rev. Ins. Sal. Trop. Mex. 10: 183-202.

Mc Dowell D., Harper C G. 1990 neurocysticercosis two Australian cases. Med. J. Aust 152(4): 217-218.

Michaels, R.H. y Rogers, K.D. Sex difference in immunologic responsiveness. Pediatrics, 1971, 47: 120-123.

Mitchell G F. 1982 Genetic variation in resistance of mice to *Taenia taeniaeformis* analysis of host-protective immunity and immune evasion In Cysticercosis Present State of Knowledge and Perspectives Flisser, A., Willms, K., Laclette, J P., Larralde, C., Ridaura, C. y Beltrán, F. (Eds). Acad. Press N Y , 1982 p 577-584

Nieto, D. Historical notes on cysticercosis In Cysticercosis Present State of Knowledge and Perspectives. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J P , Larralde, C , Ridaura, C y Beltrán, F. (Eds.). Acad. Press. N.Y., 1982, p. 1-7

Parkhouse, R.M.E., Harrison, L.J.S. 1987. Cyst fluid and surface associated glycoprotein antigens of *Taenia sp.* metacestodes. Parasite Immunology 9 263-268.

Pathak K M., Gaur S N. 1989 Prevalence and economic implicatios of *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in Uttar Pradesh State of India Acta Leindensia 57 (2) 197-200.

Pawlowsky, I.D., Yap, K.W.,Thompson R.C.A. 1988. Observations on the possible origin, formation and structure of calcareous corpuscles in taeniid cestodes. Parasitol Res 74: 293-296.

Plancarte, A., Flisser, A., Larralde, C. 1983 Fibronectin-Like properties in antigen B from the cysticercus of *Taenia solium*. Cytobios 36:83-93.

Pokrovskii, S.N. y Zima, G.G. 1978 Files as carries of tape worm eggs under neural conditions. Med. Parasitol. Moscu. 7: 262.

Rabiela, M.T., Rivas, A., Rodríguez, I.J. 1979 Consideraciones anatomopatológicas de la cisticercosis cerebral como causa de la muerte. En. Patología. 17: 119-136.

Ramírez-Bon, E., Merchant, M.T., González-Del Pliego, M., Cañedo, L. 1982. Ultrastruture of the bladder wall of the metacestodes of *Taenia solium*. Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. Edited by Flisser, A., Willms A., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., Beltrán, F. Academic Press New York, N Y. p. 261-280.

Ramos-Kuri, M.R., Montoya, R.M., Padilla, A., Govezensky, T., Díaz, M.L., Sciutto, E., Sotelo, J., Larralde, C. 1992. Immunosiagnosis of neurocysticercosis disappointing performance of serology (enzym-linked assay) in ab unbiased samples of neurological patients. Arch. Neurol. 49:633-636.

Rangel-Guerra R., Herrera J., Elizondo G., González-Morantes J.1988 Neurocysticercosis. Arch. Neurol. Vol. 45 pag 492.31.- Tsang, V. C. W., Brand, J.A., Boyer A.E. 1989. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and gliprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). The journal of infectious diseases. 159(1): 50-59.

Reiber, H., Felgenhaver, K., 1987 Protein transfer at the cuantitation of the humoral immune response within the central nervous system. Clinica Chimica Acta 163: 319-328.

Richards, F.O., Schantz, P.M., Ruiz-Tiben, E. y Servillo, F.J. 1988 Cysticercosis in Los Angeles Country., Journal American Medical Association. 254: 34-44.

Ridaura, C. Cisticercosis en Pediatria: observaciones en material postmortem 1989 En Cisticercosis Humana y Porcina su concocimiento e investigacion en México Ed Flisser, A. y Mondragón, Editorial Limusa, pag 125-127

Rosas N., Sotelo J , Nieto D. 1986. ELISA in the diagnosis of neurocysticercosis Arch Neurol Vol. 43 pags 353-356

Salalzar-Schetino, P.M. 1987 Estudios sobre algunos aspectos biológicos de la cisticercosis en: Cisticercosis Humana y Porcina Ed. Flisser, A., Malagón, F. CONACyT. Noriega, Ed. México, D.F.

Sarti-Gutiérrez, E.J., Schantz, P M., Lara-Aguilera,R., Gómez-Dandoy, H.J., Flisser, A 1988. *Taenia solium*, teniasis and cysticercosis in a México village. Trop Med Parasitol. 39: 194-198.

Schantz, P., Shanks, D., Wilson, M., 1980. Serologic cross-reaction with sera from patients with echinococcosis and cysticercosis.Am. J. Trop. Med. Hyg. 29 (4) 609-612.

Sciutto E., Fragoso, G., Díaz, M.L., Valdez, F., Montoya, R.M., Govezensky, T , Lomelí. C., Larralde, C. 1991. Murine *Taenia crassiceps* cysticercosis: H-2 complex and sex influence on suceptibility. Parasitol. Res. 77: 243-246.

Sciutto, E., Fragoso, G., Trueba, L., Lemus, D., Montoya, R.M., Díaz, M.L., Govezensky, T., Lomelí, C., Tapia, G., Larralde, C. 1990. Cysticercosis vaccine: cross protecting immunity with *T. solium* antigens agains experimental murine *T. crassiceps* cysticercosis. Parasite Immunology 12: 687-696.

Schantz P M., Moore, A. C., Muñóz, J L., Hartman, B. J., Schaefer, J. A., Aron, A. M., Persaud D., Sarti E., Wilson M., Flisser A. 1992 Neurocysticercosis in an orthdox Jewish community in New York city. N. Engl. J. Med. 327(10) 692-695.

Schantz, P.M., Tsang V C W , Madison S E. 1988 Serodiagnosis of neurocysitcercosis. Rev. Infect. Dis. 10:1231.

Sheldom T B., Brown A E., Fillppa D A., Coit D., Armstrong D. 1992 Extraneural cysticercosis presenting as a tumor in a seronegative patient. Clin. Infec. Dis. 14: 53-55.

Shenome H., Villaroel F., Rojas A., Ramírez R. 1982 Epidemiology of Human Cysticercosis in Latin America En: Flisser A., Willms K., Laclette J.P., Larralde C., Ridaura C., Beltrán F. Editores. Cysticercosis Present State of Knowledge and perspectives. New York, N.Y. Academic Press. p 25-38.

Shepherd J.C., McManus D.F.1987. Specific and cross-reactive antigens of *E. granulosus* hydatidic cyst fluid. Mol Biochem. Parasitol. 25: 143-154.

Shriqui C.L, Milette P.C, 1992. You drive me crazy: a case report of acute psychosis and neurocysticercosis. Can. J. Psychiatry. 37 (2):121-4.

Sotelo, J. 1985 ELISA en el diagnóstico de neurocisticercosis. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México, CONACyT. p 165-187.

Sotelo, J , Guerrero, V , Rubio, F [illegible] active and inactive forms a study of 53 cases Arch [illegible] 112-115

Tellez-Girón, E , Ramos, M C , Alvarez, P , Dufoo, L , Montalvo, [illegible] Detection and characterization of antigen from *Taenia solium* cysticercus (cerebrospinal fluid) Acta Leindensia 57(2) 101-105

Terrazas I., Bojalil R , Govezensky T Larralde C , 1993 Immunoendocrine Interactions in experimental murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*) a rol del 17 b-estradiol en prensa.

Tsang, V.C.W , Band, J.A y Boyer, A.E An enzyme-linked immunoelectrotrasnfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosis human cysticercosis (*Taenia solium*) The Journal of Infectious Disease 1989, 159(1) 50-59

Valdez, F., Fragoso G., Hernández, M , Govezensky, T , Sciutto, E 1993. Cysticercosis vacccine: identifaction of mouse relevans antigens involved in protection J of Parasitology. Articulo enviado a publicar.

Varma, T.K., Alhuwalia, S. S., 1989. Incidence of *Cysticercus cellulosae* in slaughtered pigs and human taeniasis in Western and Central Uttr Pradesh. Indian Veterinary Journal 66 (7): 673-674.

Velasco-Suárez, M., Bravo, M.A., Quirasco, F., 1982. Human cysticercosis medical implications and economic impact. En: Cysticercosis Present State of Knowledge and Perspectivs. Flisser, A., Laclette, J.P., Larralde, C , Ridaura, C , y Beltrán, F. (Editores) Academic Press, N.Y p 47-52.

Wadia, N., Desai, S., Bhatt, M. 1988 Disseminated cysticercosis new observations. including CT scan finding and experience with treatment by praziquantel. Brain 111: 597-614.

Wei, G.Z., Meng, J.M , Ding M.C., 1988 Cysticercosis of the central nervous system Ackubucak study of 1400 cases. Chinese Medical Journal 101 (7): 493-500

Wel, G.Z., Li, C.J., Meng, J.M. y Ding, M.C. Cysticercosis of the central nervous system. Ackubucak study of 1400 cases. En: Chinese Medical Journal, 1988. 101(7). 493-500.

Williams J F., Engelkirk P G., Lindsay M C., 1982 Mechanism of immunity in rodent cysticercosis. In: Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C , Ridaura, C y Beltrán, F. (Eds.) Acad. Press. New Yorkm, N.Y. p 621-632.

Williams, J., Picone, J , Engelkirk, P. 1980 Evasion of inmunity by cestodes. In the host invader interplay, van den Bossche, H Ed. Amsterdan. Elsevier North Holland Biomedical Press. p. 205-216.

Woodhouse E., Flisser A., Larralde A. 1982. Seroepidemiology of human cysticercosis in México. En: Cysticercosis Present State of Knowledge and Perspectives Flisser, A., Willms, K , Laclette, J.P., Larralde, C , Ridaura C , Beltrán F (Editores) Academic Press. New York, N.Y. p 11-24.

Yakolleff-Greenhouse, V., Flisser, A., Sierra, A., Larralde, C. 1982. Analysis of antigenic variation in cysticerci of *Taenia solium*. J. Parasitol. 68(1): 39-47.

Zenteno G. 1965. Aspectos quirúrgicos de 200 personas internadas en la unidad de neurología y neurocirugía del Hospital General de México SSA. 1959-1963. Rev. Med. Hosp. Gral. Mex. 28: 515-525.