

74
20j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACION DE DIFERENTES ENZAYOS
INMUNOENZIMATICOS (ELISA) PARA LA DETECCION
DE LA CISTICERCOSIS HUMANA Y PORCINA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A.

CONSTANTINO BELTRAN JUAREZ

Directora de Tesis: EDDA L. SCIUTTO CONDE



México, D.F.

1997

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVÉÑMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
P r e s e n t e

Comunicármós à usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: EVALUACION DE DI-
FERENTES ENSAYOS INMUNOENZIMATICOS (ELISA) PARA LA DETECCION
DE LA CISTICERCOSIS HUMANA Y PORCINA.
realizado por CONSTANTINO BELTRAN JUAREZ

con número de cuenta 8453299-6 , pasante de la carrera de BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dra. EN IBB. EDDA L. SCIUTTO CONDE

Propietario Dr. EN C. GUILLERMO SALGADO MALDONADO

Propietario BIOLOGO PABLO MACIAS NUÑOZ

Suplente M. EN C. Ma. TERESA HERNANDEZ GOMEZ

Suplente BIOLOGA. EXP. EN ~~LABORATORIO~~ DE INVESTIGACIONES HERNANDEZ GONZALEZ

M. EN C. ALEJANDRO MARTINEZ MENA

Consejo Departamental de Biología

COMITÉ DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

DE BIOLOGIA

Guillermo Salgado Maldonado
Eda L. Sciutto Conde
Pablo Macías Nuñez
Teresa Hernández Gómez
Marta del Río

[Handwritten signature]

Agradecimientos.

A la Dra. Edda Sciutto Conde por haberme permitido formar parte de su grupo de investigación, así como por la confianza que me brindó para la realización de este trabajo. Por ser una gran tutora, Gracias.

R. Marisela Hernández González por la supervisión y entrenamiento técnico para el desarrollo de este trabajo de tesis. Por todo el tiempo y paciencia que tuvo.

En este trabajo se utilizó material biológico obtenido a partir de proyectos desarrollados en colaboración con:

Hospital Nacional de Neurología y Neurocirugía.
Por el Dr. Julio Sotelo y la Dra. Esperanza García.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Por la Dra. Aline Aluja, los M. V. Z. Nelly Villalobos, Luis Felipe Rodarte y Fernando Ivan Flores Pérez.

Del rastro de Zacatepec, Morelos.
Por Raúl Samano, Nelly Villalobos, R. Marisela Hernández y Mercedes Baca.

De la localidad de Tianquizolco, Gro.
Por la Dra. Aline Aluja y el Estudiante de doctorado José Juan Martínez Maya.

Parkhouse R.M.E., Harrison L.J.S. Por la aportación del equipo para la medición del Ag de secreción del cisticerco.

Este trabajo fue realizado con el financiamiento de la Comunidad Económica Europea, CONACyT y DGAPA.

**Después del paso del tiempo,
no se pregunten cuanto o
como me apoyaron
sólo disfruten
de lo que hoy
he conseguido.**

Constantino Beltrán Juárez

**ESTA TESIS ESTA DEDICADA MIS PADRES
BRIJIDO BELTRAN DOMINGUEZ Y ROSA JUAREZ ORTEGA
CON MUCHO AMOR Y RESPETO.**

A mis hermanos, Francisca, Sofía, Roberto, Catalino, Antonia

A mis cuñados, Paula, Manuel, Ciro.

A mis sobrinos, Ma. Concepción, Elia, Eduardo, Rosa, Alba, Nancy, Araceli, Victoria, Carlos, Cesar, Jorge, Armando, Karen, Rosa Isela, Nicheha, Itzel, David, Joselin, Juan, Alejandro, Axel, Jessica, Viky.

Matías, Salvador, Cesar, Marlen, Juan, José Luis.

A mis tíos, Remedios, Angela, Lorenzo, Juan, Guadalupe, Nicomedes, Clara, Juana, Sara y a todos mis primos por apoyarme siempre en todo, gracias por su confianza.

A mi tío Alfonso que aunque ya no estas con nosotros, siempre te recordaremos.

Quiero a agradecer muy especialmente a:

Al Ing. Luis Matamoros, su esposa Martha Inzua y su hija Aline

A Juan Melquiades, su esposa Hortensia Ramírez y su hija Jovana

Hilda Zaragoza, porque en ustedes encontré amistad, apoyo, verdaderos amigos en quien poder confiar y que a través del tiempo, ustedes ya forman parte de mi familia, gracias por su amistad.

A todos mis compañeros de los laboratorios donde he trabajado, en los que siempre encontré un consejo o una opinión que me ayudara a seguir adelante. Muchas gracias por su valiosa ayuda y por tenerlos como compañeros y amigos.

Biol Exp. Marisela Henández
Dra. Gladys Fragozo
Biol. Gabriela Rosas
M.V.Z. Marco A. Bonilla
Biol. Exp. Gonzalo A. Acero
QFB. Andrea Toledo
Biol. Carmen L. Cruz
Biol. Gemma García
QFB. Sergio López
QFB. Mercedes Baca
Biol. Sara León
Biol. Manuel Rivera
Biol. Tere Romero
 Eileen Uribe y Rafa
 Luis Ramírez
 Isabel Reyes
 Prima Salazar
M. en C. Agustín Plancarte
QFB. Ma. Rosa Rico
QFB. Araceli Salgado
QFB. Lilia Valdés
Biol. Patricia Alcántara
Biol. Fernando Cazares
Biol. Araceli Farfan

QFB. Olga Mata
QFB. Joel Vázquez
QFI. Antonio Meza
QFB. Gustavo Miramon
QFB. Mayra Cruz
QFB. Gilberto Vaughan
QFB. Jorge Mora
Biol. Lourdes Caballero
QB. Beatriz E. Sánchez
Biol. Elba Carrasco
QFB. Georgina Nieto
QBP. Angelica Amador
Biol. Yolanda Medina
Biol. América Mandujano
Biol. Maribel Puebla
Biol. Tomasa León
Biol. Carmen Huerta
Biol. Esteban Rodriguez
Biol. Edith Medina
Biol. Eric Gutierrez
Biol. Zoila Morales
Biol. Cristina Becerril
 Aaron Gutierrez
Biol. Patricia Vilches

A Ruben, Jesús, Adolfo, Edgar, Miguel, David, Daniel, Angel, Armando, Ulises, Gerardo, Orlando, Rogelio, por aguantar, mis locuras, mis malos ratos y aún así, seguir compartiendo su amistad conmigo, gracias por su apoyo muchachos y espero que sigan aguantandome toda la vida.

INDICE

RESUMEN	-----	1
INTRODUCCION	-----	2
OBJETIVOS	-----	17
MATERIALES Y METODO	-----	18
RESULTADOS	-----	25
DISCUSION	-----	44
CONCLUSION	-----	49
BIBLIOGRAFIA	-----	50

RESUMEN

Con el propósito de contribuir al inmunodiagnóstico de la cisticercosis hemos evaluado tres pruebas, utilizando un banco de sueros de cerdos, humanos y líquido cefalorraquídeo (LCR) de individuos con diagnóstico confirmado.

Uno de estos ensayos consiste en la detección de anticuerpos anti-cisticercos (Ac) por medio de ELISA utilizando antígeno del fluido vesicular del cisticerco de *Taenia solium*; un segundo ensayo que consiste en la detección del antígeno de secreción HP10 (Ag), y un tercer ensayo basado en la captura de Ac específicos contra HP10 (anti-HP10).

Los resultados indican que el ensayo para la detección de Ag de secreción en sueros de cerdos criados en granjas tecnificadas presentan una alta sensibilidad y especificidad del 84% y 95%, respectivamente. En Ac totales también se obtuvo una alta sensibilidad (86%) y especificidad (95%). Sin embargo, ambas pruebas evaluadas en sueros de cerdos criados en forma rústica tanto la sensibilidad como la especificidad bajaron considerablemente, obteniéndose con la técnica de detección de Ag de secreción una sensibilidad del 55% y una especificidad del 75% y, con la detección Ac totales una sensibilidad y especificidad del 66%. En la evaluación realizada utilizando sueros de humanos la detección de Ag de secreción presentó una sensibilidad del 42% y una especificidad del 87% y para Ac fue del 91% en sensibilidad y 73% de especificidad. En LCR los resultados fueron similares.

Estos resultados indican que las pruebas serológicas son buenas para la evaluación de sueros de cerdos criados en granjas tecnificadas y pueden apoyar al diagnóstico de la cisticercosis humana utilizando sueros y LCR. Sin embargo, no se recomienda su uso para el diagnóstico de cisticercosis en cerdos criados rústicamente.

INTRODUCCIÓN

Taenia solium es un parásito capaz de producir dos formas de enfermedad en el ser humano, la teniasis causada por la fase adulta y la cisticercosis por la fase larvaria.

La teniasis-cisticercosis tiene distribución amplia en Asia, Africa y América Latina, prevaleciendo en países en vías de desarrollo donde las condiciones socioeconómicas deficientes, ayudan a la propagación del parásito. Actualmente, es difícil estimar con precisión la prevalencia de la teniasis-cisticercosis causada por *Taenia solium*. Los datos más confiables sobre la prevalencia de cisticercosis en humanos provienen del diagnóstico post-mortem obtenido en necropsias. Sin embargo, la información es limitada pues estas no se practican regularmente. Los datos más recientes al respecto, indican una incidencia de cisticercosis de más del 1% en distintas instituciones hospitalarias.

La prevalencia de cisticercosis porcina en rastro se estima entre 0.005 y un 10% dependiendo de la zona. Sin embargo, esta información no refleja la incidencia de los animales criados bajo condiciones rústicas y sacrificados en forma clandestina, cuya producción representa aproximadamente el 40% de la población porcina (Flisser, et al. 1982). Estudios de incidencia de cisticercosis porcina realizados en zonas rurales, indican un alto porcentaje de esta parasitosis. Así, en la población de Emiliano Zapata, localizada en el estado de Puebla, por palpación en lengua se ha diagnosticado que el 15% de los cerdos están infectados. Mientras tanto en Tianquizolco Guerrero, la Dra. Aline Aluja indica en estudios de necropsias hasta un 60% de cerdos infectados (comunicación personal).

Ciclo de vida de *Taenia solium*

El humano adquiere la teniasis por la ingestión de carne con cisticercos viables. El cisticerco al ser ingerido viaja por el tracto digestivo y se fija por medio del escólex a la pared del intestino donde se desarrolla hasta madurar y alcanzar la fase adulta, en un período de aproximadamente dos meses. La tenia, esta constituida por un escólex o cabeza y un cuello, a partir del cual se producen los proglótidos o segmentos. Los proglótidos más cercanos al cuello son inmaduros y los más distantes grávidos ó maduros, los cuales llegan a contener hasta 50,000 huevecillos por proglótido. Se considera que un individuo parasitado elimina diariamente de 3 a 5 proglótidos. La cisticercosis tanto humana como porcina es adquirida por la ingestión de huevecillos de *Taenia solium* que son excretados en las heces fecales de los portadores del parásito adulto, conocido con el nombre de solitaria. El huevecillo llega al intestino delgado (duodeno) y por la acción de los jugos gástricos desintegra el embrióforo y la oncosfera o embrión hexacanto, que ayudado por sus ganchos penetra a través de la mucosa intestinal hasta alcanzar los vasos mesentéricos, a través de los cuales son arrastrados hacia cualquier órgano o tejido, llegándose a localizar en músculo esquelético, sistema nervioso, ojos, tejido graso subcutáneo, corazón, etc .. (Fig. 1).

La cisticercosis es conocida desde los tiempos de Aristóteles y Aristófanes como una enfermedad del cerdo. La primera descripción en el ser humano fue en 1550 por Paranoli, quien encontró vesículas redondas y llenas de líquido en el cuerpo caloso de un individuo que murió a consecuencia de un evento vesicular cerebral. Paranoli no identificó estas vesículas como parásitos; sin embargo, Malpighi en el siglo XVII y posteriormente, Laennec, fueron quienes denominaron a estas vesículas como cisticercos, nombre que deriva de la raíces griegas "kistic" y "kerkos" que significa quiste y cola. El termino *cellulosae* fue agregado posteriormente por Rudolphi, debido a la afinidad de estos parásitos por el tejido conectivo (Nieto, D. 1956). A mediados del siglo XIX, varios investigadores Alemanes demostraron la asociación entre el cisticerco y *Taenia solium*, estableciendo que los cisticercos son la fase larvaria del céstodo adulto. Los reportes subsecuentes han sido numerosos y actualmente se considera a la cisticercosis como la parasitosis más frecuente del Sistema Nervioso Central (SNC), además de estar íntimamente relacionada con factores económicos y socioculturales.

En Europa la NCC fue endémica en los años de pre-guerra posteriores al regreso masivo de los soldados provenientes de la India; sin embargo, las medidas sanitarias que se implementaron redujeron su frecuencia hasta casi eliminarla. En Asia, África y América Latina (Costero, I. 1946) dicha enfermedad siempre ha sido endémica y representa un serio problema de salud pública.

Teniasis-cisticercosis humana

La teniasis es una infección intestinal del ser humano, no fatal y generalmente asintomática, ocasionalmente puede producir síntomas, como dolor abdominal, náusea, y pérdida de peso, incremento o disminución de apetito, cefalea, mareo, etc. Este tipo de síntomas dificulta el diagnóstico clínico ya que puede confundirse con otra enfermedad, aún la expulsión y análisis de proglótidos no permiten distinguir la especie de tenia de la que provienen *Taenia saginata* o *Taenia solium*. A diferencia de la tenia, el cisticerco en el hombre, puede afectar cualquier tejido u órgano del individuo, aunque la localización más frecuente del cisticerco es en el sistema nervioso central, donde se produce la enfermedad más severa. Se ha reportado que el 50% de los pacientes neurocisticercos son asintomáticos y si llegan a presentar síntomas, se presentan años después de la infección. Por el contrario, en los casos sintomáticos los pacientes pueden llegar a presentar cuadros neurológicos gravísimos que incluyen manifestaciones neurológicas como cefaleas y menos frecuentemente convulsiones, hipertensión endocraneal, encefalitis o meningitis, por lo que a veces es necesaria la hospitalización del paciente para su tratamiento (Sotelo, et al., 1989).

Tratamiento de la cisticercosis

El tratamiento de la neurocisticercosis humana depende de múltiples factores tanto biológicos como económicos. Algunos casos requieren de cirugía descompensiva, derivación de líquido cefalorraquídeo y extirpación de los parásitos. Otros se tratan con productos farmacológicos, analgésicos, anticonvulsivos y esteroides. Desde 1979, se ha propuesto un tratamiento químico antiparasitario por medio de praziquantel, éste ha dado muy buenos resultados (Torres, et al., 1992), sin embargo, su aplicación y evaluación debe realizarse bajo control especializado ya que requiere de un seguimiento con estudios imagenológicos de tomografía axial computada (TAC) e imagen de resonancia magnética nuclear (IRMN) (Escobedo, F. 1985). Actualmente, el diagnóstico serológico sólo se considera como un dato adicional complementario al diagnóstico clínico. El Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN) ha reportado que las infecciones parasitarias, continúan siendo un problema de salud pública en México (Tabla 1).

La tabla 1 se muestra la incidencia reportada de cisticercosis en nuestro país, que refleja la frecuencia de esta enfermedad.

Teniasis-cisticercosis humana

La teniasis es una infección intestinal del ser humano, no fatal y generalmente asintomática, ocasionalmente puede producir síntomas, como dolor abdominal, náusea, y pérdida de peso, incremento o disminución de apetito, cefalea, mareo, etc. Este tipo de síntomas dificulta el diagnóstico clínico ya que puede confundirse con otra enfermedad, aún la expulsión y análisis de proglótidos no permiten distinguir la especie de tenia de la que provienen *Taenia saginata* o *Taenia solium*. A diferencia de la tenia, el cisticerco en el hombre, puede afectar cualquier tejido u órgano del individuo, aunque la localización más frecuente del cisticerco es en el sistema nervioso central, donde se produce la enfermedad más severa. Se ha reportado que el 50% de los pacientes neurocisticercos son asintomáticos y si llegan a presentar síntomas, se presentan años después de la infección. Por el contrario, en los casos sintomáticos los pacientes pueden llegar a presentar cuadros neurológicos gravísimos que incluyen manifestaciones neurológicas como cefaleas y menos frecuentemente convulsiones, hipertensión endocraneal, encefalitis o meningitis, por lo que a veces es necesaria la hospitalización del paciente para su tratamiento (Sotelo, et al., 1989).

Tabla I. Casos de enfermedades infecciosas y parasitarias reportados por diversas instituciones de salud pública, en el año de 1991. Fuente: Cuaderno 91 Sector Salud, S.S. 1993.

INSTITUCION	CISTICERCOSIS	TENIASIS	SARAMPION	M.BACT.	M.M	RABIA	TB.ME	LEPRA
SSA	76	8979	2181	477	1	34	211	231
IMSS	475	2346	1509	417	1	10	153	55
ISSSTE	68	818	648	34	0	2	28	13
OTRAS	55	599	739	191	1	4	0	11
TOTAL	674	12742	5077	1119	3	50	392	310

Los valores indican el número de casos reportados por cada institución

M. BACT.= Meningitis bacteriana

M. M.= Meningitis meningococcida

TB. MEN.= Tuberculosis meningea

Tratamiento de la cisticercosis

El tratamiento de la neurocisticercosis humana depende de múltiples factores tanto biológicos como económicos. Algunos casos requieren de cirugía descompensiva, derivación de líquido cefalorraquídeo y extirpación de los parásitos. Otros se tratan con productos farmacológicos, analgésicos, anticonvulsivos y esteroides. Desde 1979, se ha propuesto un tratamiento químico antiparasitario por medio de praziquantel, éste ha dado muy buenos resultados (Torres, et al., 1992), sin embargo, su aplicación y evaluación debe realizarse bajo control especializado ya que requiere de un seguimiento con estudios imagenológicos de tomografía axial computada (TAC) e imagen de resonancia magnética nuclear (IRMN) (Escobedo, F. 1985). Actualmente, el diagnóstico serológico sólo se considera como un dato adicional complementario al diagnóstico clínico. El Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN) ha reportado que las infecciones parasitarias, continúan siendo un problema de salud pública en México (Tabla 1).

La tabla 1 se muestra la incidencia reportada de cisticercosis en nuestro país, que refleja la frecuencia de esta enfermedad.

Tabla II. Frecuencia de cisticercosis porcina en 75 rastros de 22 estados de la República Mexicana. Tomado de Flisser, *et al*, 1982.

Estado y localidad	Frecuencia (%)	Año	Origen*
Aguascalientes			
Aguascalientes	0.32	1950	SSA
Campeche	Datos no facilitados		
Chiuhuitlancillo			
Chiuhuitlancillo TIT ^b	0.49	1950	SARH
Chiuhuitlancillo	1.32	1950	AI
	1.63	1951	AI
Colima			
Colima, Villa Ahuesca,			
Compostela, Comala	2.4	1950	AI
Coahuila			
Turkey	2.37	1951	AI
Durango Federal (Mexico City)			
Parral	0.12	1950	SSA
	0.16	1951	SSA
Guerrero			
Guerrero	2.24	1950	AI
Guatemala			
Guatemala	10.0	1951	AI
San Felipe	3.0	1951	AI
Jalisco			
Guadalupe	0.003	1950	SSA
México (State)			
39 rastros	0.22 (0.07-7.9)	1950	SSA
Michoacán			
La Florida	10.0 ^c	1950	SARH
Morelos			
Chetumala	0.27	1950	SSA
Juchitán, Zacatepec, Tlalquiltepec, Pánuco de Ojeda			
	1.9	1950	AI
Morelos (State)			
Atlixco	0.004	1950	SSA
	0.016	1951	SSA
Quintana Roo			
Quintana Roo	0.36	1950	SSA
	0.74	1951	SSA
San Luis Potosí			
San Luis Potosí	0.57	1950	SSA
	0.19	1951	SSA
Sonora			
Hermandad	0.07	1950	SSA
Tamaulipas			
Tamaulipas	Cerdos no sacrificados en estos rastros		
Camalé, Victoria	0.37	1950	SSA
Tlaxcala			
Tlaxcala	1.0	1951	AI
Atlixco	0.63	1950	AI
	3.2	1950	AI
Veracruz			
Jalapa	0.11	1950	SSA
Veracruz	0.73	1950	SSA
Xicapotlán	1.05	1950	SSA
Yucatán			
Uxmal	0.01	1950	SSA
Zacatecas			
Zacatecas	0.75	1950	SSA
	2.10	1950	SSA
	1.26	1950	SSA

* Datos no publicados obtenidos de: SSA, Secretaría de Salud; AI, Registros del rastro municipal; SARH, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.

^b TIT, rastros en donde se prepara la carne para exportación, SARH.

^c Valor Estimado.

Cisticercosis porcina

Actualmente el consumo de carne de cerdo no inspeccionada, es la fuente principal de la teniasis, por lo que es importante examinar los métodos de crianza y comercialización de la carne de cerdo, ya que frecuentemente estos son sacrificados y vendidos clandestinamente a personas sin escrúpulos que propician el comercio y consumo de carne infectada. La cisticercosis es conocida con diferentes sobrenombres como granillo, tomatillo, grauo, granizo, zahuate, alegría y ladilla.

La práctica de alimentar a los cerdos con heces fecales humanas, lejos de ser insólita o accidental, es muy común en las regiones rurales de los países afectados por teniasis-cisticercosis y, sus principales causas radican básicamente en las condiciones socioeconómicas de sus habitantes. La información sobre la prevalencia de la cisticercosis porcina se ha obtenido en base a los registros de inspección sanitaria aplicados a nivel de rastros, (Tabla II) tomado de Flisser, et al., 1982.

Tabla III. FRECUENCIA DE DECOMISO POR CISTICERCOSIS PORCINA EN 75 RASTROS (18 ESTADOS) DE LA REPÚBLICA MEXICANA DURANTE 1980-1981. Tomado de Aluja et al. (1987).

ESTADO	LOCALIDAD	FRECUENCIA	AÑO
AGUASCALIENTES CHIHUAHUA	AGUASCALIENTES	0.52	1980
	CHIHUAHUA	0.49	1980
	CHIHUAHUA	3.32	1980
	CHIHUAHUA	1.65	1981
COLIMA	VARIOS	2.4	1980
COAHUILA	TORREÓN	2.37	1981
DISTRITO FEDERAL	MÉXICO, CIUDAD	0.13-0.16	1980-1981
DURANGO	DURANGO	2.21	1980
GUANAJUATO	OCAMPO	10.0	1981
	SAN FELIPE	3.0	1981
	JALISCO	GUADALAJARA	0.005
MICHOACÁN	LA PIEDAD	10.0	1980
MORELOS	VARIOS	1.9	1980
	CUERNAVACA	0.37	1980
	NUEVO LEÓN	MONTERREY	0.004-0.016
QUERÉTARO	QUERÉTARO	0.56-0.74	1980-1981
SONORA	HERMOSILLO	0.07	1980
TAMAULIPAS	Cd. VICTORIA	0.37	1980
TLAXCALA	HUAMANTLA	0.63	1980
	APIZACO	3.3	1980
	VERACRUZ	JALAPA	0.11
VERACRUZ	VERACRUZ	0.75	1980
	TUXPAN	1.08	1980
	YUCATÁN	MÉRIDA	0.04
ZACATECAS	JERÉZ	0.75	1980
	FRESNILLO	2.10	1980
	ZACATECAS	1.26	1980
TABASCO	N/SE ENCONTRÓ INF.		
CAMPECHE	N/SE ENCONTRÓ INF.		

La Tabla III muestra la frecuencia de decomiso de cerdos infectados con cisticercos en 18 Estados de la Republica Mexicana, variando el porcentaje de un Estado y otro, ocasionando grandes pérdidas económicas a nivel nacional, (Aluja, et al., 1987). Actualmente, el método para detectar cisticercosis porcina, es el exámen de lengua de los cerdos en pic. Esta prueba tiene una sensibilidad del 50% y una especificidad del 80%, solo si es realizada por personal capacitado. En rastro el diagnóstico se realiza por la inspección de la carne en un corte prácticado en la espaldilla, éste procedimiento presenta una sensibilidad de aproximadamente el 50%.

En la tabla III solo contempla los cerdos cisticercosos que se envían al rastro, aunque se estima por los trabajos realizados en campo que el porcentaje de cisticercosis es mayor (Aluja , et al 1987).

Diagnóstico

El diagnóstico clínico para la detección y confirmación de un caso de cisticercosis se basa en la información obtenida de estudios imagenológicos o de gabinete y por medio de tomografía axial computarizada (TAC) o resonancia magnética (IRM). El diagnóstico inmunológico o de laboratorio, actualmente se utiliza en el área médica como una herramienta adicional al diagnóstico de la neurocisticercosis. Hasta la fecha, se han utilizado una gran variedad de métodos inmunológicos, dirigidos a determinar la presencia de anticuerpos específicos contra el cisticerco de *Taenia solium*.

Entre ellos podemos citar:

- 1.- La reacción de precipitación en tubo
- 2.- La doble inmunodifusión.
- 3.- La inmunoelectroforesis.
- 4.- La reacción de fijación de complemento (Reacción de Nieto).
- 5.- El radioinmunoensayo.
- 6.- La inmunofluorescencia indirecta.
- 7.- La hemaglutinación pasiva.
- 8.- El ensayo inmunoenzimático (ELISA).
- 9.- La inmunoelectrotransferencia (IET).

Sin embargo, ninguna de las pruebas utilizadas han permitido un diagnóstico definitivo por lo que se consideran solo como una herramienta de apoyo adicional a estudios clínicos y epidemiológicos en el diagnóstico y determinación de la frecuencia de la parasitosis en la población. La primera prueba en utilizarse fue la reacción de fijación de complemento (Nieto, D. 1956) y probablemente por razones históricas, hasta la fecha se continua utilizando con algunas modificaciones (García, et al., 1988). Algunas de estas pruebas han dejado de ser utilizadas y han sido substituidas por otras más sensibles y específicas como el ELISA e IET. Ambas pruebas han sido empleadas para la evaluación de sueros y LCR de pacientes neurocisticercosos, logrando obtener una sensibilidad del 85% en suero y 95% en LCR (Plancarte, et al., 1987). Estudios más recientes en una muestra extensa recopilada en el INNN indica resultados menos alentadores (Ramos, et al., 1992). El ensayo de inmunoelectrotransferencia (IET) hasta el momento ha sido propuesto como la prueba de referencia para el diagnóstico ya que tanto en suero como en LCR presenta una alta sensibilidad (98%) y especificidad (100%) (Tsang, et al., 1989). Sin embargo los propios autores refieren que la IET detecta solo el 60% de los individuos con lesiones únicas, por lo que queda aún por conocer los resultados obtenidos en muestras más extensas. Las variaciones de las manifestaciones clínicas de los pacientes y las localizaciones de los cisticercos, así como el grado de respuesta inflamatoria del hospedero ante la presencia del parásito en el SNC, (Sotelo, et al., 1989) indican que la respuesta inmune asociada a la cisticercosis resulta muy heterogénea, considerando que esto pueden ser una de las principales dificultades para el diseño de procedimientos inmunodiagnósticos más eficientes.

En tanto, los procedimientos imagenológicos como TAC y IRMN resultan ser métodos de gran utilidad para el diagnóstico e identificación de la NCC, ambos permiten identificar en algunos casos hasta el número, localización y estado de los parásitos (Sotelo, M.J. 1996). Considerando su costo y dificultad de empleo en forma extensa justifica los intentos por disponer de pruebas más sensibles de bajo costo.

En este trabajo de tesis se evaluaron distintos ensayos de ELISA y su capacidad diagnóstica en la cisticercosis humana y porcina. La técnica de ELISA es un método inmunológico que se ha utilizado ampliamente en la determinación de anticuerpos o de antígenos en parasitología, bacteriología, virología, etc (Alcantara, et al., 1993). La técnica de ELISA para la determinación de antígenos circulantes, se basa en la fijación de un anticuerpo a la placa para la detección de Ag de secreción de cisticerco, presentes en suero o LCR. El mismo anticuerpo asociado a una señal se utiliza para revelar el Ag capturado. La técnica de ELISA para la determinación de anticuerpos anti-cisticercos, se basa en la fijación del Ag total del cisticerco de *Taenia solium* al que se fijan los Ac presentes en el suero o líquido cefalorraquídeo. Si la muestra contiene anticuerpos específicos para los Ag, estas van a ser detectados con un segundo anticuerpo (anti-inmunoglobulinas humanas o de cerdo, dependiendo de la muestra a valorar) acoplado a una enzima. La adición de sustrato enzimático revela la presencia del complejo dando un producto colorido, que es cuantificado en un espectrofotómetro o lector de ELISA (Alcantara, et al., 1993).

Consideraciones en el diagnóstico de la neurocisticercosis

Las pruebas de inmunodiagnóstico no pueden señalar la ubicación específica del parásito y esto es muy importante para el destino de la enfermedad. El análisis de LCR ha mostrado ser mucho más confiable que el suero, probablemente a consecuencia de que en LCR hay menos probabilidad de detectar Ac de reacción cruzada producido por infecciones con otros parásitos. Sin embargo, es difícil obtenerlo por razones médicas y sociales. La TAC e IRMN, presentan el problema de ser estudios muy caros, esto es muy importante ya que la mayoría de los pacientes pertenecen a grupos socioeconómicos de bajos recursos. La TAC detecta con mayor precisión lesiones causadas por la NCC, como calcificaciones, quistes e hidrocefalia. Sin embargo, su utilización es limitada en los casos de localización de quistes, intraventriculares y oculares en la base del cráneo, así como en la evaluación de edema perilesional e infartos por oclusión vascular. Para todas estas limitaciones de la TAC, la IRMN provee información superior, sin embargo, ésta no detecta lesiones calcificadas lo cual es un factor limitante de gran importancia debido a que las calcificaciones parenquimatosas son las alteraciones más frecuentes causadas en la NCC. De aquí, se considera que la TAC es de mayor utilidad para la detección de alteraciones y en cuestión de gastos resulta ser más económica que la resonancia magnética (IRMN) (Sotelo, et al., 1996).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

- Evaluación de la sensibilidad y especificidad de dos pruebas de ELISA en la detección de la cisticercosis humana y porcina.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- Determinar la presencia de anticuerpos anti-cisticerco en sueros y LCR de individuos sanos e infectados.
- Evaluar la presencia de anticuerpos anti-cisticerco en sueros de cerdos infectados, natural y experimentalmente.
- Evaluar la presencia de anticuerpos anti-cisticerco en sueros de cerdos provenientes de granjas tecnificadas y criados bajo condiciones rústicas.
- Comparar los resultados obtenidos con los diferentes procedimientos diagnósticos utilizados (detección de Ac totales anti-cisticerco, Ag de secreción HP10 y Ac anti-HP10) en las diferentes poblaciones ensayadas.

MATERIALES Y METODOS

En este estudio se evaluó la sensibilidad y la especificidad del ensayo de ELISA para la detección de Ag y Ac en el inmunodiagnóstico de la cisticercosis humana y porcina.

a) Se estudió la capacidad diagnóstica del ensayo de ELISA para la detección de anticuerpos utilizando antígeno del líquido vesicular de cisticerco de *Taenia solium*.

b) Se estudió la capacidad diagnóstica para la detección del Ag de secreción HP10 de cisticerco de *Taenia solium*, en un ensayo de ELISA, utilizando el Ac monoclonal anti-HP10.

En este estudio se utilizaron las siguientes muestras biológicas.

a)- 293 sueros de cerdos sanos e infectados y reinfectados experimentalmente con un alto grado de infección, los resultados se procesaron y se compararon las técnicas de detección de Ag, Ac y anti-HP10. Se evaluó la sensibilidad y especificidad del ensayo de detección de Ac totales.

b).- 32 sueros de cerdos provenientes de granjas tecnificadas, sanos según el diagnóstico obtenido en el rastro (D.F).

c).- 191 sueros de cerdos mestizos criados rústicamente provenientes de Estado de Morelos y Puebla, con diagnóstico obtenido por disección de lengua.

d).- 43 sueros de cerdos criados rústicamente en la población de Tianquizolco (Gro. México) diagnosticados por necropsia. Estos resultados se someterán a un análisis de correlación entre el número de parásitos y los niveles de Ag y Ac detectado.

e).- 392 sueros de humanos, con diagnóstico confirmado en base a exámenes imagenológicos (TAC, IRMN) practicados en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (México D.F.). Se evaluó la sensibilidad y especificidad de las pruebas de detección de Ag y Ac.

f).- Un conjunto de 112 LCR de pacientes con distintas enfermedades neurológicas confirmadas como: tuberculosis meníngea, neoplasia, encefalitis viral, epilepsia etc, en base a exámenes clínicos e imagenológico (TAC, IRMN) practicados en el INNN. En esta muestra se evaluó la sensibilidad y especificidad del ELISA para Ag y Ac.

Obtención del Ag del líquido vesicular del cisticerco de *Taenia solium*

- 1.- Se extraen los cisticercos de la carne infectada por medio de disección, éstos se depositan en solución salina fisiológica (NaCl 0.15M) en baño de hielo y protegidos de la luz.
- 2.- Después de recolectar aproximadamente 20-30 cisticercos, se lavan de dos a cinco veces en solución salina.
- 3.- Los parásitos se colocan sobre un papel filtro para quitarles el exceso de solución.
- 4.- Se rompen las vesículas con una aguja y el fluido se colecta en viales eppendorf para posteriormente precipitar el Ca^{++} y determinar la concentración de proteínas por el método de Lowry.

Precipitación de Ca^{++} del Fluido Vesicular del Cisticerco de *Taenia solium*

La precipitación de Ca^{++} es necesario ya que puede interferir en las reacciones del ensayo de diagnóstico y en la conservación del fluido vesicular.

- 1.- A cada (ml) de fluido vesicular adicionar 50 μl de oxalato de amonio 0.3M y 7.5 μl de amoniaco en una dilución 1/10 (NH_4O).
- 2.- Centrifugar a 10,000 rpm durante 60 min a 4^o C.
- 3.- Colectar el sobrenadante.
- 4.- Hacer alicuotas de 50-200 microlitos y congelar a -70^o C

Determinación de la concentración de proteínas por el método de Lowry

Existen varios métodos disponibles para la determinación de proteínas en solución, el método de Lowry se basa en la reacción de biuret mas la reducción del reactivo fosfomolibdato-fosfotungstato (Folin) por la presencia de residuos de tirosina. Este método se recomienda para soluciones que contengan de 20 a 400 $\mu\text{g/ml}$, de proteína

Reactivos a utilizar.

Tartrato de sodio al 2% ($\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Sulfato de cobre al 1% (CuSO_4).

Hidroxido de sodio 1N (NaOH).

Carbonato de sodio (Na_2CO_3).

Preparar una solución de 0.1N NaOH al 2% con Na_2CO_3 . Adicionar: 5 ml de NaOH 1N + 40 ml H_2O + 1 gr. de Na_2CO_3 disolver y aforar a 50 ml con H_2O destilada.

Solución A. Mezclar 500 μl de tartrato de sodio 2% + 500 μl de sulfato de cobre 1% + 49 ml de NaOH 0.1N al 2% Na_2CO_3 .

Solución B: Preparar al momento. Folin - Ciocalteu 1:2.

Mezclar: 1 volumen de Folin - Ciocalteu + 1 volumen de H_2O destilada.

Albúmina serica bovina (BSA) 100 $\mu\text{g/ml}$ en H_2O .

1.- Realizar la siguiente curva estándar de albúmina para determinar, por extrapolación, la concentración de proteína en la muestra problema

No. tubo	albúmina (100 µg/ml)	agua destilada	Sol. A	Sol. B
1	1.0 ml	-----	3.0 ml	0.3 ml
2	0.8 ml	0.2 ml	3.0 ml	0.3 ml
3	0.6 ml	0.4 ml	3.0 ml	0.3 ml
4	0.4 ml	0.6 ml	3.0 ml	0.3 ml
5	0.2 ml	0.8 ml	3.0 ml	0.3 ml
6	-----	1.0 ml	3.0 ml	0.3 ml
7	*P1 1/100	-----	3.0 ml	0.3 ml
8	*P2 2/1000	-----	3.0 ml	0.3 ml

*P₁ y P₂ = muestra problema

2.- Después de realizar cada una de las diluciones de albúmina y la muestra problema, agregar 3 ml de la solución A. Agitar e incubar por 10 min a temperatura ambiente. posteriormente adicionar 0.3 ml de solución B, agitar e incubar 20 min a temperatura ambiente.

3.- Leer absorbancia a 500 o 750 nm.

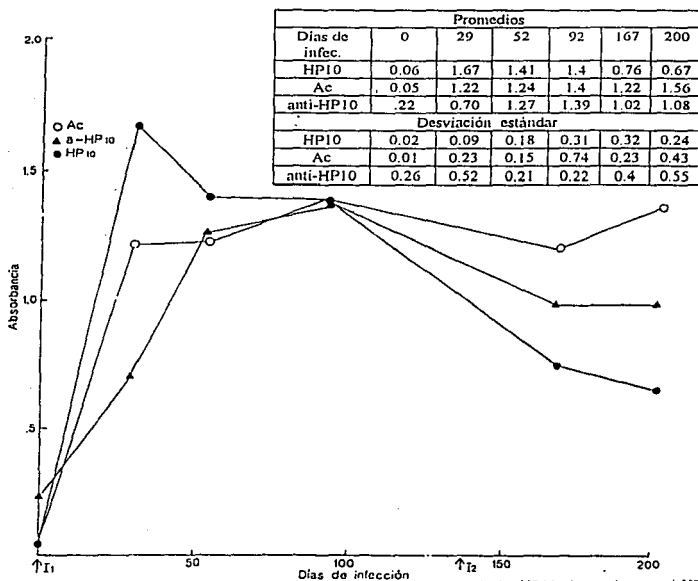
**Técnica de ELISA para la detección de anticuerpos Anti-cisticerco en
muestras de sueros de cerdos**

- 1.- Sensibilizar la placa con 100 μ l por pozo de Ag del fluido vesicular de cisticerco de *Taenia solium* a una concentración de 1 μ g/pozo en buffer de carbonatos pH=9.6.
- 2.- Incubar toda la noche a 4 °C.
- 3.- Lavar 3 veces con 400 μ l/pozo de PBS-T 0.3% durante 5 min cada lavado.
- 4.- Adicionar 100 μ l del suero a una dilución 1:100 en PBS-T 0.3% BSA 1% e incubar 30 min a 37 °C.
- 5.- Repetir el paso número 3.
- 6.- Colocar 100 μ l del conjugado (anti-IgG de cerdo acoplado a fosfatasa alcalina) en dilución 1:2000 en PBS-T 0.3% - BSA 1%
- 7.- Repetir el paso número 3.
- 8.- Colocar 100 μ l/pozo del sustrato para-nitrofenil fosfato (pNPP) a una concentración de 1mg/ml en buffer de dietanolamina pH= 9.8. Incubar por 30 min a 37° C.
- 9.- Parar la reacción con 50 μ l pozo de NaOH 2N
- 10.- Leer en el espectrofotómetro a 405 nm.

Detección de anticuerpos en muestras de sueros y LCR humanos

Las muestras se evaluaron por la técnica de ELISA, el procedimiento fue similar al ensayo de ELISA utilizado para la detección de Ac en sueros de cerdos. Sin embargo para ésta prueba las diluciones del suero y LCR utilizadas fueron de 1/500 y 1/10, respectivamente. El revelado de la reacción se realizó con 100 μ l/pozo del conjugado anti-IgG humana acoplada a fosfatasa alcalina a una dilución 1/2000 y 1/100, respectivamente.

Detección de Ac totales, Ag de secreción HP10 y Anti-HP10 en muestras de sueros de animales infectados experimentalmente (alta intensidad de infección)



Graf. 1.- Se muestra el comportamiento obtenido en la detección de Ag HP10, Ac totales y anti-HP10, en muestras de sueros de cerdos infectados experimentalmente. Además, se muestra el promedio de las densidades ópticas (D.O) obtenidas en ELISA y la desviación estándar de cada uno.

RESULTADOS

Detección de Ac totales, Ag de secreción HP10 y Anti-HP10 en muestras de sueros de cerdos infectados experimentalmente (alta intensidad de infección)

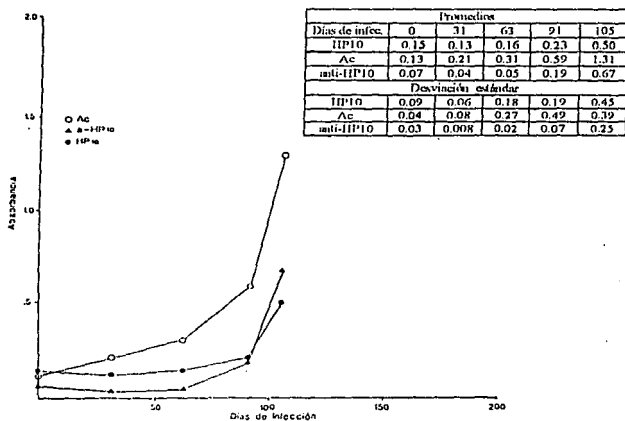
En este estudio serológico, se utilizó un grupo de sueros de cerdos sanos e infectados experimentalmente en la que se obtuvo una buena infección. La inducción de la infección experimental presentó una eficiencia aceptable que permitió la recuperación de un total de 819 cisticercos en un grupo de 6 cerdos (Aluja et al.,1995). En ellos se detectó antígeno circulante desde los 29 días de infección, los niveles se mantuvieron hasta los 92 días, para después disminuir a los 200 días de infección (Graf. 1). Asimismo, el título de Ac totales se empezó a detectar los 29 días de infección, siendo menor al de Ag, manteniéndose en niveles constantes hasta los 200 días de infección.

Considerando que la disminución de Ag podría ser consecuencia de la formación de complejos inmunes, se detectaron los niveles de Ac anti-HP10. Durante el transcurso de la infección, los resultados indican que estos se mantuvieron constantes durante toda la infección, aunque en niveles más bajos que el de los Ac totales, lo que no sugiere que la formación de complejos HP10-anti-HP10 podrían ser los responsables de la disminución del nivel de Ag durante la infección

Tabla IV. Carga parasitaria observada en cerdos infectados experimentalmente (tomado de Manoutcharian et al., 1996), con baja carga parasitaria.

Cerdo No.	Cisticercos	
	cutáneos	vestibulares
1	0	6
2	0	6
3	0	7
4	0	5
5	0	3
6	0	3
Promedio de parásitos	X=5	
Porcentaje de viabilidad	100%	

Detección de Ac y Ag de secreción HP10 en muestras de suero de cerdos infectados experimentalmente (baja intensidad de infección)

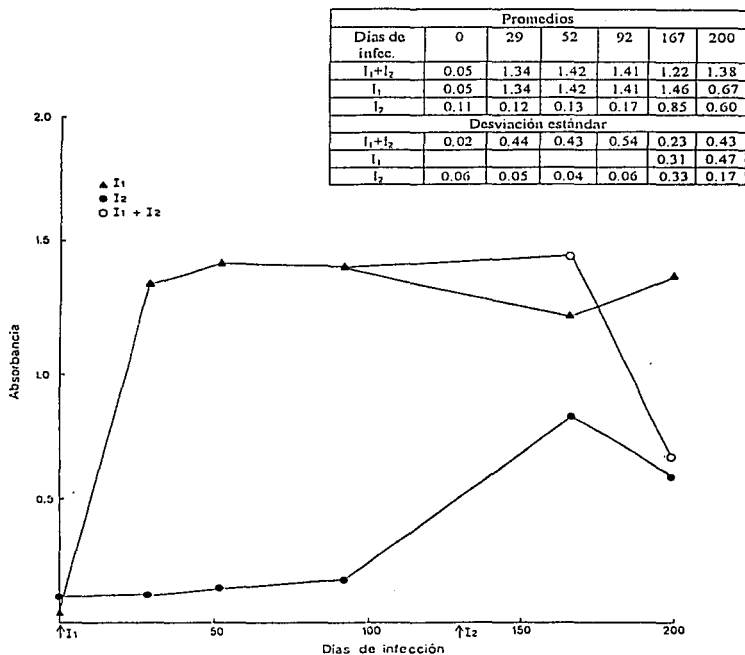


Gráf. 2.- Se muestra en la gráfica el comportamiento obtenido en la detección de Ag HP10, Ac totales y anti-HP10, en cerdos infectados experimentalmente. Además se muestra el promedio graficado y la desviación estándar.

**Detección de Ac y Ag de secreción HP10 en muestras de sueros de cerdos
infectados experimentalmente (baja intensidad de infección)**

En este experimento se observó que la inducción de una baja infección, 30 cisticercos viables en un conjunto de 6 cerdos (tabla IV) (Manoutcharian, et al., 1996). En este conjunto de sueros la detección de Ag se dió a los 91 días después de la infección, estos valores se incrementaron hasta los 105 días. Mientras tanto, los niveles de Ac totales se detectaron a partir de los 31 días y continuaron aumentando hasta el final de la infección. Los niveles de Ac anti-HP10 presentaron muy bajo nivel, aunque el último punto supera al Ag HP10 (Graf. 2).

Detección de Ac Anti-cisticercos en cerdos infectados y re infectados experimentalmente



Graf. 3.- Se muestran los promedios graficados y las desviación estándar del comportamiento obtenido en la detección de Ac totales en cerdos infectados y re infectados experimentalmente.

Detección de Ac Anti-cisticerco en cerdos infectados y re infectados experimentalmente

En este experimento se analizaron dos grupos de cerdos, el grupo I_1 que incluyó a 9 cerdos que fueron desafiados, a los 60 días de nacidos, con 100,00 huevecillos de *Taenia solium*. De este grupo se seleccionaron 3 cerdos que fueron re infectados una segunda vez con 100,000 huevecillos (I_1+I_2). En los cerdos que recibieron la I_1 se detectaron Ac a partir de los 29 días, manteniéndose hasta los 167 días, a partir del cual baja el titulo de Ac. En los cerdos que recibieron la reinfección a los 92 días, el titulo de Ac bajo para después subir. En el grupo de cerdos que recibió únicamente la segunda infección, el titulo de Ac subio a los 92 días para luego volver a bajar a los 167 días post-infección.

Tabla V. Detección de Ac y Ag de secreción HP10 en el diagnóstico de cisticercosis de cerdos mantenidos en condiciones tecnificadas e infectados experimentalmente.

Detección de Ag y Ac	Sueros de cerdos infectados	Sueros de cerdos no infectados	Sensibilidad	Especificidad
Positivo	205	2		
Ag Negativo	39	47	84%	95%
Total	244	49		
Positivo	148	2		
Ac Negativo	24	45	86%	95%
Total	172	47		

El valor de corte obtenido en la detección de Ag circulante fue de 0.1 y para Ac 0.2 de densidad óptica (D.O.) a 405 nm.

Tabla VI. Se muestra el total de sueros evaluados y la especificidad obtenida en el ensayo de Ag y Ac por el método de ELISA, utilizando sueros de cerdos criados en condiciones tecnificadas.

Detección de	No. de sueros evaluados	Positivos	Negativos	Especificidad
Ag	32	0	32	100%
Ac	32	2	30	93%

El valor de corte obtenido en la detección de Ag circulante fue de 0.1 y para Ac 0.2 de D.O. a 405 nm.

Evaluación de la sensibilidad y especificidad de los ensayos de detección de Ac y Ag en sueros de cerdos criados en granjas tecnificadas de la Facultad de Medicina Veterinaria

De la muestra de sueros de cerdos provenientes de crianza tecnificada de la granja de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia se formaron dos grupos, no infectados e infectados experimentalmente, ambos ensayos obtuvieron una alta sensibilidad y especificidad (Tabla V).

En los sueros provenientes de cerdos criados en condiciones tecnificadas provenientes de granjas comerciales se observó una alta especificidad (Tabla VI).

Tabla VII. Evaluación de la sensibilidad y especificidad de los ensayos de detección de Ag y Ac, en cerdos mestizos criados rústicamente y diagnosticados por exámen completo de lengua.

		Con cisticercos en lengua		Sin cisticercos en lengua	
	Positivo	5	Sensibilidad	44	Especificidad
Ag	Negativo	4	55%	138	75%
	Total	9		182	
	Positivo	6		61	
Ac	Negativo	3	66%	121	66%
	Total	9		182	

El valor de corte para la detección de Ag fue de 0.25 y para Ac 0.22 de D.O.

Evaluación de la sensibilidad y especificidad de los ensayos de detección de Ag y Ac en sueros de cerdos criados rústicamente, provenientes de los Estados de Morelos y Puebla (México)

Se utilizó para este fin un conjunto de 191 sueros de cerdos mestizos criados rústicamente, provenientes del estado de Morelos y Puebla. De cada cerdo se colectó el suero y se obtuvo la lengua, la cual se inspeccionó por disección completa, para determinar el número de cisticercos vivos o calcificados.

En la tabla VII se indica la sensibilidad y la especificidad obtenida en cada prueba. Como puede observarse tanto la sensibilidad como la especificidad bajó significativamente respecto a la obtenida con cerdos criados en forma tecnificada..

Tabla VIII. Detección de Ac y Ag de secreción HP10, en cerdos criados en condiciones rústicas en Tianquizolco, Guerrero.

Detección de Ag y Ac.	Infectados	No Infectados	Sensibilidad	Especificidad
Positivo	9	13		
Ag Negativo	13	8	40%	38%
Total	22	21		
Positivo	11	8		
Ac Negativo	11	13	50%	61%
Total	22	21		

El valor de corte de obtenido para ambos ensayos fue de 0.2 de D.O.

**Evaluación de la sensibilidad y especificidad de los ensayos de detección de
Ag HP10 y Ac en sueros de cerdos criados rústicamente provenientes de
Tianquizolco (Guerrero, México)**

En este ensayo se utilizaron 43 sueros provenientes de cerdos diagnosticados por necropsia, dicha muestra fue tomada al azar e incluyó cerdos de 2, 4, 5 y 6 meses de edad, dichos sueros fueron colectados por el grupo de investigación dirigido por la Dra. Aline Aluja. En este conjunto de sueros la especificidad y sensibilidad de ambos ensayos fue menor a la obtenida para cerdos criados en condiciones tecnificadas (Tabla VIII).

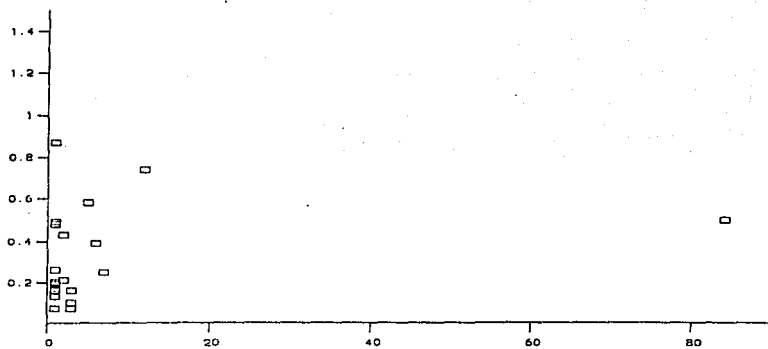
Relación entre el número de parásitos y cantidad de Ag y Ac detectado

En la tabla No. IX y Graf. 4 se presenta la correlación entre el número de parásitos y la cantidad de Ag y Ac detectado, como se puede observar no hay una correlación entre el número de parásitos y la cantidad de Ag y Ac detectado

Tabla IX. Relación entre el número de parásitos y la cantidad de Ag y Ac detectado.

No. de cerdo	No. de parásitos	D.O. Ag HP10	D.O. Ac Totales
19	7	1.09	0.25
22	2	0.05	0.21
24	1	0.05	0.48
25	1	0.16	0.17
29	1	0.94	0.16
30	1	0.04	0.16
31	1	0.06	0.19
32	1	0.02	0.20
33	1	0.41	0.07
34	1	0.004	0.49
35	1	1.12	0.13
36	5	0.99	0.58
37	6	0.19	0.39
38	3	0.47	0.07
41	3	1.02	0.16
42	2	0.04	0.43
43	1	0.35	0.19
46	12	0.19	0.74
48	1	0.019	0.26
49	3	0.03	0.10
A (96-6)	84	0.3	0.50
B (95-6)	1	0.05	0.87

**Correlación entre el Número de Parásitos y Cantidad de Antígeno y
Anticuerpo Detectado.**



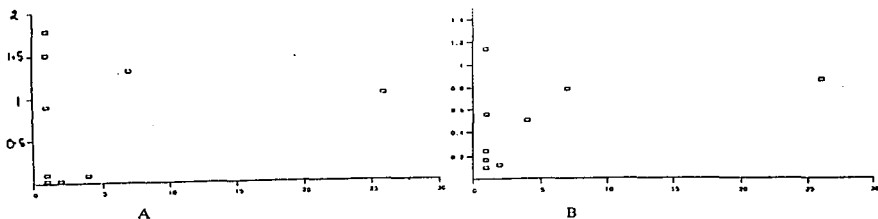
Como se ilustra en la Graf. 4. No se observó correlación positiva significativa entre las variables. No. de parásitos y título de Ag y Ac detectado.

**Relación entre el Número Total de Parásitos Colectados en Lengua y
Cantidad de Ag y Ac Detectado**

En esta tabla se correlaciona el número de parásitos y la cantidad de Ag y Ac detectado.

Tabla X. Muestra el número total de parásitos en lengua y la cantidad de antígeno y anticuerpo detectado.

No. de cerdo	No. de parásitos	D.O Ag HP10	D.O Ac totales
12	4	0.083	0.506
36	1	1.781	0.251
48	26	1.032	0.874
93	1	1.507	0.173
99	2	0.023	0.123
119	7	1.323	0.792
128	1	0.09	0.559
152	1	0.895	1.148
155	1	0.027	0.101



Graf. 5. Correlación entre el número de parásitos y la cantidad de Ag (A) y Ac detectado (B).

Tabla XI. Evaluación de la sensibilidad y especificidad de los ensayos de detección de Ag y Ac en 392 sueros humanos del I.N.N.N. con diagnóstico clínico e imagenológico confirmado

		Cisticercosis activa		Cisticercosis inactiva		No cisticercosos	
Ag	Positivo	5	Sensibilidad	0	Sensibilidad	47	Especificidad
	Negativo	7	42%	4	0%	329	87%
	Total	12		4		376	
Ac	Positivo	11		3		99	
	Negativo	1	91%	1	75%	277	73%
	Total	12		4		376	

El valor de corte para la detección de Ag fue de 0.15 y para Ac fue de 0.27 de D.O.

Evaluación de la sensibilidad y especificidad en la detección de Ag y Ac en sueros humanos con diagnóstico clínico e imagenológico

Se utilizó un conjunto de 392 sueros humanos con diagnóstico clínico e imagenológico (TAC y IRM). La captura de Ag mostró una baja sensibilidad (42%) y una mejor especificidad (87%). En la detección de Ac observamos una alta sensibilidad (91%) y una baja especificidad (73%). Estos resultados coinciden con reportes previos (Plancarte, et al., 1987). El ensayo de detección de Ag, sólo identificó los individuos con cisticercosis activa, mientras el de Ac no nos permite diferenciar entre ambos casos (Tabla XI).

Tabla XII. Evaluación de la sensibilidad y especificidad en la captura de Ag HP10 y Ac en 112 LCR provenientes del I.N.N.N. con diagnóstico clínico e imagenológico confirmado

Neurocisticercosis activa			Neurocisticercosis inactiva		No neurocisticercosis	
Positivo	28	Sensibilidad	2	Sensibilidad	7	Especificidad
Ag Negativo	35	44%	6	25%	34	83%
Total	63		8		41	
Positivo	56		6		9	
Ac Negativo	7	88%	2	75%	32	78%
Total	63		8		41	

El valor de corte obtenido en el LCR fue de 0.16 para Ag y para Ac 0.047 de D.O.

Evaluación de la sensibilidad y especificidad en la detección de Ag y Ac en LCR humanos con diagnóstico clínico e imagenológico

Se utilizó un conjunto de 112 LCR con diagnóstico clínico e imagenológico (TAC y IRM) confirmado, así como diferentes enfermedades neurológicas como: tuberculosis meníngea, meningitis, epilepsia etc. La detección de Ag mostró una baja sensibilidad en sueros de pacientes con neurocisticercosis activa (44%) y una mejor especificidad (83%). Sin embargo, la evaluación de las mismas muestras para la captura de Ac indicó una alta sensibilidad (88%) y una menor especificidad (78%). En la neurocisticercosis inactiva, la sensibilidad fue de 25% para Ag y 75% para Ac (Tabla XII).

DISCUSION

En esta tesis se reporta la evaluación de la presencia de anticuerpos y del antígeno de secreción HP10, en un conjunto extenso de sueros humanos y porcinos. Utilizamos para ello un procedimiento de ELISA convencional.

En el caso de anticuerpos se cuantificaron utilizando como antígeno, las proteínas totales de líquido vesicular del cisticerco de *Taenia solium*. El uso de esta fuente de antígenos se seleccionó considerando reportes previos en los que se establece que ésta, es la fuente de antígeno más estable y conveniente para procedimientos de diagnóstico (Larralde, et al., 1987). La cuantificación del antígeno de secreción HP10 se realizó utilizando el procedimiento de ELISA de captura de antígeno descrito por Harrison y colaboradores (Harrison, et al., 1986). Este ensayo se basa en el uso de un anticuerpo monoclonal específico anti HP10. La población de sueros utilizados (1063) incluye una población de sueros humanos y porcinos. La población de sueros porcinos consistió en un conjunto de 293 sueros de cerdos mantenidos en la Facultad de Veterina y Zootecnia, colectados antes y después de infectarlos experimentalmente. Con el fin de conocer el perfil serológico asociado a la cisticercosis porcina, se estudiaron los niveles de antígeno y anticuerpo en cerdos infectados experimentalmente hasta 200 días post-infección.

Con el fin de explorar las posibilidades de ambos métodos diagnósticos, se evaluaron 293 sueros de cerdos con diferentes condiciones y tiempos de infección, en los ensayos de detección de antígeno y anticuerpo, estos resultaron muy sensibles, detectando la infección desde los 29 días. Los niveles de anticuerpos se mantuvieron durante los 200 días de infección y los antígenos empezaron a bajar a partir de los 167 días de infección aunque siguieron siendo seropositivos. Para evaluar la posibilidad de que la disminución de antígeno se debía a la formación de complejos inmunes, se cuantificaron los anticuerpos específicos en contra del antígeno HP10 y se observó que también bajaban los niveles de anticuerpos específicos anti HP10 a partir de los 167 días después de la infección, lo cual hace difícil esta posibilidad.

En cuanto a la infección de menor intensidad evaluamos, una donde eran pocos cisticercos pero todos viables. Se comenzaron a detectar los anticuerpos tempranamente a partir de los 31 días y aumentaron hasta los 105 días después de la infección. En cambio el nivel del antígeno HP10, se detectó a partir de los 91 días y aumentó hasta los 105 días de la infección. Esto indica que la detección del antígeno HP10 en cerdos poco parasitados sólo se detecta en infecciones tardías. El anti-HP10 tuvo casi el mismo comportamiento que el antígeno HP10. Este aspecto preocupa si consideramos que una extensa parte de la población de cerdos presenta una baja carga parasitaria y que sólo unos pocos individuos se encuentran altamente infectados.

De los 9 sueros de cerdos experimentalmente infectados con 100, 000 huevecillos, se tomaron tres de estos cerdos y se re infectaron a los 92 días con 100, 000 huevecillos, observándose que los cerdos que no recibieron la reinfección mantienen su nivel de anticuerpos hasta los 167 días. En tanto los que recibieron sólo la segunda infección sube el nivel de anticuerpos a partir del día 92 para luego volver a bajar. En la evaluación de estos mismos sueros se encontró que ambos procedimientos funcionaron adecuadamente, obteniendo una alta sensibilidad y especificidad. El ensayo de detección de Ag mostró una sensibilidad del 84% y una especificidad del 95%. El de detección de Ac presentó una sensibilidad del 86% y una especificidad del 95%.

También se utilizaron 32 sueros de cerdos provenientes de granjas tecnificadas de los cuales sólo tenemos el diagnóstico realizado en rastro que indicó que los cerdos no estaban infectados donde también obtuvimos una muy alta especificidad (100% en Ag y un 93% en Ac). Cuando empezamos a utilizar los sueros de cerdos criados rústicamente el panorama cambió fundamentalmente. La sensibilidad y especificidad bajo importantemente en ambos procedimientos. En el caso del Ag se obtuvo una sensibilidad del 55% y una especificidad del 75%, para Ac tanto la sensibilidad como la especificidad fue del 66%. Para comprobar estos resultados se utilizó otra muestra de 43 sueros provenientes de cerdos mestizos criados rústicamente en una localidad de Guerrero.

Estos sueros fueron seleccionados al azar en un conjunto de cerdos de diferentes edades (2, 4, y 6 meses) analizados por necropsia para determinar el número total de cisticercos presentes en cada cerdo minuciosamente inspeccionado. En esta muestra de cerdos también la sensibilidad y la especificidad de ambos ensayos serológicos fueron muy bajas.

En el caso de la baja sensibilidad de ambas pruebas quizá sea debido a que los cerdos, presentan bajos niveles de anticuerpos como consecuencia de su mala alimentación y estado de desnutrición y por el bajo número de parásitos que presentan la mayor parte de los cerdos infectados. En el caso de la baja especificidad probablemente se deba a que los epítopes que expresa el cisticercos sean compartidos con algunos otros parásitos o bacterias.

El análisis de correlación entre el número total de parásitos colectados en lengua y la cantidad de Ag y Ac detectado indica que no existe una correlación positiva entre estos parámetros. Resultados similares se observaron en la muestra de cerdos completamente Es decir, los cerdos con pocos ó muchos parásitos podrían tener poco o mucho Ag ó Ac.

El material biológico colectado de sueros humanos (392) y LCR (112) proporcionados por el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, fueron obtenidas de pacientes con diagnóstico confirmado, tanto clínico como imagenológico. El análisis serológico indicó que el ensayo de detección de Ag mostró una baja sensibilidad (42%) y una buena especificidad (87%). Mientras los ensayos de Ac totales y anti-HP10 mostraron una buena sensibilidad (91%) y una menor especificidad (73%).

Estos resultados coinciden con datos previamente reportados aunque con algunas diferencias debidas al tipo de muestreo. En el análisis de las muestras de LCR se obtuvieron resultados similares a los obtenidos en sueros. El ensayo de detección de Ag presentó una sensibilidad del 44% y una especificidad del 83%, mientras la determinación de Ac una sensibilidad del 88% y una especificidad del 78%. En estas muestras se esperaba obtener una mayor sensibilidad y especificidad, considerando que el parásito al localizarse en el cerebro permite detectarlo con mayor facilidad. Sin embargo, la determinación de Ag en este compartimento resultó muy similar a los detectados en suero. Una observación adicional obtenida fue que todos los pacientes que presentaron tuberculosis meníngea, presentaron Ac en LCR y no fueron detectados como positivos en la detección de Ag HP10. Tal vez para el diagnóstico diferencial entre cisticercosis ó tuberculosis meníngea la detección de HP10 podria ofrecer una información adicional de interés. Los resultados obtenidos indican que aún falta mucho en el desarrollo de los procedimientos idóneos de diagnóstico para la identificación de Ag y/o epitopes específicos importantemente reconocidos en la población de individuos cisticercosos, se lograr reducir o eliminar el alto grado de reacción cruzada que se presenta en los ensayos disponibles y asimismo poder aportar nuevos métodos de mayor aplicación al diagnóstico de la neurocisticercosis.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

CONCLUSIONES

En cisticercosis porcina.

- Estos resultados sugieren que ambos procedimientos podrian ser utilizados para el diagnóstico de la cisticercosis porcina en cerdos de granjas tecnificadas en donde la exposición a patógenos, así como el riesgo de contraer cisticercosis es muy reducido.

- El Ag HP10 se detecta en cerdos poco parasitados sólo en infecciones tardías mientras que en infecciones intensas se detecta muy tempranamente.

- Ambos procedimientos no son recomendables para el diagnóstico de la cisticercosis porcina en cerdos de crianza rústica.

En cisticercosis humana.

- Los procedimientos actualmente disponibles pueden constituir una herramienta "adicional" útil para el diagnóstico de caso, aunque no definitiva.

- El método basado en la detección de Ac resultó más sensible para detectar enfermos neurocisticercosos que el método basado en la detección de Ag.

- El método basado en la detección de Ag solo detecta los casos de neurocisticercosis activa, mientras que detectando Ac no se distinguen neurocisticercosis activa de la inactiva.

- Se detectan Ac en individuos con tuberculosis meningea, aunque no se detecta Ag en este caso.

- Los resultados muestran una sensibilidad y especificidad similar y en suero y LCR.

BIBLOGRAFIA

- 1.- Alcantara, P., Meza, A., Mata, O., Padilla, E., Tapia, R., Correa, D. 1993. **MANUAL PARA EL DIAGNOSTICO DE CISTICERCOSIS Y TRIQUINELOSIS HUMANAS.**

- 2.- Aluja, A.S., Villalobos, A.N.M., Plancarte, A., Rodarte, L.F., Hernández, M., Sciotto, E. 1995. **EXPERIMENTAL *Taenia solium* CYSTICERCOSIS IN PIGS: CHARACTERISTICS OF THE INFECTION AND ANTIBODY RESPONSE.** *Veterinary Parasitology.* (61): 49-59.

- 3.- Aluja, A.S., Flisser, A., Willms, K., Lactette, J. P., Larralde, C., Ridaura., Beltrán, F. 1987. **CYSTICERCOSIS: Present State of Knowled and Perspectives.** Nueva York. pp53-62.

- 4.- Costero, I. 1946. **TRATADO DE ANATOMIA PATOLOGICA.** Atlante. (2):1485-1495.

- 5.- Escobedo, F., Penagos, P., Rodríguez, J., Sotelo, M. J. 1988. **TRATAMIENTO DE NEUROCYSTICERCOSIS HUMANA CON ALBENDAZOLE EVALUACION CONTROLADA CON TOMOGRAFIA COMPUTARIZADA Y CON RESONANCCIA MAGNETICA.** *Rev. de la Asociación Guatemalteca de Parasitología y Medicina Tropical.* (3): 24-26

6.- Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., Beltran, F. 1982. CYSTICERCOSIS: PRESENT STATE OF KNOWLEDGE AND PERPECTIVES ACADEMIC. Press, New York. 700

7.- García, M.E., Sotelo, M. J. 1988. MULTIPLES MODIFICACIONES A LA PRUEBA DE NIETO PARA SU ESTANDARIZACION Y SIMPLIFICACION EN EL DIAGNOSTICO DE NEUROCISTICERCOSIS. Dpto. de Neuroinmunología, INN, SSA, México. (3): 210-211.

8.- Harrison, L.J.S., Parkhouse, R.M.E. 1986. PASSIVE PROTECCION AGAINST *Taenia saginata* INFECCION IN CATTLE BY A MOUSE MONOCLONAL ANTIBODY REACTIVE WITH THE SURFACE OF THE INVASIVE ANCOSPHERE. Parasite Immunol. (8):219-232.

9.- Larralde, C., Padilla, A., Hernández, M., Govezensky, T., Sciutto, E., Gutiérrez, G., Tapia, V. R., Salvatierra, B., Sepúlveda, J. 1987. SEROEPIDEMIOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS EN MEXICO. Salud Pública de México. (34):197-210.

10.- Manoutcharian, K., Rosas, G., Hernández, M., Fragoso, G., Aluja, A., Villalobos, N., Rodarte, L.F., Sciutto, E. 1996. CYSTICERCOSIS: IDENTIFICATION AND CLONING OF PROTECTIVE RECOMBINANT ANTIGENS. J. Parasitol. (2):250-254.

11.-Nieto, D. 1956. CYSTICERCOSIS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM: DIAGNOSIS BY THE SPINAL FLUID COMPLEMEN FIXATION TEST. Neurology.(6):725-738.

12.- Plancarte, A., Espinoza, B., Flisser, A. 1987. INMUNODIAGNOSIS OF HUMAN NEUROCYSTICERCOSIS BY ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY. Childs Nerv Syst. (3):203-205.

13.- Sotelo, M. J., Del Brutto, O. H. 1989. DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE LA CISTICERCOSIS CEREBRAL. Instituto Nacional de Neurología. pp 382-392.

14.- Sotelo, M. J. 1996. ARACNOIDITIS CISTICERCOSA. Machado, L., A, José, A. Livramento., S, Nobrega, P. (EDS). Clínica Neurológica HC/FMUSA. Sao Paulo, Brasil. pp 315-318.

15.- Torres, A., Plancarte, A., Villalobos, M.N.A., Aluja, S. A., Navarro, R. , Flisser, A. 1992. PRAZIQUANTEL TREATMENT OF PORCINE BRAIN AND MUSCLE *Taenia solium* CYSTICERCOSIS. 3. EFFECT OF 1-DAY TREATMENT. Parasitology Research. (78):161-164.

16.- Varios; 1995. ARCHIVOS DEL INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGIA Y NEUROCIROLOGIA. (10):2. pp 70. Mayo-Agosto.

17.- Tsang, V. C. W., Brand, A. J. and Boyer E. A. 1989. AN ENZYME-LINKED IMMUNOELECTROTRANSFER BLOT ASSAY AND GLICOPROTEIN ANTIGENS FOR DIAGNOSING HUMAN CYSTICERCOSIS (*Taenia solium*). The Journal of Infections. (159):50- 59.