



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“PRODUCCION DE ANTÍGENOS DIAGNÓSTICOS PARA LA TAENIOSIS CAUSADA POR *Taenia solium*”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

SERGIO ADOLFO TORRES ARELLANO

ASESOR: DR. ABRAHAM LANDA PIEDRA



Universidad Nacional
Autónoma de México



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
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS ^{U.N.A.M.} APROBATORIOS
^{ESCUELA DE ESTUDIOS}
^{SUPERIORES CUAUTITLÁN}

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
P R E S E N T E



DEPARTAMENTO DE

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 26 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos
comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Producción de antígenos diagnósticos para la taeniosis
causada por Taenia solium

que presenta el pasante: Torres Arellano Sergio Adolfo
con número de cuenta: 300090068 para obtener el título de :
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en
el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 5 de Agosto de 2009.

PRESIDENTE Dr. Abraham Landa Piedra

VOCAL MVZ. Gabriela Fuentes Cervantes

SECRETARIO Dr. Victor Manuel Gendajes Guitrón

PRIMER SUPLENTE MVZ. Angel Germán Martínez Sosa

SEGUNDO SUPLENTE OPB. Raquel Tapia Romero

El presente trabajo de tesis se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de *Taenia solium* del departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la UNAM, bajo la dirección del Dr. Abraham Landa Piedra.

Este trabajo de investigación fue apoyado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (DGAPA-PAPIIT, contrato IN-207507-3) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, contrato 80134-M).

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Adulto de <i>Taenia solium</i>	1
Figura 2. Escólex de <i>Taenia solium</i> mostrando sus ventosas	2
Figura 3. Huevo <i>Taenia sp</i> .	3
Figura 4. Cisticerco de <i>Taenia solium</i>	3
Figura 5. Ciclo biológico de <i>Taenia solium</i>	5
Figura 6. Mapa de la prevalencia de la cisticercosis en el mundo	7
Figura 7. Incidencia de taeniosis en México	8
Figura 8. SDS-PAGE al 10% de Ag E/S de adulto de <i>Taenia solium</i>	22
Figura 9. Inmunoelectrotransferencia de AgE/S de <i>Taenia solium</i> contra sueros de hámsteres taeniasicos	23
Figura 10. SDS-PAGE 10 % de la purificación de proteínas	25
Figura 11. Inmunoelectrotransferencia de AgE/S de <i>Taenia solium</i> contra diferentes sueros de conejo	26
Figura 12. Inmunoelectrotransferencia de extractos crudos de <i>Taenia taeniaeformis</i> y <i>Taenia saginata</i> enfrentados con suero anti Ag E/S de adulto de <i>Taenia solium</i>	27
Figura 13. Inmunoelectrotransferencia de extractos de diferentes parásitos intestinales	28

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
	1.1 Clasificación	1
	1.2 Morfología del estadio adulto	1
	1.3 Morfología del estadio larvario	3
	1.4 Ciclo de vida	4
	1.5 Epidemiología	6
	1.6 Manifestaciones clínicas	9
	1.7 Tratamiento	9
	1.7.1 Cisticercosis	9
	1.7.2 Taeniosis	10
	1.8 Prevención y control	10
	1.9 Diagnóstico	11
	1.9.1 Cisticercosis	11
	1.9.2 Taeniosis	12
	1.10 Inmunología	14
II.	HIPOTESIS	16
III.	OBJETIVOS	16
	3.1 Objetivos particulares	16
IV.	METODOLOGÍA	17
V.	RESULTADOS	21
VI.	DISCUSIÓN	29
VII.	CONCLUSIONES	32
VIII.	REFERENCIAS	33

I. INTRODUCCIÓN

El término taeniosis designa el parasitismo humano (hospedero definitivo) por cestodos adultos del género *Taenia*, conocidos comúnmente como solitarias. Existen dos *Taenias* que afectan al hombre, *Taenia solium* y *Taenia saginata*, mismos que requieren dos hospederos intermediarios, el cerdo y la res, respectivamente, para completar sus ciclos de vida. El humano es el hospedero definitivo obligado para ambas *Taenias*.

Taenia solium produce dos enfermedades en el ser humano: el estadio adulto la taeniosis, mientras que el estadio de metacéstodo o de cisticerco la cisticercosis. (1)

1.1 Clasificación

Taenia solium pertenece al *phylum Platyhelminthes*, clase *Cestoda*, orden *Cyclophyllidae*, familia *Taenidae*, género *Taenia*, especie *solium*.

1.2 Morfología del estadio adulto

Taenia solium es un gusano de un color blanquecino, plano en forma de cinta, esta formado por un escólex piriforme, cuello y estróbilo (Figura 1). Pueden alcanzar una longitud total de entre 2 y 7 metros. (2,3)



FIG 1. Adulto de *Taenia solium*

El escólex esta formado por cuatro ventosas y un rostelo con una doble corona de ganchos (Figura 2). Al escólex le continúa el cuello, que es la región germinal que da origen a un conjunto de segmentos o proglótidos, que forman el estróbilo. A medida que los proglótidos se alejan del cuello maduran y se diferencian sexualmente. (2,3)

Los más cercanos al cuello son los *proglótidos inmaduros*, en los cuales el aparato genital (masculino y femenino, testículos, ovarios y útero) empieza a formarse. Le siguen los *proglótidos maduros*, estos presentan órganos reproductores masculino y femenino claramente diferenciados, otorgándole el fenotipo de hermafrodita, aquí puede ocurrir la auto fecundación ya que cada proglótido es una unidad de reproducción. En la parte mas distante se encuentran los *proglótidos grávidos* que presentan un útero que ocupa una región central dentro de cada proglótido, de el salen ramas, cuyo número es menor a 12 es clásico para *Taenia solium* y mas de 12 para *Taenia saginata*. Las ramas uterinas están llenas de huevos dándole un aspecto arboriforme, cada proglótido puede contener en promedio 60,000 huevos. (1,4)

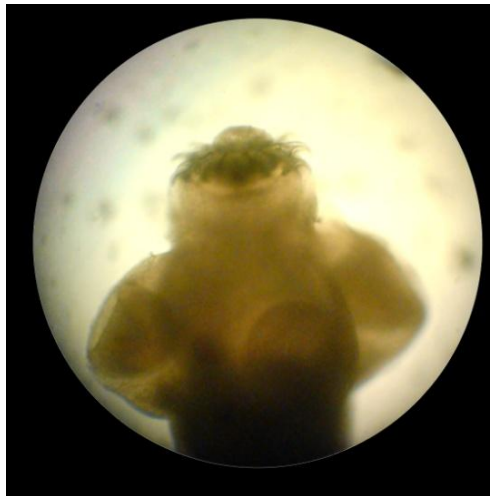


FIG 2. Escólex de *Taenia solium* mostrando sus ventosas.

Los huevos son esféricos y miden de 30 a 45 μm (Figura 3), presentan varias membranas; la más externa es el vitelo, la siguiente es el embrióforo, formado por pequeños bloques proteínicos unidos entre si por una proteína cementante, la membrana oncosferral cubre la oncósfera llamado también embrión hexacanto por presentar tres pares de ganchos. (1,2)



FIG 3. Huevo de *Taenia sp* (1)

1.3 Morfología del estadio larvario

Esta fase del parásito o cisticerco es una estructura ovalada que mide aproximadamente 10x5 mm, con una vesícula blanco-amarillenta con líquido hialino en interior (0.5 ml). Tiene una pared en la que la estructura externa esta rodeada con microvellosidades (tegumento) y un escólex armado con ganchos invaginado en la pared y rodeado de líquido. (2,3,5)



FIG 4. Cisticerco de *Taenia solium*

(http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/cestodos/imagenes/cisticercos_1.jpg.jpg)

1.4 Ciclo de vida

Taenia solium vive adherida a la mucosa del intestino delgado, los proglótidos grávidos, llenos de huevos eventualmente son liberados del estróbilo ó se rompen en la luz intestinal liberando sus huevos que salen al medio ambiente con la materia fecal. Los huevos al ser ingeridos por el cerdo sus enzimas y sales biliares del tracto digestivo rompen el embrióforo y permiten eclosionar al embrión u oncósfera. Una vez liberada, la oncósfera, por medio de sus ganchos se fija a la pared intestinal en donde libera enzimas hidrolíticas que destruyen el tejido, lo que le permite llegar a los vasos sanguíneos y linfáticos para ser transportada hacia los tejidos en donde se desarrolla hasta transformarse en cisticerco en un periodo aproximado de 3 meses. (1,6)

El ciclo biológico se completa cuando el humano consume carne de cerdo infectada con cisticercos; al llegar por vía oral este evagina por la acción enzimática y biliar, mediante su escólex se adhiere a la pared del intestino delgado donde comienza a producir proglótidos grávidos e iniciar la eliminación de huevos (6,7). El desarrollo del parásito desde su ingestión hasta *Taenia adulta* toma entre 6 y 12 semanas y los huevos aparecen en las heces de 8 a 12 semanas (7). Los adultos tienen una longevidad de 20 ó más años. La infestación humana por *T. solium* generalmente es única (un solo parásito por persona infestada (1,2,5,8). La taeniosis; puede suceder por autoinfección mediante la vía ano-mano-boca. (1)

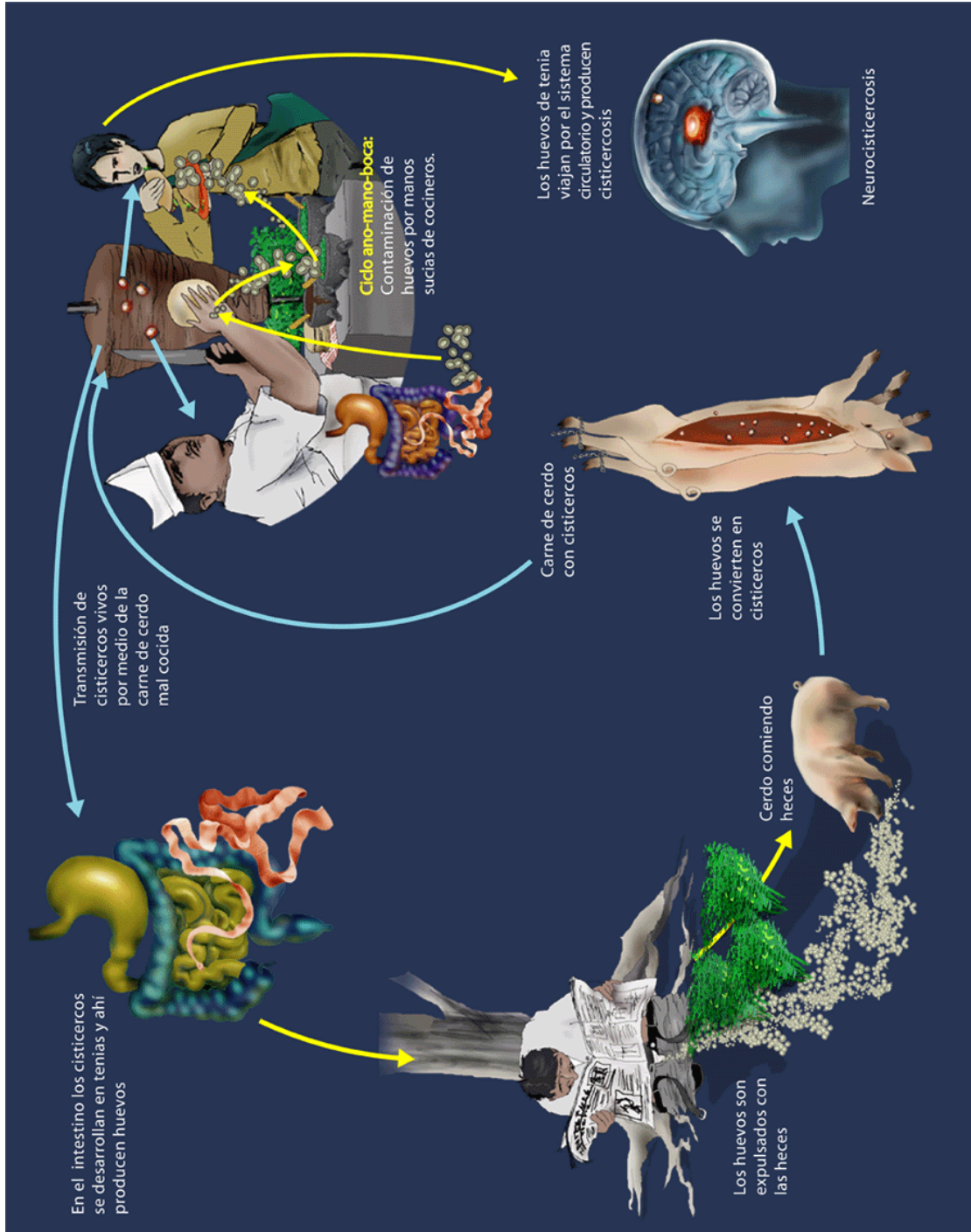


FIG 5 Ciclo biológico de *Taenia solium*
(cistimex <http://www-lab.biomedicas.unam.mx/cistimex/s5/cv>)

1.5 Epidemiología

Se ha señalado que las condiciones de transmisión que favorecen la cisticercosis es la exposición a huevos de los hospederos, como la convivencia con un portador de *T. solium*, el bajo nivel económico de los individuos o comunidades, la inadecuada higiene personal, la falta de letrinas y la carencia de drenaje, la ausencia de agua potable y de pavimento, y la coprofagia en cerdos. (9,10)

Bajo estas condiciones, la parasitosis está ampliamente distribuida en el mundo en países en desarrollo, sin embargo, en algunos países desarrollados donde se tenía controlada la enfermedad se han presentado casos recientes, por lo que se considera a la cisticercosis-taeniosis una parasitosis reemergente.(9) La entrada masiva de inmigrantes provenientes de la América Latina hacia Europa Asia y Estados Unidos principalmente, ha condicionado un incremento considerable de casos de neurocisticercosis (NCC).

En México, por medio de estudios hospitalarios se reporta una tasa de hasta 8,6 por 100 hospitalizados y en las series de necropsias de hasta 2453 por 100.000 habitantes, además se señala que hasta 43,3% de los casos eran asintomáticos y 80% fueron hallazgos de necropsia. (11) Desde el año de 1990 hasta el año 2005 la disminución en la incidencia de taeniosis ha sido considerable, ya que en 1990 se tenía un reporte nacional de 14,013 casos de taeniosis y 586 casos de cisticercosis, y en el 2005 fue de 393 casos de taeniosis y 306 de cisticercosis. (12)

Las frecuencias de infestaciones con *T. solium* reportadas en México provienen de dos fuentes: la primera de ellas se refiere a las publicaciones científicas. La segunda fuente proviene de las estadísticas oficiales. (13)

Las estadísticas oficiales informan que las frecuencias más altas para *Taenia sp* se presentan en el grupo de 5 a 14 años (35.3%), en cambio, los estudios epidemiológicos informan que el parásito adulto se presenta en todas las edades y que alcanza su pico en grupos de 16 a 45 años; asimismo, que las personas de sexo femenino son las que más frecuentemente presentan este parásito. Las diferencias encontradas se deben a que en las estadísticas oficiales sólo se refleja la demanda de servicios de salud, y en los estudios epidemiológicos se obtienen datos representativos del sexo y de todos los grupos de edad. (12,13)

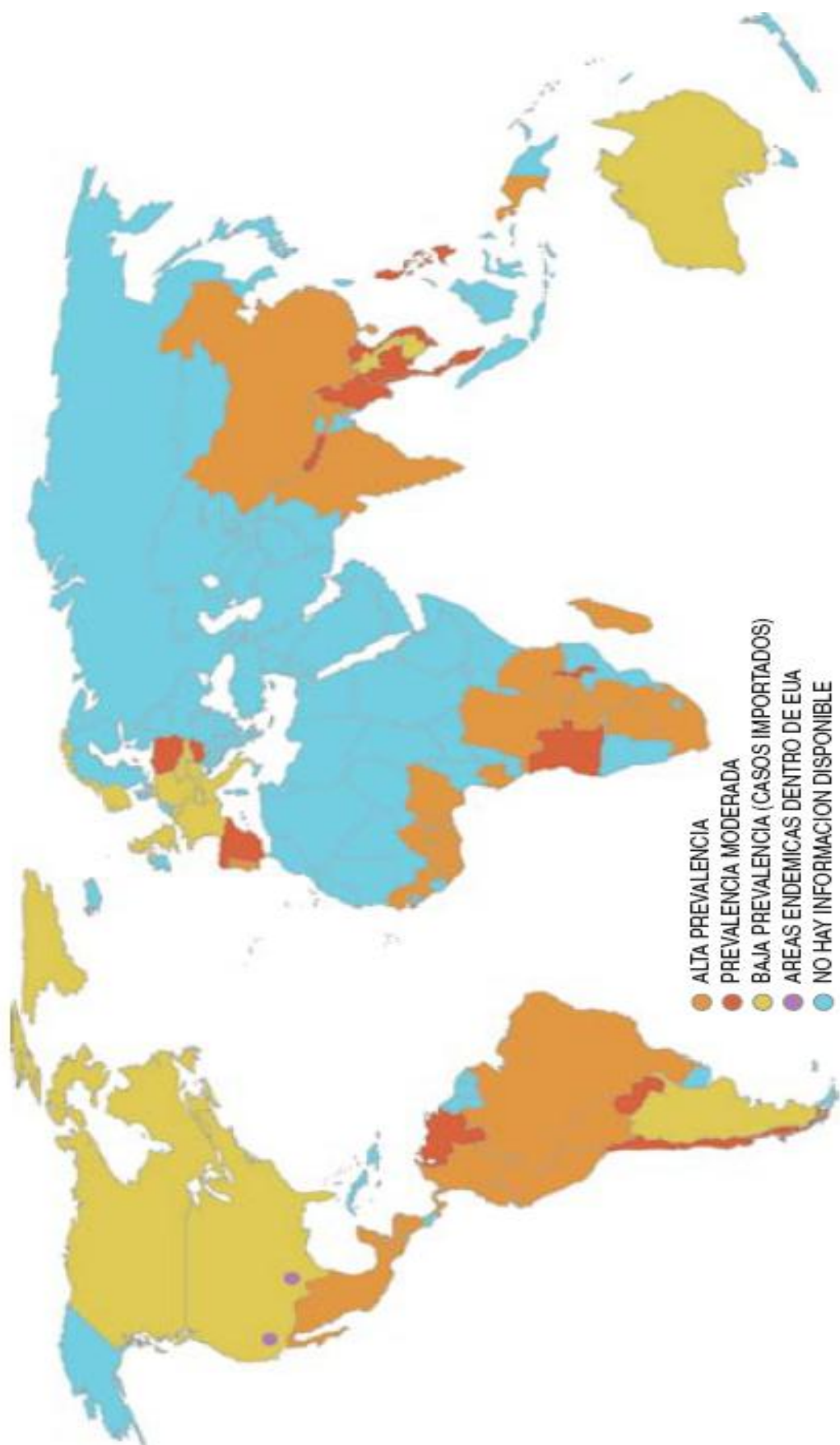


FIG 6. Mapa de la prevalencia de la cisticercosis en el mundo (OMS 2007)

Incidencia de Teniasis (B68) por grupos de edad
Estados Unidos Mexicanos
2007

Población General

Estado	Grupos de edad										Incidencia
	< 1	1 - 4	5 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 24	25 - 44	45 - 49	50 - 59	60 - 64	65 y +
Aguascalientes	0.00	1.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09
Baja California	0.00	0.00	0.67	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.82
Baja California Sur	0.00	2.57	3.79	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.59	0.00	0.74
Campeche	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.42	0.00	0.00	0.00	0.13
Coahuila	0.00	1.53	0.74	0.77	0.00	0.88	1.88	2.85	3.62	9.18	0.00
Colima	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.17	0.00	3.08
Chiapas	0.00	1.30	3.15	1.30	0.40	0.23	0.42	0.00	0.00	0.00	1.65
Chihuahua	0.00	1.19	0.29	0.30	0.32	0.00	0.38	1.09	0.41	0.00	0.39
Distrito Federal	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Durango	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Guanajuato	0.00	0.00	0.35	0.36	0.00	0.22	0.42	0.00	0.00	0.86	0.24
Guerrero	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.34	0.46	1.24	0.13
Hidalgo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Jalisco	0.78	0.76	0.56	0.14	0.29	0.62	0.68	2.21	1.15	2.23	0.71
México	0.00	0.00	0.07	0.07	0.07	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.03
Michoacán	0.00	0.99	0.00	0.22	0.00	0.00	0.46	0.49	0.68	0.00	0.39
Morelos	0.00	0.00	1.22	1.20	2.48	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.49
Nayarit	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.16	0.00	0.00	1.30	0.00	0.31
Nuevo Leon	0.00	0.97	0.47	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.00	0.00	0.16
Oaxaca	1.49	0.36	0.25	0.48	0.26	0.00	0.22	0.00	0.38	1.02	0.28
Puebla	0.00	0.88	0.00	0.00	0.00	0.20	0.06	0.37	0.00	0.00	0.65
Querétaro	0.00	0.79	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	1.18	0.00	0.00	1.36
Quintana Roo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
San Luis Potosí	0.00	0.00	0.36	0.00	0.00	0.46	0.15	0.00	0.00	0.00	0.12
Sinaloa	0.00	1.06	0.37	0.00	0.00	0.42	0.13	0.00	0.00	0.00	0.19
Sonora	0.00	0.00	0.00	0.41	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04
Tabasco	0.00	0.64	1.85	0.92	0.00	0.00	0.16	0.00	0.00	0.00	0.39
Tamaulipas	0.00	1.75	0.32	0.34	0.00	0.00	0.20	0.00	0.43	0.00	0.32
Tlaxcala	0.00	0.00	0.83	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09
Veracruz	0.00	0.19	0.67	0.00	0.41	0.16	0.44	0.25	0.85	0.46	0.44
Yucatán	3.08	2.30	1.63	0.00	1.05	0.00	0.71	1.03	0.00	1.95	0.85
Zacatecas	0.00	0.92	0.66	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14
TOTAL GLOBAL	0.15	0.52	0.49	0.21	0.15	0.13	0.24	0.37	0.34	0.56	0.22

incidencia por 100 000 habitantes

FUENTE: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica Dirección General de Epidemiología SSA

FIG 7. Incidencia de taeniosis en México

1.6 Manifestaciones clínicas

Los síntomas de la cisticercosis pueden manifestarse desde varias semanas hasta 10 años o más después de la infestación. (13) En el ser humano, los cisticercos se localizan con mayor frecuencia en el músculo esquelético, sistema nervioso, dando origen a la cisticercosis; los cisticercos también se pueden localizar en ojos, tejido graso subcutáneo y corazón. Cuando el cisticerco se localiza fuera del sistema nervioso central (SNC), suele ser asintomático, mientras que cuando se aloja en el sistema nervioso central, las manifestaciones clínicas dependerán del número de parásitos y de sus localizaciones, así como de la extensión y severidad de la respuesta inflamatoria del hospedero. (1,8,14)

Las manifestaciones clínicas más frecuentes que se relacionan con la cisticercosis son cefalea, convulsiones, visión borrosa, náuseas y vómitos, mareos y vértigos, pérdida de la conciencia y pérdida de la fuerza muscular. Estas últimas manifestaciones no se reportan en la literatura, por lo que hay que tener en cuenta a la neurocisticercosis cuando se realice el diagnóstico diferencial ya que esta infestación se puede confundir con otras patologías del sistema nervioso central. (7)

La taeniosis por lo general es asintomática; cuando se presentan síntomas, estos pueden ser leves o moderados. Se han reportado dolor abdominal, náusea, alteraciones en el apetito, pérdida de peso, cefalea, diarrea o constipación, mareo y prurito anal (1), estos síntomas pueden estar causados por la producción de sustancias tóxicas por parte del cestodo (6).

1.7 Tratamiento

1.7.1 Cisticercosis

El tratamiento de la cisticercosis con ubicación en SNC (parénquima o subaracnoide), visceral o cutánea consiste en la administración de albendazol o praziquantel (cestocidas), anticonvulsivantes y antiinflamatorios esteroideos. La cirugía se reserva para la localización ocular, colocación de válvulas, procedimiento durante el cual es posible extraer los metacéstodos ventriculares. (15,16)

1.7.2 Taeniosis

Hasta hace algunos años, el fármaco de elección era la niclosamida, que actúa directamente sobre los proglótidos, haciéndolos susceptibles a la acción de las enzimas proteolíticas del hospedero. No tiene acción contra los huevos ni contra los cisticercos. Debido a esto el medicamento puede exponer al paciente al riesgo de contraer cisticercosis, pues destruye los proglótidos y libera los huevos dentro de la luz intestinal, este fue retirado del mercado quedando en desuso. (13,14)

El prazicuantel es ahora el fármaco de elección. Este lesiona el tegumento del parásito adulto y de la larva interfiriendo con los canales iónicos, principalmente de calcio. El albendazol es el otro fármaco de elección, sobre todo en menores de cinco años de edad. La ventaja de este medicamento es que no sólo actúa contra la *Taenia sp*, sino también contra la mayor parte de otros helmintos y nematodos frecuentes. Su desventaja es que debe administrarse durante tres días consecutivos. (3,13)

1.8 Prevención y control

La taeniosis es una enfermedad exclusiva del humano y éste es el único responsable de la dispersión de los huevos del parásito, originando la cisticercosis humana y cisticercosis porcina. La falta de control sanitario de la carne de cerdo y la matanza clandestina, además de malos hábitos en el consumo de esta carne en forma semicruda que contienen cisticercos vivos, son prácticas que contribuyen a la infestación. Se recomienda una producción tecnificada de cerdos, su confinamiento en zahúrdas, inspección sanitaria, decomiso y registro de animales infestados. En el caso de identificar portadores de *Taenia sp* es obligatoria la notificación oficial, además de su desparasitación. Se requiere la introducción de infraestructura sanitaria básica para la eliminación adecuada de excretas, así como campañas educativas comunitarias en educación para la salud y programas efectivos de vigilancia sanitaria relacionadas a *Taenia solium*. (17)

1.9 Diagnóstico

1.9.1 Cisticercosis

Hoy en día se disponen de dos tipos diferentes de técnicas de apoyo diagnóstico para la neurocisticercosis: las de imagen y las inmunológicas. (16)

Las pruebas de imagen no invasivas, como la Tomografía Axial computarizada (TAC) y la Resonancia magnética (RM), son pruebas que se caracterizan por una alta precisión, seguridad y un alto grado de certidumbre diagnóstica. En ellas se puede observar: cisticercos vivos, el escólex, cisticercos en parénquima (aislados o múltiples), cisticercos subaracnoideos (generalmente sin escólex). La resonancia magnética es útil por su propiedad de identificar signos de degradación de los cisticercos, inflamación u obstrucción de los acueductos cerebrales debido a la inflamación (14,16). Estas pruebas presentan diagnósticos equivocados si el cisticerco está o no vivo de acuerdo con la densidad en TAC o hiperdensidad en la RM de la imagen o al diagnosticar subjetivamente la imagen como un presunto tumor.

Desafortunadamente estas técnicas de imagen son costosas y no son accesibles para la mayor parte de la población que padece la enfermedad; por ello se están desarrollando pruebas diagnósticas, económicas y prácticas, orientadas a la identificación de anticuerpos anti-cisticerco. (13,16,18)

En 1975 el primer método inmunodiagnóstico para la NCC fue la inmunoelectroforesis. Se usaron tres fracciones antigénicas del cisticerco: escólex, pared y líquido. La probabilidad de tener NCC aumentaba en proporción a que fuera positivo a cualquier fracción antigénica. Aunque se encontraron algunas variaciones entre las fracciones antigénicas, los antígenos del escólex mostraban mejores resultados con una especificidad del 98 % y una sensibilidad del 62%. (19,20)

La prueba de ELISA es útil en la demostración de anticuerpos en suero y líquido cefalorraquídeo (LCR), y aunque el resultado es más confiable a partir de LCR, se han realizado diferentes estudios en los cuales se reporta una baja sensibilidad (75 %) y moderada especificidad (85%), teniendo reacciones cruzadas con *Hymenolepis nana* y *Echinococcus granulosus*, originando falsos positivos. (8,16,20)

La inmunoelectrotransferencia (IET), tiene 98% de sensibilidad en suero y 95% con LCR, es un método 100% específico con ambos tipos de muestras, pero es costoso (8,20). Ahora bien, puesto que lo único que se detecta es la presencia de anticuerpos anti-cisticerco, ambas pruebas indican sólo si se ha estado en contacto con el parásito, pero no permiten distinguir entre una infestación activa y una resuelta. (20)

Se ha recurrido a la tecnología del ADN recombinante para la clonación de las moléculas de interés diagnóstico. La utilización de los antígenos recombinantes, o péptidos derivados de sus secuencias, obtenidos de genes de *T. solium* y otras Taenias podría solventar las limitaciones actuales del diagnóstico serológico de la enfermedad. (21,22)

En un estudio sobre glicoproteínas de larvas de *T. solium* se prepararon péptidos sintéticos con la secuencia de aminoácidos completa de las glicoproteínas TS14 (sTS14) y TS18 (sTS18) y se evaluaron en el diagnóstico de cisticercosis, mediante FASTELISA, siendo sTS14 reconocido por el 53% de los sueros de pacientes con cisticercosis, mientras que la sensibilidad de sTS18 fue mucho menor; la especificidad de ambos péptidos fue del 100%. (21)

En 2005 se clonó un gen de choque térmico de bajo peso molecular, cuyo antígeno recombinante expresado mostró 83,9% de sensibilidad en el diagnóstico de NCC activa y 71% en NCC inactiva, dicho antígeno exhibió una especificidad de 88,5% .(23) También se ha caracterizado la T24, la cual ha mostrado una sensibilidad del 94 % y una especificidad del 98%. (24)

1.9.2 Taeniosis

Según la Organización Mundial de la Salud, la detección de portadores humanos de las formas adultas de *T. solium* y *T. saginata* constituye uno de los pilares fundamentales en que se apoya la mejora de los programas de control de estas enfermedades.

El diagnóstico de la taeniosis se realiza generalmente por técnicas coproparasitológicas tradicionales como la de flotación (Faust) o sedimentación (Ritchie), entre otras. (1,25)

Estas técnicas presentan baja sensibilidad, ya que detectan menos de la mitad de los casos, y la especificidad también es baja debido a factores biológicos del parásito y a la falta de experiencia para identificar huevos de *Taenia sp.* (1,26)

Con la finalidad de mejorar el diagnóstico de la taeniosis, en los últimos años se ha intentado desarrollar pruebas rápidas, sensibles y específicas que permitan detectar a los portadores de *Taenia sp.* (13,25) Se han evaluado técnicas basadas en el estudio de coproantígenos parasitarios específicos. Los niveles de sensibilidad del ensayo dependen del formato del mismo (microplaca o *dipstick*) y de la calidad del suero de conejo usado en su producción, además, no han sido evaluadas reacciones cruzadas con otros parásitos. ELISA ha mostrado sensibilidad de casi 100 %, mientras DOT-ELISA una sensibilidad del 88 % y especificidad del 100 %; sin embargo estas pruebas no son capaces de distinguir una taeniosis causada por *T. solium* de una producida por *T. saginata*. (25,27)

Recientemente, se ha demostrado la detección de anticuerpos circulantes específicos de especie. Este método serológico posee un 100% de especificidad y alta sensibilidad, ofrece la posibilidad de solucionar los problemas derivados del uso de coproantígenos parasitarios, permite un diagnóstico de especie, evita el peligro potencial de recoger heces y ofrece la posibilidad, en combinación con otras técnicas de inmunodiagnóstico para la cisticercosis, diagnosticar ambos estadios de la infestación por *T. solium*. (27,28)

Actualmente se están utilizando nuevas herramientas y técnicas que permiten un mejor diagnóstico de estas enfermedades, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, antígenos recombinantes, péptidos sintéticos, PCR, cuya manipulación es de fácil estandarización e independientes del material parasitario, el cual es difícil de obtener. (22)

Las técnicas moleculares basadas en la detección del ADN, para el diagnóstico específico de especie han demostrado un alto grado de certeza y utilizando pequeñas cantidades de material parasitario. Se trata de protocolos de PCR basados en el estudio de la secuencia del ADN del parásito, utilizando segmentos como el 5.8S ribosomal, marcadores oligonucleótidos específicos de cada especie e inclusive el segmento 12S RNA mitocondrial, mediante los cuales se pueden hacer estudios comparativos entre *T. solium* y *T. saginata* convirtiéndose éste en un método rápido, sensible y específico. Sin embargo, este ensayo requiere equipo sofisticado y reactivos caros. (29,30)

Los antígenos recombinantes específicos son una alternativa para el diagnóstico de la enfermedad, en 2004 se logró la obtención de dos proteínas recombinantes; los antígenos TSrES 33 y TSrES 38 aislados de AgE/S de *T. solium* que fueron reconocidos por los sueros taeniasicos y no por cisticercosos. (31)

En un estudio previo (32) se identificaron cuatro antígenos en la fracción AgE/S de *T. solium*, con potencial utilidad para el diagnóstico de la taeniosis. Por lo que en el presente trabajo se llevó a cabo la purificación, producción de anticuerpos y la determinación de su especificidad para el diagnóstico de taeniosis en hámster.

1.10 Inmunología

Si bien los anticuerpos convencionales de los isotipos IgM, IgG e IgA se producen en respuesta a los antígenos de los helmintos, el isotipo de inmunoglobulinas que mayormente participa en la resistencia a los helmintos es IgE. Parece ser que los antígenos de los helmintos favorecen de manera preferente la activación de las células Th2. (33,34)

La combinación de los antígenos de los helmintos con la IgE unida a las células cebadas hacen que estas últimas degranulen y que liberen agentes vasoactivos. Estos compuestos estimulan la contracción del músculo liso, y aumentan la permeabilidad vascular. Así, en la reacción autocurativa, se producen contracciones violentas de la musculatura intestinal y aumenta la permeabilidad de los capilares de dicho órgano, expulsando a los parásitos. Los macrófagos, plaquetas y eosinófilos son células que se pueden unir a parásitos cubiertos por IgE para activarse. Por ejemplo, los macrófagos que se unen a las larvas de helmintos a través de la IgE muestran niveles aumentados de enzimas lisosómicas, y un aumento en la liberación de metabolitos reactivos del oxígeno, Interleucina I, leucotrienos, factor activador plaquetario y prostaglandinas. (33-35)

En general, los antígenos de los helmintos parecen inducir de manera preferente respuestas de tipo Th2. Sin embargo, pueden darse respuestas Th1 y, en consecuencia, las células T citotóxicas pueden atacar a los helmintos que se adentran mucho en la mucosa intestinal o que pasan por etapas hísticas prolongadas. Los linfocitos sensibilizados deprimen las actividades de los helmintos por dos mecanismos. En primer

lugar, desarrollan una reacción inflamatoria del tipo de hipersensibilidad retardada, la cual tiende a atraer a las células mononucleares al lugar de la invasión larvaria, y hace que el ambiente local se vuelva insuficiente para el crecimiento o para la migración. Segundo, los linfocitos citotóxicos pueden destruir a las larvas. (33-35)

El éxito del parásito se mide, no por los trastornos que le causa a su hospedero, sino por su capacidad para adaptarse e integrarse al medio interno de éste. El adulto de *Taenia solium* puede llegar a alcanzar un gran tamaño, sin embargo, el daño que le causan al huésped es mínimo. (20)

Se ha demostrado que en la mucosa intestinal alrededor del sitio en donde se fija el escólex se produce una reacción inflamatoria con escasos macrófagos, un ligero incremento de células plasmáticas, linfocitos y fibroblastos, un incremento moderado de eosinófilos y neutrófilos, y un alto número de mastocitos y células caliciformes. (36)

Se ha reportado que existe una co-expresión de citoquinas de Th1 y Th2, ya que por un lado se ha detectado IFN- γ el cual es producido por células Th1 y por otro lado se reporta la presencia de IL-4, la cual se produce en las células T, además de la presencia de IL-5 e IL-13. No hay indicación alguna de que la participación de células Th1 e IFN- γ proporcionen protección contra la taeniosis, ya que en la respuesta inflamatoria los macrófagos se encuentran en baja cantidad. (37)

Para sobrevivir a una respuesta inmunitaria activa, el parásito desarrolla diversos mecanismos de evasión y depresión de la respuesta inmunitaria: establecimiento en sitios inmunológicamente privilegiados, como el ojo y el cerebro; enmascaramiento de la respuesta inmunitaria, al cubrirse con anticuerpos del huésped; desviación de la respuesta inmune hacia el antígeno B o paramiosina, que se secreta e induce fijación al C1q del complemento inactivando la vía clásica del mismo, así como procesos de mutagénesis. (14,20)

II. HIPOTESIS

La producción de antígenos específicos permitirá la detección certera de taeniosis en individuos portadores.

III. OBJETIVO

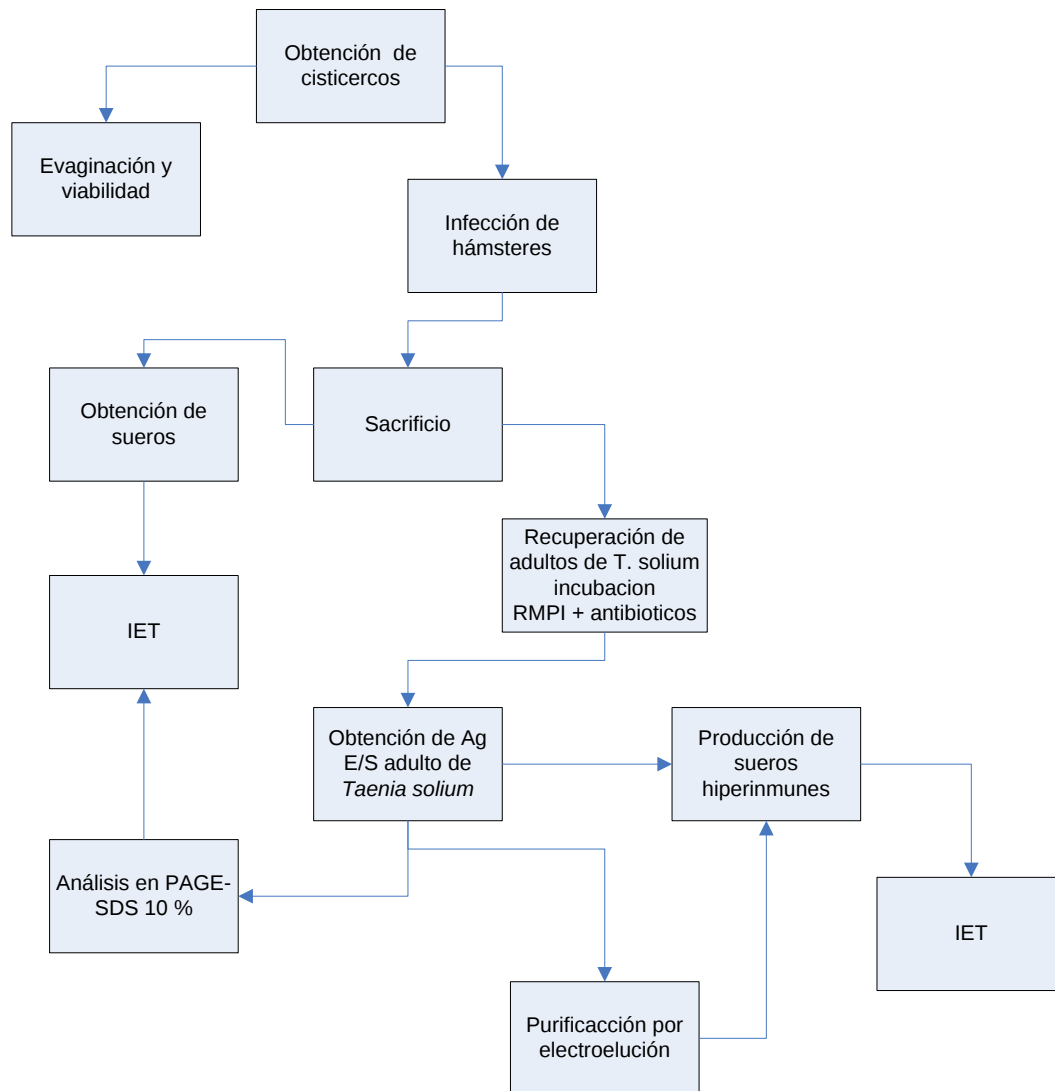
Purificar los antígenos P24, P36, P48 y P72 kDa por el método de electroelución y evaluar su especificidad por IET en la detección de taeniosis en hámster.

3.1 Objetivos particulares

- 1.- Producir adultos de *Taenia solium*, utilizando el modelo de taeniosis en hámster.
- 2.- Producir antígenos de excreción secreción (AgE/S) del adulto.
- 3.- Purificar los antígenos P24, P36, P48 y P72 kDa.
- 4.- Determinar la especificidad de los antígenos (24, 36, 48 y 72 kDa).

IV. METODOLOGÍA

Diagrama de flujo



Los cisticercos se obtuvieron de carne de cerdo infestados naturalmente. La carne fue obtenida del rastro Ferrería ubicado en Av. De la Granjas # 800 Santa Catarina Azcapotzalco Distrito Federal, México. Una vez obtenidos los cisticercos fueron lavados con una solución de cloruro de sodio 0.15 M y fosfato de sodio 0.015 M (PBS) pH 7.5 estéril por 3 veces. Al lote de cisticercos obtenidos se les determinó su viabilidad de la siguiente manera: 20 cisticercos tomados al azar se incubaron en 25 ml de PBS estéril adicionado de 0.1% de bilis bovina, por 24 horas a 37°C. Se tomaron como viables los cisticercos en los que la larva evaginó completamente. Se contó el número de parásitos evaginados y se calculó el porcentaje de viabilidad.

Los parásitos intestinales utilizados en este trabajo (*Hymenolepis nana*, *Entamoeba histolytica* y *Ascaris lumbricoides*, *T. taeniaeformis* y *T. saginata*), fueron donados por el Laboratorio de enseñanza del Depto. de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina.

Modelo de taeniosis en hámster. (Producción de adultos de *T. solium*)

Se utilizaron un grupo de 9 hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*) previamente desparasitados con prazicuantel (PZQ, 3mg/animal) administrado vía oral. Los animales fueron sangrados antes de la infestación para obtener sueros controles negativos. Se infestaron los hámsteres por vía oral con 8 cisticercos viables. Después 6, 10 y 19 semanas grupos de tres hámsteres infestados se sacrificaron a partir de la fecha de infestación, los hámsteres se sacrificaron, utilizando pentobarbital sódico administrado por vía intraperitoneal (3mg/Kg peso). Se extrajo el intestino delgado y se colocó en una caja petri con PBS, el intestino se abrió longitudinalmente para la obtener los parásitos adultos. Como grupo control se utilizaron 3 hámsteres, previamente desparasitados sin infestar.

Obtención de antígenos de excreción/secreción de adulto (AgE/S) de *T. solium*

Una vez recuperados los adultos, se lavaron con la solución de PBS estéril complementado con antibióticos (10^6 UI de penicilina y 2gr/L de estreptomicina, sigma), se colocaron en medio RPMI a 37°C. Durante el primer día de incubación el medio se cambió cada 8 horas y cada 12 en los siguientes 3 días. Durante estos días se determinó la viabilidad del organismo, observando su morfología y motilidad.

Los medios recolectados durante este tiempo se dializaron con PBS y se concentraron en una unidad AMICON utilizando membranas PM 3000 (Millipore). Una vez concentrados se les determinó la concentración de proteínas por el método de Bradford, se dividieron en alícuotas y se congelaron a -20°C hasta su uso.

Obtención de antígenos (Extractos) de parásitos intestinales

Los extractos crudos de los diferentes parásitos se prepararon de acuerdo al siguiente procedimiento: 5 g de parásitos fueron homogenizados en un Ultraturrax T-8 de la casa comercial IKA, con una la solución de extracción con inhibidores de proteasas [Tosil-L-lisina clorometil cetona (TLCK) 10mM, Ácido etilendiaminotetracético (EDTA) 0.5M, Fenil metil sulfonil fluoruro (PMSF) 200mM]. La homogeneización se realizó mediante 3 pulsos de 30 segundos cada uno, con 1 min de incubación en hielo entre cada uno. El homogenizado se centrifugó 30 min a 25,000 rpm (Avanti™ 30 Centrifuge, Beckman) y se colectó el sobrenadante, el cual se dializó en 4L de una solución PBS, pH 7.4 durante toda la noche. Al término de la diálisis, el sobrenadante se centrifuga a 25,000 rpm/30 min. Al sobrenadante obtenido se determina la concentración de proteína por el método de Bradford, se divide en alícuotas y se almacena a -20°C hasta su uso. La composición de los extractos se determinó por geles de poliacrilamida con SDS.

Producción de sueros hiperinmunes

Los sueros hiperinmunes se produjeron en hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*) y Conejos Nueva Zelanda blancos, siguiendo el siguiente protocolo. Antes de la inmunización se tomo una muestra de sangre para obtener suero pre-inmune o suero normal que sirviera como un control negativo. Los animales se inmunizaron intramuscularmente con una dosis de 50 μg de AgE/S con 100 μl **adyuvante de Freud** por animal. Se realizaron 4 inmunizaciones, una cada 15 días. Siete días después de la última inmunización, los animales se sangraron para determinar el titulo de anticuerpos en

sangre mediante ELISA e IET. Una vez determinado el título, los animales se sangraron a blanco, se obtuvo el **suero y se** congeló a - 20°C, hasta su uso.

Electroforesis en geles de poliacrilamida con duodecil sulfato de sodio (PAGE-SDS)

Los patrones proteínicos de las fracciones y de las proteínas puras obtenidas de los parásitos se analizaron en PAGE-SDS al 10% utilizando 2-mercaptoetanol como agente reductor. Se utilizaron 25 µg de los extractos y 5 µg de las proteínas puras por carril. Se utilizó un equipo de MiniProtean II de Bio Rad. La electroforesis se realizó a 100V hasta que el frente de corrida (azul de bromofenol) alcanzó el final del gel; unos geles fueron teñidos con azul brillante de Coomassie.

Inmunoelectrotransferencia

Se realizaron corrimientos electroforéticos en PAGE-SDS al 10% utilizando 3 µg/mm de proteína, al terminar el corrimiento de la electroforesis, las proteínas contenidas en el gel se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (Hybond-C, Accesolab) utilizando un equipo MiniTransblot de Bio Rad a 100V durante 1hr, después del tiempo señalado se cortó la membrana en tiras de aproximadamente 2mm de ancho.

Para identificar antígenos sobre las membranas, estas se enfrentaron a los sueros de hámsteres taeniasicos y sanos, así como los sueros hiperinmunes producidos en hámsteres y conejos y sueros normales (controles negativos). Los sueros se probaron en una dilución 1:100, 1:1000 y 1:2000, como segundo anticuerpo se utilizó anticuerpos de cabra anti-IgG de hámster y anti IgG de conejo respectivamente acoplada a peroxidasa (Zymed, 1:2000). Los anticuerpos unidos a la membrana se revelaron con diaminobenzidina (DAB).

Purificación de proteínas por electroelución

Los AgE/S fueron sometidos a electroforesis en un gel preparativo de SDS-PAGE al 10% y corridos como ya se describió antes. Estos geles se tiñeron con azul de Coomassie al 0.2% en agua. Las bandas P24, P36, P48 y P72 se cortaron del gel tomando como referencia el marcador de peso. Cada una por separado se colocaron en tubos de un aparato de electroelución Electroeluter marca BioRad. Para la electroelución se utilizaron las condiciones: 10 miliamperios por tubo por 5 horas a 4°C. Las fracciones electroeluidas obtenidas, fueron recuperadas de un compartimiento ubicado al final del tubo entre la

membrana de diálisis de poro 10 kDa y el filtro contenedor de gel, se tomaron con una pipeta eppendorf y dializaron con agua ultrapura durante 12 horas en agitación constante a 4°C. Finalmente, la solución obtenida se precipitó con acetona durante 12 horas a -20°C. Las proteínas electroeluidas se analizaron en PAGE-SDS.

V. RESULTADOS

La viabilidad de los cisticercos del lote obtenido se determinó con el protocolo de evaginación, y mostró un 100 % de evaginación. Por lo que una vez comprobada la viabilidad de los cisticercos se infestaron con 8 cisticercos a cada hámster previamente desparasitados e inmunosuprimidos para facilitar la infestación. Grupos de tres hámsteres infectados se sacrificaron a las 6, 10 y 19 semanas. Los parásitos adultos se aislaron del intestino delgado del hámster y se contaron para determinar el porcentaje de infestación. Se consideró un valor de 100 % de infestación si se obtenía una *Taenia* adulta por cada cisticerco administrado al animal, en promedio se obtuvieron 3 *Taenias* por animal (Tabla I).

Tabla I. Adultos de *Taenia solium* obtenidos después de infestar hámsteres con ocho cisticercos/animal.

Hámsteres Infestados	Tiempo de infestación	Taenias obtenidas/animal	Porcentaje de infestación %
A, B, C	6 semanas	4, 4, 4,	50
D, E, F	10 semanas	3, 4, 2	37.5
G, H, I*	19 semanas	3, 3, 0	33

*murió el hámster.

Las *Taenias* obtenidas de los hámsteres fueron colocadas en medio para la obtención de los AgE/S de adulto. Se recuperaron alrededor de 300 ml de medio de cultivo después de los 4 días de incubación. Todo el medio obtenido se concentro hasta 4 ml y se cuantificó la cantidad de proteínas obteniendo 3.3 µg/µl.

El análisis de la composición de los AgE/S se llevo a cabo en SDS-PAGE al 10 % teñido con azul de Coomassie (FIG 8). Como se puede observar, la fracción de AgE/S esta compuesta por varias bandas que van de un rango de 17-250 kDa aproximadamente, se puede destacar por su intensidad las bandas de 28, 36, 40, 68, 72, 90, 130 y 250 kDa.

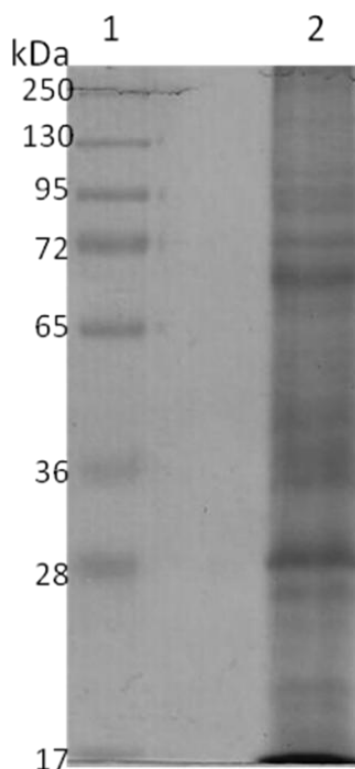


FIG 8. SDS-PAGE al 10% mostrando: 1) pesos moleculares comerciales (benchmark prestained protein ladder de la casa Invitrogen y 2) la fracción de AgE/S obtenida del cultivo de los adultos de *T. solium*.

Al enfrentar los sueros obtenidos de los hámsteres taeniasicos con los AgE/S de adulto, se observa que reconocieron diferentes antígenos en un intervalo de 20 a 130 kDa. En contraste el control positivo (un suero de hámster anti-AgE/S de adulto de *Taenia solium*) reaccionó con gran intensidad varias proteínas en la misma región antes mencionada y como era de esperarse el control negativo no presento reacción alguna contra los antígenos de la fracción (FIG 9).

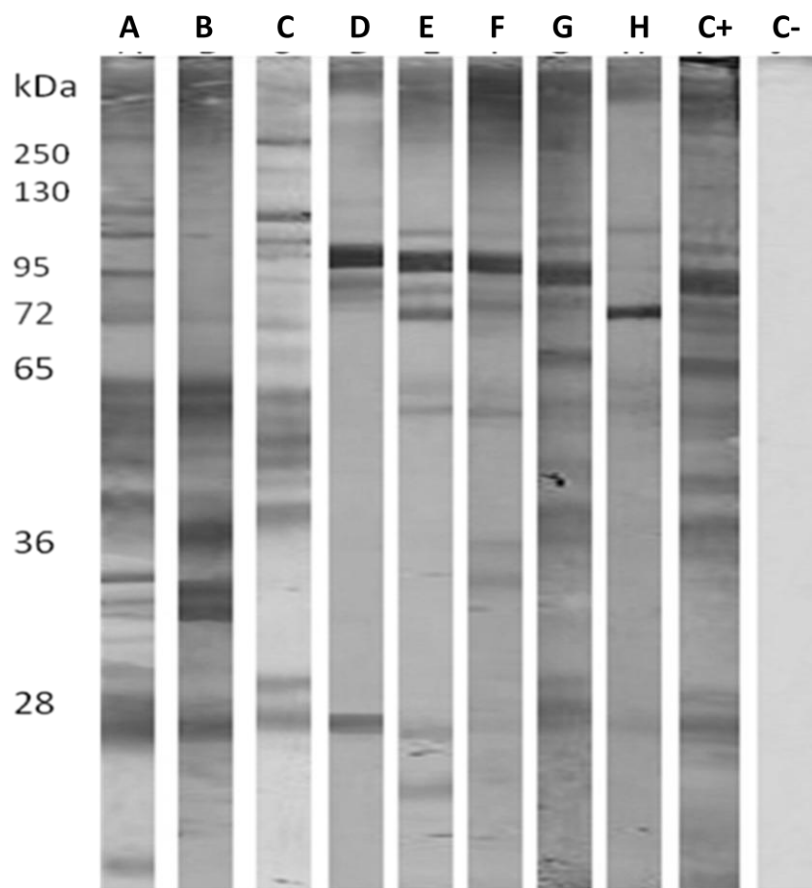


FIG 9. Inmunoelectrotransferencia de AgE/S de adulto de *Taenia solium* enfrentados contra sueros de hámsteres taeniasicos (A, B, C, D, E, F, G, H). C+, suero de hámster anti AgE/S de adulto de *Taenia solium*, y C-, un suero de hámster normal.

La tabla II, muestra que 5 bandas fueron reconocidas frecuentemente por la mayoría de los sueros, la banda de 24 kDa en un 100%, la 48 y 72 Kda un 87.5%, la de 36 kDa un 62.5%, la 95 kDa un 75%. Otras bandas fueron reconocidas por estos sueros de hámsteres en un porcentaje menor al de 75% (Tabla II).

Tabla II. Porcentaje de reconocimiento de bandas de los AgE/S por los sueros de hámster taeniasicos.

PM kDa	Numero de veces reconocidas por sueros	% de reconocimiento
95-130	2 (A,C)	25
95	6 (A,D,E,F,G,H)	75
72	7 (A,B,C,E,F,G,H)	87.5
65	2 (C,G)	25
48	7 (A,B,C,E,F,G,H)	87.5
36-48	3 (A,B,C)	37.5
36	5 (A,B,F,G,H)	62.5
28	3 (A,B,G)	37.5
24	8 (A,B,C,D)	100
17-24	2 (A,E)	25

Después de observar que los sueros de los hámsteres taeniasicos preferentemente reconocían las bandas de 24, 36, 48, 72 kDa se procedió a purificarlas por el método de Electroelución, como se puede observar en el SDS-PAGE de la figura 3, las proteínas purificadas, presentaron el mismo PM. El disponer de las proteínas puras nos permitió utilizarlas para la inmunización de los conejos y obtener anticuerpos contra cada una de ellas. Los sueros presentaron títulos mayores a 1:4000 determinados por ELISA.

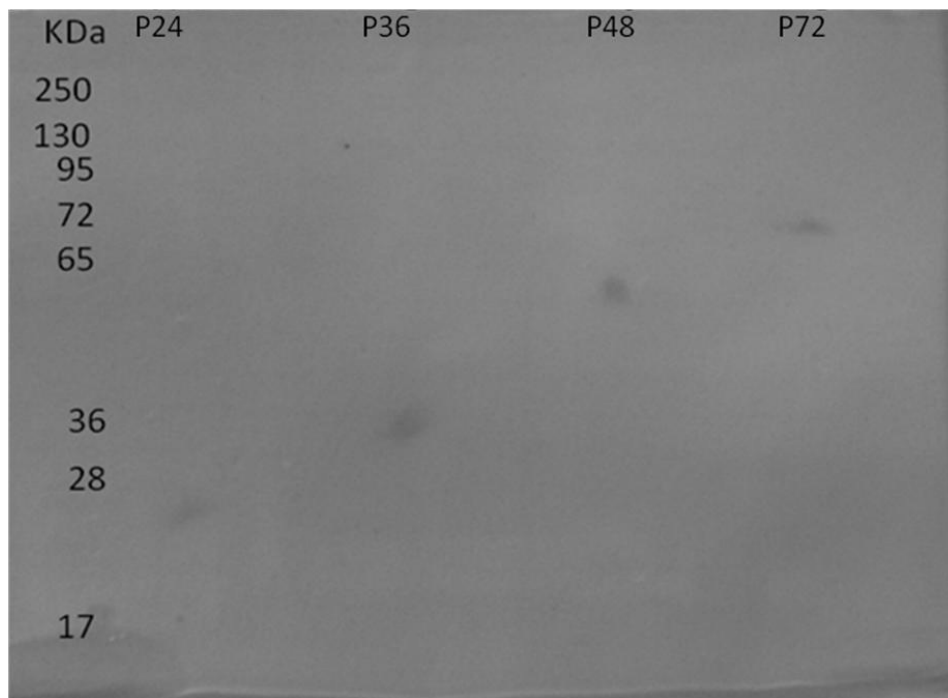


FIG. 10. SDS-PAGE al 10 % de la purificación de las proteínas P24, P36, P48 y P72, utilizando el método de electroelución.

En la figura 11 se observa la IET con los sueros hiperinmunes de conejo anti- las proteínas purificadas (P24, P36 y P72) que reconocen específicamente a sus proteínas contra las que fueron realizados (24, 36 y 72 kDa) en la fracción AgE/S de *T. solium*. Cabe mencionar que no se logró la obtención de suero hiperinmune contra la proteína de 48 kDa, debido a que el conejo se murió. Por otro lado, el suero de hámster anti-AgE/S utilizado como control positivo en el ensayo reconoció varias bandas en la fracción mencionada, en contraste el suero de hámster pre inmune usado como control negativo, no reconoció ninguna banda en la misma fracción.

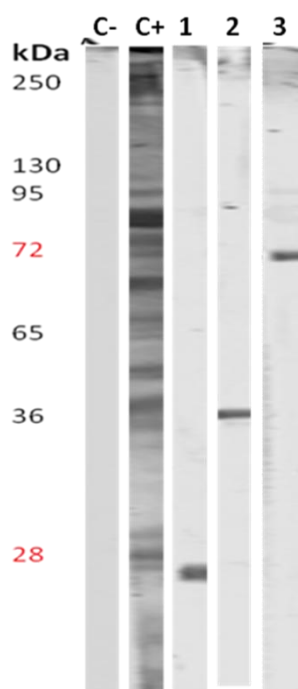


FIG. 11. Inmunoelectrotransferencia de AgE/S de adulto de *Taenia solium* enfrentados contra diferentes sueros de conejo: **C-**.suero normal, **C+**.suero anti Ag E/S adulto, **1.** anti-P24, **2.** anti-P36, **3.** anti-P72 de *T. solium*.

La Figura 12 muestra una IET donde se enfrentan los sueros anti-P24, P36, P72 contra extractos crudos de *T. taeniaeformis* y *T. saginata*. Se observa que para el extracto de *T. taeniaeformis* el suero anti-P24 tiene un reconocimiento leve de bandas en las regiones de 70, 50 y 40 kDa y un reconocimiento intenso en una banda de 67 kDa; el suero anti-P36 reconoce dos bandas gruesas fuertemente en la región de 95 kDa y otra de menor intensidad en la región de 67 kDa, mientras que el suero anti-P72 presentó un reconocimiento leve en la región de 70 kDa. Asimismo para el extracto de *T. saginata*, el suero anti-P24 reconoció un banda de 67 kDa, el suero anti-P36 dos bandas fuertemente en la región de 95 kDa, y finalmente el suero anti-P72 no reconoció ninguna banda.

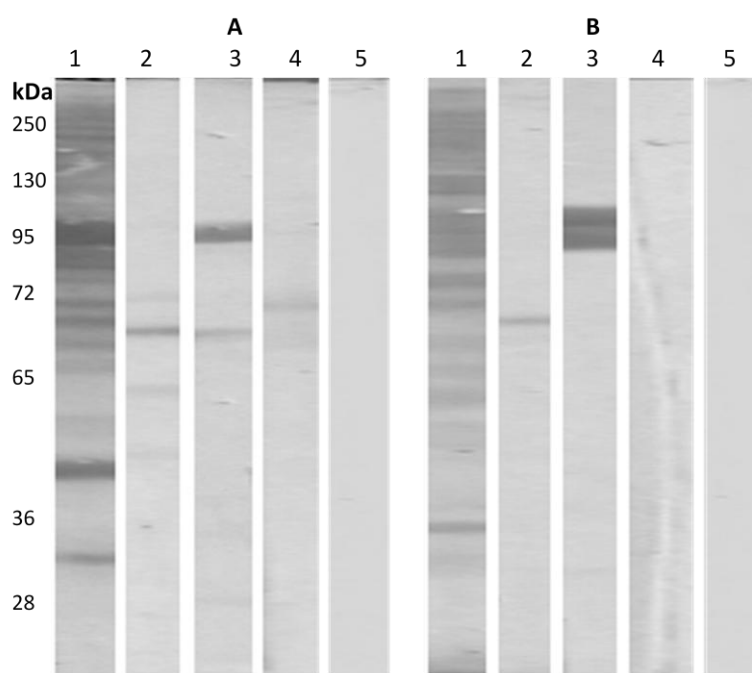


FIG 12. Inmunoelectrotransferencia de extractos crudos de adultos de *Taenia taeniaeformis* (A) y *Taenia saginata* (B) enfrentados con suero anti Ag E/S de adulto de *Taenia solium* (1), suero anti-P24 (2), suero anti-P36 (3), y suero anti-P72 (4) y suero normal de conejo (5)

Los mismos sueros anti-proteínas (P24, P36, P78) se analizaron por IET para ver si reconocían alguna banda en extractos crudos de los siguientes parásitos intestinales: *Hymenolepis nana*, *Entamoeba histolytica* y *Ascaris lumbricoides*. Se observa que para *Hymenolepis nana* el suero anti-AgE/S de *T. solium* de adulto reconoce una banda ancha intensa alrededor de 70 kDa y ninguna banda en los demás extractos probados. Por otro lado, los sueros anti-(P24 y P36) no reconocieron ninguna banda en los extractos probados, en contraste el suero anti-P72 reconoció una banda de 72 kDa solo en el extracto de *H. nana*, y ninguna banda en los demás extractos de parásitos probados (FIG 13).

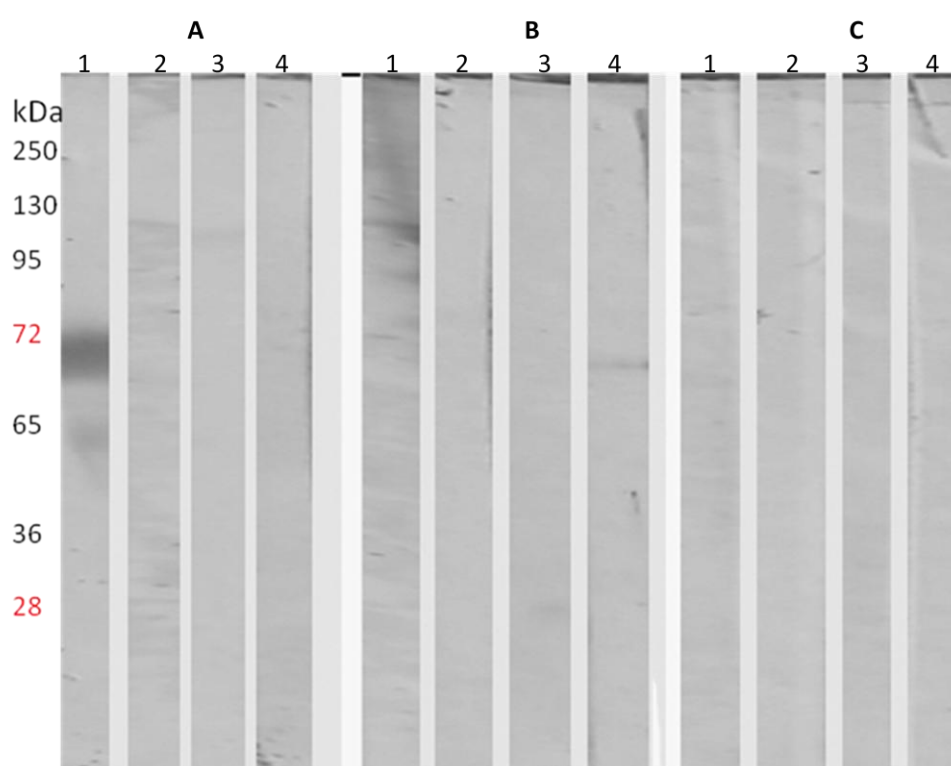


Fig 13. Inmunoelectrotransferencia de extractos de diferentes parásitos intestinales; A. *Entamoeba histolytica*, B. *Hymenolepis nana* y C. *Ascaris lumbricoides*, contra los sueros anti-Ag E/S (1), suero anti-P24(2), anti-P36(3) y anti-P72(4) de adulto de *Taenia solium*.

VI. DISCUSIÓN

Como se puede observar en la tabla I, se obtuvo un porcentaje de entre el 33 y 50 % de Taenias en los hamsteres infestados con 8 cisticercos de un lote que presentó el 100% de evaginación, estos resultados concuerdan con datos reportados anteriormente en diferentes trabajos donde el porcentaje de infección fue en promedio de 34.89 al 59 % y en los que se utilizaron lotes de cisticercos con 90–100% de evaginación. (32,38)

La obtención de adultos de *T. solium* de los hámsteres permitió la obtención de los AgE/S. La Figura 8, muestra un PAGE-SDS de esta fracción compleja compuesta de moléculas con pesos moleculares en el rango de 17 a 250 kDa, con la existencia de bandas que son notorias por encontrarse en gran concentración en la fracción, entre las que se identifican los antígenos P24, P28, P36, P48, 68 P72, P95 y P100. Este resultado concuerda con lo previamente reportado por dos estudios anteriores. (32,39)

Al enfrentar los sueros de los hámsteres taeniasicos contra AgE/S en ensayos de IET, se puede observar que la P24 fue reconocida en un 100%, el cual supera por mucho al reconocimiento de este antígeno de 58 % reportado en un estudio previo (32). El antígeno P36 muestra un 62.5 % de reconocimiento, este valor concuerda con el 60 % que se reporto en el mismo estudio. Asimismo, los antígenos P48 y P72 fueron reconocidos por el 87.5 % de los sueros taeniasicos, este valor difiere del 52 y 54 % que se reporto para P48 y P72, respectivamente (32). Se observó un reconocimiento del 75 % por los sueros taeniasicos de la banda de 95 kDa, sin embargo esta banda se descarto, debido a que en trabajos previos han demostrado la presencia en esa región de un antígeno inmunodominante, la paramiosina o antígeno B, proteína presente en todos los helmintos. (32)

Al observar que los antígenos P24, P36, P48 y P72, son reconocidos frecuentemente por los sueros de hámsteres taeniasicos, se procedió a la purificación de estas proteínas por el método de electroelución. En la figura 10, se observa como después del procedimiento de purificación por electroelución, las propiedades como el peso molecular y su antigenicidad se mantiene, indicando que el método puede utilizarse para la rápida purificación de antígenos de este parásito.

Con las proteínas puras se logró la producción de anticuerpos policlonales en conejos contra cada una de estas proteínas. La figura 11, muestra el reconocimiento y la

especificidad que estos tienen al reconocer a su antígeno en la fracción compleja de AgE/S de *T. solium*.

Por otro lado, al enfrentar los sueros anti AgE/S, anti P24, anti P36 y anti P72 con extractos de dos parásitos del mismo género, *T. saginata* y *T. taeniaeformis*, se observó solo el reconocimiento intenso de una banda de 66 kDa por el suero anti-P24 y dos bandas de 66 kDa y 95 kDa por el suero anti-P36 y solo una banda de 72 kDa por el suero anti-P72, en ambos parásitos. Estos reconocimientos pueden deberse a múltiples razones, 1.- que existan epitopos de reacción cruzada en la proteína de 66 kDa, 2.- que la banda P24 observada en *T. solium* sea un producto de degradación o 3.- que la proteína en estos organismos este asociada a moléculas como carbohidratos o lípidos que le confieran un PM mayor que a la P24, las mismas explicaciones aplican para la P36. En contraste los sueros anti-P72 reconocen en los extractos de ambas taenias una proteína de 72 kDa, que podría ser el mismo antígeno. Por otro lado, el suero hiperinmune de hámster anti-AgE/S reconoció un patrón de bandas similares en ambos extractos de las Taenias antes mencionadas, con ligeras diferencias como la presencia de dos bandas intensas de 34 y 130 kDa en *T. saginata* no presentes en *T. taeniaeformis*, asimismo ambos son similares con el de *T. solium*.

Para descartar otras posibles reacciones cruzadas con otros parásitos intestinales comunes del humano, se enfrentaron los sueros anti AgE/S, anti P24, anti P36 y anti P72 con los extractos crudos de *Hymenolepis nana*, *Entamoeba histolytica* y *Ascaris lumbricoides*, observándose que solo el suero anti-P72 reconoció una banda de 72 kDa en *H. nana*. Este tipo de reacciones cruzadas pueden tener dos explicaciones uno que la P72 exista en este parásito, lo cual no sería raro debido a su cercanía filogenética con el género Taenia o bien que sea una proteína que comparta epitopos con la P72 de *T. solium*.

Si bien es cierto que la demanda diagnóstica de la taeniosis es baja en hospitales y que se ha observado que el mostrar el parásito a alguien que lo pueda haber albergado o lo albergue, ha resultado un buen método para la detección y control del complejo taeniosis/cisticercosis, sin embargo esto no es suficiente. Por otro lado, algunos estudios han mostrado que al dar el tratamiento a las personas e incluso educación sobre las enfermedades que produce este parásito y como evitarlas, se ha observado que la cisticercosis disminuye considerablemente, pero al cabo de unos años esta tiende a aumentar nuevamente, lo que nos indica que los portadores de *Taenia solium* no han sido

erradicados totalmente. Por lo que es importante continuar desarrollando un metodo para la detección de taeniosis en humanos que sea barato, fácil, sensible y específico, ya que al detectar a los portadores del adulto de *T. solium*, se disminuira el riesgo para que los humanos y cerdos adquirieran la cisticercosis. Esto sería posible ya que los portadores se pueden tratar con fármacos efectivos que destruyen al adulto y cortan el ciclo de estos ténidos.

Este trabajo aportó, la identificación de 2 antígenos (P24 y P36) con potencial utilidad diagnóstica para la taeniosis causada por *T. solium*, así como la utilidad del modelo de taeniosis en hámster para producir adultos del parásito para antígeno y su utilidad para probar nuevos antígenos con la meta de desarrollar un método diagnóstico para la taeniosis de humanos.

VII. CONCLUSIONES

Se logró reproducir el modelo de taeniosis en hámster para la la obtención de Ag E/S de adulto de *Taenia solium*.

Se implemento un método rápido y fácil para la purificación proteínas de Ag E/S de adulto de *Taenia solium*.

Se identificaron dos proteínas (P24 y P36) con potencial uso para el diagnóstico de la taeniosis causada por *Taenia solium*.

El estudio abre la posibilidad de de continuar utilizando el modelo para desarrollar un método diagnóstico específico para la taeniosis en humanos causada por la *Taenia solium*.

REFERENCIAS

1. Meza L. A., Aguilar R. F. Teniasis Humana por *Taenia solium*. Rev Mex Patol Clin, Abril 2002. 49 (2):92-99.
2. Gillespie Stephen H.(ed.); Pearson, Richard D.(ed.) Principles and Practice of Clinical Parasitology Published By: John Wiley & Sons, Ltd. (2001) :613-627.
3. Botero D., Restrepo M. (2006). Parasitosis Humanas.4 ed. Corporación para investigaciones biológicas 142-152.
4. Flisser A., Vargas L., Laclette, J. *Taenia solium*: un parásito cosmopolita. Investigación y ciencia. Mayo, 2006.
5. García HH, Martínez SM. *Taenia solium* Teniasis/Cysticercosis. 1999. Segunda Edición. Lima: Ed. Universo,
6. García H., González A. 2000. Teniasis por *Taenia solium*. Diagnostico vol. 39 núm. 4: 176-178.
7. Villalobos-Perozo, Rafael. (2003). Manifestaciones clínicas de presentación de Neurocisticercosis. Kasmera 31(2): 80 - 85, 2003.
8. García H., González A., Evans C., Gilman R. *Taenia solium* cisticercosis. The Lancet. 2003, Agosto vol 31.
9. Martínez-Maya J.,S de Aluja A., Avila-Ramírez G, Aguilar-Vega L., Plancharte-Crespo A., Jaramillo-Arango C. Teniosis y detección de anticuerpos anticisticercosis en personas de una comunidad rural del estado de Guerrero. Marzo-abril de 2003. Salud pública de México / vol.45, no.2.
10. Rodríguez R., Benítez W, Praet N., Saa L. R., Vercruysse J., Brandt J., Dorny P. Taeniasis-cysticercosis in Southern Ecuador. Assessment of infection status using multiple laboratory diagnostic tools. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006 Nov;101(7):779-82.
11. Sarti E., Schantz P., Plancharte A. Wilson M., Gutierrez R., Lopez A., Roberts J, Flisser A. Prevalence and risk Factor for *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos Mexico. Am J Trop Med Hyg 1992; 46:677-684.
12. Secretaria de Salud, sistema nacional de vigilancia epidemiológica ISSN 1405-2636 Número 41-43 Volumen 24 Semana 41-43. Del 7 al 27 de octubre de 2007
13. Sarti E. La teniosis y cisticercosis por *Taenia solium*. Salud pública de México / vol.39, no.3, mayo-junio de 1997.

14. Larralde C., S. de Aluja A. (2006). Cisticercosis, Guía para profesionales de la salud. Fondo de Cultura Económica.
15. Schantz, P.M., Sarti, E., Plancarte, A., Wilson, M., Criales, J.L., Roberts, J., Flisser, A.. Community-based epidemiological investigations of cysticercosis due to *Taenia solium*: comparison of serological screening tests and clinical finding in two populations in Mexico. *Clin. Infect. Dis.* 1994 18, 879–885.
16. Flisser A, Rodríguez-Canul R, Willingham III AL. Control of the taeniosis/cysticercosis complex: Future developments. *Vet Parasitol.* 2006 Jul 31;139(4):283-92
17. Norma Oficial Mexicana, NOM-021-SSA2-1994. Para la vigilancia, prevención y control del complejo Teniasis/Cisticercosis en el primer nivel de atención medica. *Diario oficial de la Federación.* Tomo DXV no. 15 México, D.F. miércoles 21 de agosto de 1996.
18. Dorny P., Brandt j., Zoli A., Geerts S. Immunodiagnostic tools for human and porcine cysticercosis. *Acta Trop* 87 (2003): 79 – 86
19. Flisser A, Woodhouse E . Larralde C. Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders. *Clin Exp Immunol* 1980; **39**: 27–37.
20. Flisser A., Gyorkos T.W. Contribution of immunodiagnostic tests to epidemiological/ intervention studies of cysticercosis/taeniosis in México *Parasite Immunol.* 2007 Dec;29(12):637-49
21. Greene R. M., Hancock K., Wilkins P. P. & Tsang V. C. (2000) *Taenia solium*: molecular cloning and serologic evaluation of 14 and 18 kDa related, diagnostic antigens. *J. Parasitol* 86: 1001-1007.
22. Ferrer E. Teniasis/Cisticercosis: Avances en diagnóstico inmunológico y molecular. *Boletín de Malariología y salud ambiental* Vol. XLVI, Nº 1, Enero-Julio, 2006.
23. Ferrer E., González L.M., Foster-Cuevas M., Cortéz M.M., Dávila I., Rodríguez M. *Taenia solium*: characterization of a small heat shock protein (Tsol-sHSP35.6) and its possible relevance to the diagnosis and pathogenesis of neurocysticercosis. *Exp Parasitol* 2005 May;110(1):1-11.
24. Hancock K., Pattabhi S., Whitfield F., Yushak M., Lane W. Garcia H. Gonzalez E., Gilman R., Tsang V. Characterization and cloning of T24, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis. *Mol Biochem Parasitol.* 2006 May;147(1):109-17

25. Escalante H., Huamanchay C., Davelois K. La inmunocromatografía para el diagnóstico de la infección por *Taenia solium* en *Mesocricetus auratus* mediante la detección de coproantígenos. *Rev. Med. Exp.* 2001, 18
26. Schantz PM, Sarti E. Diagnostic methods and epidemiological surveillance of *Taenia solium* infection. *Acta Leidensia* 1989; 2: 153-163.
27. Allan J, Avila G, García-Noval J, Flisser A & Craig PS. Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen detection. *Parasitol* 1990; **101**: 473–477.
28. Allan J. C., Wilkins P., Tsang V., Craig P. Immunodiagnostic tools for taeniasis. *Acta Trop* 2003; 87:87-93.
29. González LM, Montero E, Harrison LJ, Parkhouse RM, Garate T. Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* infection by PCR. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(2):737-44.
30. Mayta H, Talley A, Gilman R H, Jiménez J, Verástegui M, Ruiz M, García H. Gonzalez E. Differentiating *Taenia solium* and *Taenia saginata* infections by simple hematoxylin-eosin staining and PCR-restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol* 2000; 38(1):133-7.
31. Levine M. Z., Calderon J. C., Wilkins P., Lane William., Asara J., Hancock K., Gonzalez A., Garcia H., Gilman R., Tsang V. Characterization, cloning, and expression of two diagnostic antigens for *Taenia solium* tapeworm infection. *J Parasitol* 90(3), 2004, pp. 631–638.
32. Ochoa Sánchez Alicia. (2007). Identificación de antígenos específicos de *Taenia solium* adulto usando el modelo de teniosis en hámster (*Mesocricetus auratus*). Tesis de Maestría. UNAM.
33. Tizard, I. 1998. Inmunología Veterinaria. 5ta ed. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. México
34. Rojas W. (2001). Inmunología. 12 ed. Ed Corporación para investigaciones biológicas. Colombia.
35. Maizels R., Yazdanbakhsh M. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nat Rev Imm* 2003 vol 3:733-744
36. Avila G, Aguilar L, Benitez S, Yepez-Mulia L, Lavenat I, Flisser A. Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*. *Int J Parasitol.* 2002 Sep;32(10):1301-8.

37. Avila G., Aguilar L., Romero-Valdovinos M., Garcia-Vazquez F., Flisser A. Cytokine Response in the Intestinal Mucosa of Hamsters Infected with *Taenia solium*.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 2008 1149: 170–173.
38. Avila G., Teran N., Aguilar L., Maravilla P., Mata-Miranda P., Flisser A. Laboratory animal models for human *Taenia solium*. Parasitol Int. 2006;55 Suppl:S99-S103.
39. Wilkins P., Allan J., Verastegui M., Acosta M., Eason A., García H., Gonzalez A., Gilman R., Tsang. Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* taeniosis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1999 60(2):199–204.

Referencias de internet

- http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/cestodos/imagenes/cisticercos_1.jpg
- <http://www-lab.biomedicas.unam.mx/cistimex/s5/cv>
- <http://www.stanford.edu/group/parasites/ParaSites2005/cysticercosis/epidemiology.htm>