



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACION DE LA CAPACIDAD PREDICTIVA DE
INMUNOENSAYOS (ELISA) PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA
NEUROCISTICERCOSIS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

MALLELY CAROLINA ÁVILA GARCÍA

Asesora:

Dra. Edda Sciutto Conde

México D.F., 2006





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.

DEDICATORIAS

A mis papás Teresa y Raymundo por todo su amor, cariño y comprensión por guiarme, y ser un ejemplo a seguir.

A mis hermanas Iridi, Dulce y Nelly por todo su amor y por aguantarme en los momentos difíciles.

A Humberto por todo su amor, cariño y comprensión; por estar siempre a mí lado y ser la persona más maravillosa.

A mis sobrinos Fany, Dany, Mauren y Gerardo por darme su cariño y alegría... por recordarme lo sencillo que es la vida.

A mis abuelos Vicenta, Cande y José; que aunque ya partieron, siempre estarán junto a mí.

A mis tíos Fer, Laura, Lucia, Carmen, José Luís, Jesús, Juan y Gloria.

A todos mis amigos especialmente a Caro, Dulce, Gelos y Vera.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra Edda Sciutto por ofrecerme la oportunidad de trabajar en su grupo, sus enseñanzas y confianza brindada.

A la Dra. Marisela Hernández por el tiempo brindado a la asesoría a este trabajo y por sus aportaciones técnicas.

A la Dra Agnes Fleury por el material brindado del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía y la colaboración en el análisis de datos.

Al, Drs.Marcelino Rosas, Julio Morales, Nelly Haaz y al Mtro. Raymundo Ávila por todo el apoyo brindado, por sus aportaciones y sugerencias que contribuyeron a enriquecer este trabajo.

A la CDra. Angélica Pablo por toda su ayuda y amistad.

A mí jurado Drs: Hector Quiroz, Graciela Tapia, Evangelína Romero, Alicia Ávila y Laura Cobos por sus aportaciones y sugerencias.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1 Historia.....	2
1.2 Situación actual.....	2
1.3 <i>Taenia solium</i>	3
1.4 Ciclo de vida.....	5
1.5 Diagnóstico.....	7
1.5.1 Estudios radiológicos.....	7
1.5.2 Estudios inmunológicos.....	8
1.6 Tratamiento.....	9
2. ANTECEDENTES	10
3. HIPOTESIS	13
4. OBJETIVOS	14
4.1 General.....	14
4.2 Particular.....	14
5. MATERIAL Y MÉTODOS	15
5.1 Muestra.....	15
5.2 Ensayo de ELISA.....	15
5.2.1 Detección de antígeno de secreción HP10.....	16
5.2.2 Detección de anticuerpos anti-cisticerco.....	16
5.3 Análisis estadístico.....	17
6. RESULTADOS	19

	Página
6.1 Descripción de los pacientes con base en el expediente.....	19
6.1.1 Sexo y edad.....	19
6.1.2 Escolaridad y ocupación.....	19
6.1.3 Procedencia.....	19
6.1.4 Enfermedades.....	20
6.2 Descripción radiológica e inflamatoria del líquido cefalorraquídeo.....	21
6.3 Determinación de la capacidad diagnóstica del ensayo de ELISA para la detección de antígeno y anticuerpos.....	23
6.4 Relación entre los niveles de antígeno y anticuerpos de pacientes con diagnóstico de neurocisticercosis con:.....	25
6.4.1 Localización del parásito.....	25
6.4.2 Estado del parásito	26
6.4.3 Celularidad en líquido cefalorraquídeo.....	27
6.4.4 Procedencia.....	28
6.4.5 Edad.....	29
6.4.6 Género.....	30
7. DISCUSIÓN.....	31
8. CONCLUSIÓN.....	35
9. REFERENCIAS.....	36
ANEXOS	
ÍNDICE DE CUADROS	
LISTADO DE ABREVIATURA	

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1: Estados del parásito por medio de TAC y RMN.....	21
Cuadro 2: Principales características del líquido cefalorraquídeo.....	22
Cuadro 3: Determinación de la capacidad diagnóstica de la detección de anticuerpos y antígeno de secreción HP10.....	24
Cuadro 4: Localización del parásito de pacientes con neurocisticercosis en relación al nivel de antígeno y anticuerpos.....	25
Cuadro 5: Estado del parásito de pacientes con neurocisticercosis en relación al nivel de antígeno y anticuerpos.....	26
Cuadro 6: Celularidad del líquido cefalorraquídeo de pacientes con neurocisticercosis en relación al nivel de antígeno y anticuerpos...	27
Cuadro 7: Medio de procedencia de pacientes con neurocisticercosis en relación al nivel de antígeno y anticuerpos.....	28
Cuadro 8: Distribución etaria de pacientes con neurocisticercosis en relación al nivel de antígeno y anticuerpos.....	29
Cuadro 9: Género de los pacientes con neurocisticercosis en relación al nivel de antígeno y anticuerpos.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay (ensayo por inmuno-absorción enzimática)
NC	Neurocisticercosis
LCR	Líquido cefalorraquídeo
SNC	Sistema nervioso central
Ag	Antígeno
Ac	Anticuerpo
SA	Subaracnoideo
TAC	Tomografía axial computarizada
RMN	Resonancia magnética nuclear
Sen	Sensibilidad
Esp	Especificidad
VP ⁺	Valor predictivo positivo
VP ⁻	Valor predictivo negativo

RESUMEN

ÁVILA GARCÍA MALLELY CAROLINA; Evaluación de la capacidad predictiva de inmunoensayos (ELISA) para el diagnóstico de la neurocisticercosis (bajo la dirección de: Dra. Edda Sciutto Conde).

El objetivo de este estudio fue la detección de antígeno de secreción HP10 y anticuerpos anti-cisticercos en muestras pareadas de líquido cefalorraquídeo (LCR) y suero, de 58 pacientes del INNN con expedientes clínicos y estudios radiológicos de Tomografía y Resonancia magnética. Se encontró que 43% de los pacientes eran mujeres y 57% hombres; su procedencia fue del Estado de México y D., F. principalmente. En los estudios radiológicos se encontró que el 54% de los casos tenían parásitos en un solo estado (coloidal, degenerado ó calcificado), mientras que 46% tenían estados diferentes. El análisis del LCR presentó hiperproteinemia, pleocitosis, hipoglucemia, neutrofilia, eosinofilia y linfocitosis. La sensibilidad que presentó el ensayo de ELISA fue similar en ambas muestras, pero se encontraron diferencias dependiendo la forma y localización de parásito. Se encontró que tenían anticuerpos el 100% de los pacientes del medio rural y solamente el 60% del medio urbano ($P < 0.04$). Se encontró una relación al determinar antígenos con: edad del paciente ($P < 0.001$), localización del parásito en el ventrículo, así como en espacio subaracnoideo de la base ($P < 0.02$) y estado vesicular ($P < 0.004$). La celularidad en LCR fue estadísticamente significativa en ambas muestras ($P < 0.02$).

Palabras clave: *Taenia solium*, neurocisticercosis, ELISA, antígeno, anticuerpo.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Historia

Desde la cultura egipcia y griega se identificaron a los gusanos intestinales. Hipócrates, Aristóteles y Teofrasto los llamaron “gusanos planos” por su similitud a cintas o listones, mientras que Celso, Plinio el Viejo y Galeno las denominaron “*lumbricus latus*” que significa gusano ancho. Posteriormente, Aristóteles observa que hay vesículas similares al granizo en músculo de cuello, espalda y la lengua del cerdo. Laenec les da el nombre de cisticerco, palabra que proviene del griego *Kistic*: vesícula y *colay*: cola. En 1683 Tyson descubre la cabeza de las tenias y hasta 1853 cuando Van Beneden alimenta a un cerdo con huevos de *Taenia solium*, demuestra en la necropsia el desarrollo de cisticercos en la carne. Dos años después Küchenmeister extrajo cisticercos de carne de cerdo y los colocó en el alimento de algunos convictos sentenciados a muerte, con la identificación de tenias en el intestino de estos, propone que las tenias se desarrollaban a partir de los cisticercos. La enfermedad se refiere como parasitaria en 1698 cuando Malpighi descubre el escólex y la naturaleza animal de los cisticercos y Goeze reconoce su naturaleza helmíntica (Flisser et al., 1997; Camacho, 2005).

1.2 Situación actual

La neurocisticercosis (NC) es una enfermedad común en los países subdesarrollados de América, Asia y África, en donde se reporta como la principal causa de epilepsia en el mundo, representando un serio problema de salud pública e impacto económico. En nuestro país, se estimó una seroprevalencia global del 1.2% siendo las regiones centro-occidental y

sureste las mas afectadas. En pacientes hospitalarios se reporta de 2.8-3.6% como casos de autopsias y como la causa de muerte del 0.6-1.5%. Fleury y colaboradores encontraron en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía del D.F. que la NC es la causa del 9% de las admisiones hospitalarias, 50% de las convulsiones en pacientes adultos y del 10-13% de craneotomias. Las condiciones que se encuentran en poblaciones rurales donde los cerdos deambulan libremente y pueden tener acceso a heces humanas contaminadas con huevos de *T. solium*, aunado a los malos hábitos o a la falta de higiene personal, malas condiciones sanitarias, falta de agua, letrinas, contaminación de los alimentos y la venta clandestina de carne contaminada por el cisticerco de *T. solium* hacen que se favorezca la permanencia del ciclo y que no se tenga un dato preciso sobre la situación actual (Martínez, 1991; Larralde et al., 1992; Fleury et al., 2001; Carpio et al., 2002; Sciutto et al., 2003).

1.3 *Taenia solium*

La clasificación taxonómica de este parásito es la siguiente:

PHYLUM: Platyhelminthes

CLASE: Cestoda

ORDEN: Cyclophyllidea

FAMILIA: Taeniidae

GÉNERO: Taenia

ESPECIE: *Taenia solium* (*Cysticercus cellulosae*)

Anatómicamente, *T. solium* está conformada por una cabeza llamada escólex que posee cuatro ventosas y un rostelo con una doble corona de 22 a 32 ganchos, estos le ayudan a mantenerse anclada a la pared intestinal. Hacia la parte caudal se encuentra el cuello, formado por células germinales encargadas de producir proglótidos hermafroditas (estrobilización), que formarán el cuerpo, alcanzando una longitud de hasta 8 metros. Los proglótidos más cercanos a este sitio son los inmaduros, después se encuentran los maduros y en la parte final los grávidos que pueden llegar a contener de 60 000 hasta 100 000 huevos. Los portadores liberan al medio ambiente aproximadamente de 2 a 5 segmentos de 2 a 3 veces por semana (Flisser et al., 1997; Sarti et al., 1998; Cordero, 1999; Sciutto et al., 2003; Quiroz, 2005).

El cisticerco o metacestodo es una vesícula esferoide o alargada, de 0.5 a 2 cm de diámetro, llena de líquido con un embrión hexacanton en su interior que puede encontrarse en diferentes estados: cisticerco vesicular cuando el parásito es viable, el escólex invaginado mide de 4 a 5 mm y se encuentra dentro de una cápsula con fluido vesicular traslúcido; cisticerco coloidal cuando ocurre una degeneración hialina de la larva y el fluido vesicular pierde la transparencia; cisticerco granular, cuando comienza la necrosis y el escólex se observa como un gránulo mineralizado y cisticerco calcificado, cuando el tejido de granulación es remplazado por estructuras colagenosas y calcificadas.

1.4 Ciclo de vida

Al ser ingerido el cisticerco por el humano (huésped definitivo) y ponerse en contacto con enzimas proteolíticas y sales biliares, el escólex evagina fijando sus ventosas y ganchos a la pared intestinal a fin de que comience a crecer hasta convertirse en una tenia adulta con la capacidad de liberar proglótidos maduros (Figura 1). La teniasis causa desórdenes menores como anorexia, indigestión crónica y diarrea. Cuando los huevos llegan al suelo y son ingeridos por el cerdo (huésped intermediario) la oncósfera es activada por las sales biliares y enzimas proteolíticas, penetra a la pared intestinal y viaja por circulación sistémica hasta llegar a músculo esquelético y sistema nervioso central (SNC) principalmente, donde se transforma en metacestodo; generalmente no existen manifestaciones de la cisticercosis, ya que los cerdos son sacrificados antes de que se observen, pero de no ser así pueden presentar dificultad para respirar, marcha rígida y vacilante, trastornos en la prensión, masticación y deglución, parálisis lingual, además de afección a SNC. Si el agua o alimento están contaminados con huevos de *T. solium* y son ingeridos por el humano, la oncósfera migra a SNC, músculo esquelético, ojo y tejido subcutáneo principalmente, el establecimiento en SNC causa la NC, que es la forma más frecuente y severa en el humano (De Aluja et al., 1987; Flisser et al., a) 1989, b) 1997; Cordero, 1999; Sciutto et al., 2003; Imirizaldo et al., 2004; Mark et al., 2005).

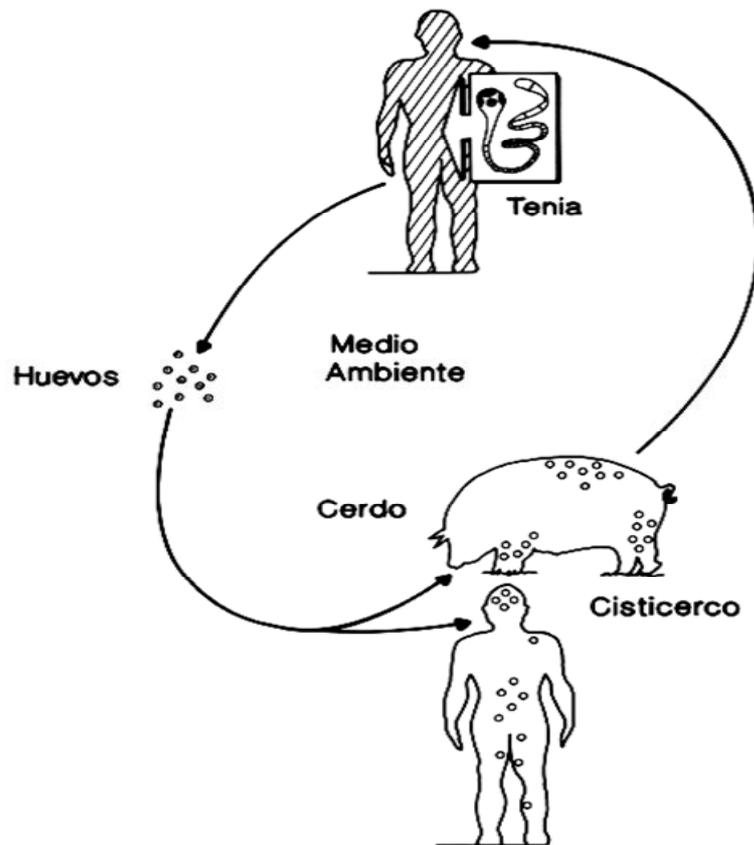


Figura 1. Ciclo de vida de *T. solium*

En el SNC el cisticercos se puede encontrar en las siguientes formas:

1) forma ramosa es poco frecuente, puede medir hasta 100mm de diámetro y se sitúa en el espacio subaracnoideo (SA) de las cisternas de la base y/o ventrículos, y 2) cisticercos celulosos de forma oval redondeada de tan solo 4-20mm, ubicado generalmente en parénquima y espacio SA de los surcos cerebrales.

Los parásitos vesiculares pueden en ocasiones ser muy bien tolerados y la sintomatología se manifiesta conforme va degenerando el parásito, fenómeno que se acompaña de una reacción inflamatoria. Las manifestaciones de la NC son diversas y los problemas clínicos dependen del estado del

parásito (vesicular /calcificado), la localización (ventricular o SA de la base /parenquimatosa o SA de los surcos) y el tipo de respuesta del hospedero.

Las formas más graves ocurren cuando el cisticerco se localiza en el espacio SA de la base o en los ventrículos en donde puede generar aracnoiditis, meningitis, vasculitis o hidrocefalia, como respuesta a una obstrucción del líquido cefalorraquídeo (LCR), compresión mecánica o inflamación. La localización en el parénquima, usualmente se asocia a una degeneración del parásito que se acompaña de una reacción inflamatoria frecuentemente localizada y con ausencia o escasa sintomatología (Corona et al., 1986; Carpio, 2002; Singhi et al., 2004; Imirizaldo et al., 2004).

1.5 Diagnóstico

Por su gran heterogeneidad en la sintomatología y respuesta inmunológica, el diagnóstico de la NC no es fácil; por ello, Del Brutto y colaboradores proponen incluir 4 criterios para el diagnóstico, que comprenden: 1) la historia clínica, 2) estudios radiológicos, 3) estudios inmunológicos y 4) datos epidemiológicos (Del Brutto et al., 2001).

1.5.1 Estudios radiológicos

Los métodos de diagnóstico utilizados en medio hospitalario son la resonancia magnética nuclear (RMN) y tomografía axial computarizada (TAC), las cuales presentan una sensibilidad (Sen) superior al 90%, permiten registrar la evolución del parásito y su respuesta al tratamiento. La TAC es la técnica de primera elección en pacientes sospechosos a NC, tiene las ventajas de ser seguro, preciso y no invasivo con un grado de certeza del 97%, de gran utilidad

en el diagnóstico sobre todo de la NC parenquimatosa, permitiendo identificar el número y localización de la lesión; además detecta con mayor precisión las calcificaciones. Como estudio complementario se recomienda la RMN, técnica invasiva, que permite detectar quistes subcorticales y subaracnoideos de la fosa posterior, es superior en Sen que la TAC en intraventriculares y subaracnoidea, muestra el contenido líquido cuando el parásito aun esta vivo y ayuda a identificar regiones con edema asociadas a la parasitosis. Sin embargo, estos procedimientos son costosos e inaccesibles en áreas endémicas (Flisser et al., 1989; San Esteban et al., 1997; Fleury et al., 2003; Camacho, 2006).

1.5.2 Estudios inmunológicos

Respecto a los métodos serológicos, su desarrollo y perfeccionamiento han contribuido al conocimiento de la NC. Los ensayos más utilizados son EITB (enzyme-linked immunoelectrotransfer blot), que emplea una fracción enriquecida de glicoproteínas purificadas de un extracto crudo del cisticerco, por ello no presenta reacción cruzada, reportando un 98% de Sen en suero y 95% en LCR, además de una especificidad (Esp) del 100%; sin embargo es una prueba costosa y compleja que requiere de equipo especial. ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) tiene como características el ser rápida y económica, por ello es utilizada como prueba rutinaria para confirmar el diagnóstico, detectando anticuerpos y antígenos circulantes del parásito, que nos permite identificar la existencia de una exposición previa y/o la presencia de parásitos viables (Tsang V et al., 1989; Flisser et al., 1997; Fleury et al., 2003).

1.6 Tratamiento

Dependiendo del cuadro clínico del paciente, la viabilidad, localización del cisticerco y características anatomopatológicas existen diferentes tratamientos, con los cuales no siempre se controla la enfermedad, por eso se recurre a dar varios ciclos y/o intervenciones quirúrgicas. En el tratamiento sintomático está indicado el uso de cestícida (prazicuantel o albendazol, principalmente), antiepilépticos, analgésicos y corticosteroides. El tratamiento quirúrgico está enfocado a la exéresis del cisticerco o derivación de LCR, se emplea cuando el tratamiento cestícida no fue efectivo y/o cuando existe una obstrucción, compresión o hidrocefalia (De Aluja et al., 1987; Flisser et al., 1989; Sarti, 1997; Tibor, 1998; Imirizaldo et al., 2004; Canas et al., 2005).

2. ANTECEDENTES

Considerando la limitante que existe a estudios imagenológicos en comunidades rurales, resulta de gran importancia en empleo de estudios inmunológicos. Por esta razón técnicas de ELISA basadas en la detección de anticuerpos y antígeno pueden ser aplicadas para el diagnóstico de la NC. Diferentes estudios han reportado la presencia de anticuerpos específicos IgG principalmente, aunque también se pueden encontrar IgM, IgA, e IgE en pacientes con NC (Bueno et al., 2000; Machado et al., 2002; Odashima et al., 2002), estos anticuerpos permanecen por largo tiempo, aun después de la destrucción del parásito, por ello el encontrarlos nos indica una exposición previa al parásito y no necesariamente la infección activa, el inconveniente de su uso es la aparición de reacciones cruzadas con otros helmintos, debido al empleo de extractos de cisticercos de *T. solium* (escólex, membrana) y fluido vesicular. Diversos autores reportan diferencias de Sen y Esp dependiendo del tipo de muestra, estado y número del parásito. Corona T. (1986) encontró, en pacientes positivos a NC por TAC, una Sen del 80% en muestras de LCR y 75% en suero de aquellos pacientes que presentaban NC benigna (parásitos degenerados, alojados en el parénquima y con escasa reacción inflamatoria) y 93% en ambas muestras, en aquellos que cursaban con cisticercosis maligna (parásitos vesiculares, localizados en los ventrículos y con gran reacción inflamatoria); con alto grado de Esp (100% en LCR y 90% en suero). Por su parte Fleury (2001) reportó que la Sen aumenta con la presencia del parásito vivo (71% en suero y 79% en LCR), mientras que cuando no se toma en cuenta el estado del parásito disminuye (54% en suero y 73% LCR), la Esp no cambió con respecto a la forma pero sí con la muestra, siendo de 91% en

suero y 100% en LCR. Proaño (2002) descubrió que el número de cisticercos influye en la Sen de la prueba; así en infecciones múltiples la Sen es superior (51.6% en suero y 78.1% en LCR) que si se presenta en forma única (36.7% en suero y 63.3% en LCR), pero se reduce cuando el parásito está calcificado (33.3% en LCR).

Harrison y colaboradores en 1989 encontraron cuatro anticuerpos monoclonales (IgM) que denominaron mAbs HP7, HP8, HP9 y HP10; los cuales fueron capaces de detectar determinantes antigénicos presentes en la mayoría de las glicoproteínas de superficie y de los componentes de la secreción-excreción del metabolismo del metacestodo viable de *T. saginata*, interesantemente HP8, HP9 y HP10 presentaron reacción cruzada con *T. solium*, por su gran sensibilidad y estabilidad, HP10 se consideró como el mejor para su desarrollo. Existen diversos autores que mencionan el uso de HP10 en LCR; Correa y colaboradores (1989) encontraron una Sen del 72%, en pacientes con NC, pero fue hasta el año 2003 cuando Fleury y colaboradores trabajando con pacientes compatibles a NC por TAC y RMN, le dan la importancia al estado y número de parásitos así como a la inflamación del LCR, encontrando una Esp del 98% con 100% de Sen, cuando los pacientes cursaban con NC activa mientras que 0% cuando era inactiva; también observan que la Sen aumenta, de 33% en LCR no inflamado a 94% en inflamado y de 33% en cisticercosis única a 85% en cisticercosis múltiple; por su parte Bobes (2006) le da trascendencia a la localización del parásito en el SNC, obtiene 87.5% de Sen cuando los parásitos se encuentran en el espacio SA de la base o ventrículo, con un 96% de Esp en pacientes

compatibles a NC. Del uso de muestras de suero se conoce poco, García y colaboradores (2000) reportan una Sen de 85% en pacientes con cisticercos viables y observan que disminuye a 65% cuando los pacientes presentan en estudios de TAC un cisticerco viable.

Por tal motivo resulta de interés conocer sí aquellas características que afectan a la sensibilidad en LCR puedan presentarse en suero, pero con la gran ventaja de que la toma de muestra de suero resulta ser mas sencilla que la del LCR y con esto se aprovecharía el potencial de los inmunoensayos como herramienta para la identificación de posibles casos de NC.

3. HIPÓTESIS

La detección de anticuerpos anti-cisticerco y del antígeno de secreción HP10 en suero, apoya el diagnóstico de la neurocisticercosis con alta sensibilidad y especificidad.

4. OBJETIVO

4.1 General

Evaluar los ensayos de ELISA para la detección de anticuerpos anti-cisticerco y la detección del antígeno de secreción HP10 en muestras pareadas de líquido cefalorraquídeo y suero, para el diagnóstico de neurocisticercosis.

4.2 Particulares

4.2.1 Describir las características de los pacientes incluidos en el estudio según sus expedientes clínicos.

4.2.2 Evaluar el ensayo de ELISA para la detección de anticuerpos anti-cisticerco de *T. solium* en muestras de líquido cefalorraquídeo y suero.

4.2.3 Evaluar el ensayo de ELISA para la detección de antígeno de secreción HP10 de *T. solium* en muestras de líquido cefalorraquídeo y suero.

4.2.4 Correlacionar los resultados obtenidos con la información de los expedientes clínicos.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Muestra

Se realizó un estudio retrospectivo de un conjunto de 58 pacientes que acudieron durante los años 2003 al 2005 a consulta externa en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez" (INNN, D.F.); en donde se colectaron muestras pareadas de suero y líquido cefalorraquídeo de todos los individuos incluidos en el estudio. Analizando sus expedientes clínicos y estudios radiológicos de Tomografía Axial Computarizada y/o Resonancia Magnética Nuclear; de los 58 individuos incluidos y de acuerdo al criterio de diagnóstico del INNN, 48 pacientes resultaron compatibles con NC, en 5 se descartó neurocisticercosis y se incluyeron como controles no-neurocisticercosos y en 5 no se pudo establecer con certeza el diagnóstico con base en los estudios radiológicos y clínicos.

5.2 Ensayo de ELISA

Se estandarizaron pruebas de ELISA para detectar anticuerpos anti-cisticerco y antígeno de secreción HP10 en muestras de humano. Todas las muestras se colocaron por duplicado en placas de 96 pozos, con controles positivo, negativo y blanco en cada placa utilizada en el estudio.

El valor de corte para cada ensayo fue determinado con base en los resultados obtenidos del grupo control negativo, empleando la media de este grupo más dos desviaciones estándar. Las muestras mayores al valor de corte se consideraron positivas: 0.05 en LCR y 0.08 en suero para la detección de anticuerpos anti-cisticerco y 0.00 en LCR y 0.07 en suero para la detección del antígeno HP10.

5.2.1 Detección de anticuerpos anti-cisticerco

Se sensibilizó la placa con 100 µl/pozo de fluido vesicular de *T. solium* (1µg/pozo) en buffer CO₃ pH 9.5, se incubó toda la noche a 4°C y se lavó con 4 ciclos de PBS- Tween 0.3%. Se adicionó 100 µl/pozo de la muestra diluida 1:10 (LCR) y 1:500 (suero) en PBS 1x BSA 1% Tween 0.3%, se incubó por 30min. a 37°C. Posteriormente, se lavó y adicionó el conjugado α IgG humana fosfatasa alcalina en PBS 1x BSA 1% Tween 0.3% en una dilución 1:4000 y se incubó durante 30 min. a 37°C. Se lavó y adicionó 100 µl/pozo de substrato Paranitrofenilfosfato (1ng/ml) en buffer de dietanolamina y se incubó durante 40min a 4°C. La reacción se detuvo con 100 µl /pozo NaOH 2M, a 4°C y se determinó la densidad óptica (D.O.) a 405nm. en un lector de placas para ELISA (Versa max aunable. Molecular Devices).

5.2.2 Detección del antígeno de secreción HP10

Las placas fueron sensibilizadas con 100 µl/pozo de mAb HP10 (1µg /pozo) en buffer de boratos pH 8.2, durante toda la noche a 4°C. Posteriormente se bloqueó con 100 µl/pozo de PBS 1x BSA 1% Tween 0.05% durante una hora a temperatura ambiente. Las placas fueron lavadas durante 4 ciclos con 200 µl/pozo de NaCl 0.9%-Tween 0.05%. Se adicionó 100 µl/pozo de la muestra sin diluir y se incubó durante 30 minutos a 37°C. Posteriormente se lavó y se adicionó el homologo biotinilado mAb HP10 en PBS 1x BSA 1% Tween 0.05% a una dilución 1:1000 y se incubo durante 30 min. a 37°C. Después del lavado se adicionó el conjugado de estreptoavidina-peroxidasa (Zymed Laboratories Inc.) en PBS 1x BSA 1% Tween 0.05% a una dilución 1:6000, se incubó durante 30min a 37°C, posterior al lavado, la placa fue

revelada con 100 μ l/pozo de sustrato Tetramethylbenzidine (TMB) (Zymed Laboratories Inc.). La reacción se detuvo transcurridos 10 min. con 100 μ l /pozo de H₂SO₄ al 0.2M a una temperatura de 4°C y se determinó la D.O. a 450nm, usando un lector de placas para ELISA (Versa max aunable. Molecular devices).

5.3 Análisis estadístico

Los datos fueron procesados en Excel (Microsoft) y analizados en SPSS 10.0 para windows utilizando las pruebas X^2 para estado y localización del parásito así como medio de procedencia y sexo de los pacientes y T-student para edad y celularidad; se consideró como diferencia estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. La Sen, Esp, el valor predictivo positivo (Vp^+) y el valor predictivo negativo (Vp^-) fueron determinadas de acuerdo al siguiente esquema (Sánchez-Vizcaíno et al., 1987; Kahl-Martin, 1990):

Diagnóstico por el ensayo de ELISA	Diagnóstico por historia clínica y radiológica	
	Positivos	Negativos
Positivos	A	B
Negativos	C	D

A: Verdaderos positivos

B: Falsos positivos

C: Falsos negativos

D: Verdaderos negativos

Donde:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{A}{A+C}$$

$$\text{Valor predictivo positivo} = \frac{A}{A+B}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{D}{B+D}$$

$$\text{Valor predictivo negativo} = \frac{D}{C+D}$$

6. RESULTADOS

6.1 Descripción de los pacientes con base en el expediente

6.1.1 Sexo y edad

43% de los pacientes fueron del sexo femenino y 57% del masculino. Los individuos incluidos en este estudio tuvieron un rango de 18 a 60 años de edad con una media de 36.5 ± 12.7 para el sexo femenino y 39.2 ± 12.8 para el masculino. El 40% presentó una edad menor a 30 años, 38% entre los 31 y 50 años y 22% mayor a 50 años.

6.1.2 Escolaridad y ocupación

En 36 pacientes registraron datos escolares. El 3% no fue a la escuela, 43% realizaron estudios de primaria, 35% de secundaria, 11% de bachillerato, 6% universitarios y 3% de posgrado. La actividad que desempeñaban en el momento del estudio era: 5% estudiantes, 6% profesionistas (ingeniero y medico veterinario), 13% empleados, 33% con algún oficio (campesino, mariachi, costurera, carnicero, albañil y mesero) y 43% no tuvieron ocupación.

6.1.3 Procedencia

La procedencia de los pacientes se distribuyó de la siguiente manera:

Distrito Federal	32%
Estado de México	37%
Hidalgo, Puebla, Morelos y Tlaxcala	16%
Guerrero, Guanajuato y Oaxaca	16%

6.1.4 Enfermedades

En la historia clínica ningún paciente presentó cáncer, VIH, tuberculosis, infecciones del SNC, familiares psiquiátricos y fueron negativos a teniasis por estudios caproparasitológicos. En 18 pacientes se reportó 11% alergias, 6% parálisis facial, 33% diabetes mellitus, 11% dislipidemias, 11% hipotiroidismo, 6% enfermedades articulares, 6% gastritis, 11% hipertensión arterial, solo uno de los pacientes (6%) se determinó la presencia de un pariente cercano (madre) con diagnóstico de NC (calcificaciones en el espacio subaracnoideo de los surcos cerebrales).

6.2 Descripción radiológica e inflamatoria del líquido cefalorraquídeo

De acuerdo con lo reportado por el INNN, en la TAC y RMN se presentaron 20 casos con parásitos en un solo estado (13% vesicular, 4% coloidal y 21% calcificado), mientras que en 17 pacientes el parásito se encontró en diferentes estados (2% vesicular y coloidal, 28% vesicular y calcificado y 4% vesicular, coloidal y calcificado) y en 15 pacientes no se encontró ninguna lesión. Los cisticercos vesiculares se encontraron múltiples en todos los casos (25), predominando en el espacio SA de la base 56%, por su parte los coloidales (5) se encontraban tanto en forma única (2), localizados en el ventrículo 20%, como en forma múltiple, localizados en SA de la base 20% y SA de los surcos 20%. Los cisticercos calcificados (28) se encontraron únicos en un 25%, múltiples en un 71% y en ningún caso se pudo determinar su localización (Cuadro 1).

Cuadro 1

ESTADOS DEL PARÁSITO POR MEDIO DE TAC Y RM

ESTADO	LOCALIZACIÓN	CANTIDAD (%)		
		Único	Múltiples	Indefinido
Vesicular (n=25)	1			1/7 (4)
	2		1/18 (4)	
	3		14/18 (56)	3/7 (12)
	4			3/7 (12)
	5		1/18 (4)	
	6		2/18 (8)	
Coloidal (n=5)	2		1/3 (20)	
	3		1/3 (20)	
	4	1/2 (20)		
	6	1/2 (20)	1/3 (20)	
Calcificado (n=28)	6	7/28 (25)	20/28 (71)	1/28 (4)

1, parénquima; 2, espacio subaracnoideo de los surcos; 3, espacio subaracnoideo de la base; 4, ventrículo; 5, fisura silviana; 6, indeterminado.

Por otra parte en 32 pacientes se observó que el 56.3% presentaron ventriculomegalia o hidrocefalia, el 37.5% aracnoiditis y el 6.3% ependimitis.

Al analizar el líquido cefalorraquídeo se observó que solo en el grupo de pacientes con NC presentaron hiperproteinemia (133 ± 301.6), aumento de células (28.3 ± 55.9) e hipoglucemia (48.2 ± 19.4); en ambos grupos se encontró, eosinofilia, neutrofilia y linfocitosis que normalmente no se reportan en LCR de pacientes sanos (Cuadro 2).

Cuadro 2

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

PARÁMETROS	MEDIA \pm D.S. (RANGO)				NIVEL NORMAL
	NC		CONTROL		
Proteínas	133 \pm 301.6	(18-2037)	38.2 \pm 22.1	(18-76)	\leq 40mg/dl
Células	28.3 \pm 55.9	(0-280)	6.8 \pm 6.8	(0-16)	0-5/mm ³
Linfocitos	90.8 \pm 20.6	(0-100)	76 \pm 42.9	(0-100)	
Neutrofilos	4.0 \pm 3.	(0-143)	3.6 \pm 5.8	(0-14)	
Eosinófilos	0.6 \pm 1.0	(0-5)	0.6 \pm 1.15	(0-2)	
Glucosa	48.2 \pm 19.4	(2-102)	57.2 \pm 10	(46-72)	60-80 mg/dl

NC, pacientes con neurocisticercosis.

6.3 Determinación de la capacidad diagnóstica del ensayo de ELISA para la detección de antígeno y anticuerpos

Como se observa en el cuadro 3, la detección de antígeno fue mayor en muestras de LCR, presentando variaciones dependiendo del estado del parásito y su localización, obteniendo una sen del 88.2% en LCR y 82.3% en suero cuando el parásito presenta la forma vesicular, pero no se encontraron niveles cuando el cisticerco sufrió algún daño (cisticerco degenerado y/o calcificado). En la localización ventricular cuando existe una NC vesicular, el 100% de las personas en LCR y 92.3% en suero resultaron positivas al antígeno HP10, sin embargo para la localización del parénquima no se encontraron personas positivas. Al detectar los niveles de anticuerpos, se obtuvo 100% de sensibilidad en ambas muestras en la forma vesicular, así como en las diferentes localizaciones; contrario a lo encontrado en HP10, para la detección de anticuerpos en las formas degenerada y/o calcificada, sí se detectaron anticuerpos en ambas muestras (53.8% en LCR y 61.5% en suero).

La especificidad fue del 100% en ambas muestras, al determinar los niveles de antígeno HP10, mientras que para la detección de anticuerpos fue superior en LCR (100%) que en suero (83%).

En lo referente a la capacidad de la prueba tanto para detectar a los enfermos del total de positivos (VP^+) así como a los sanos dentro de los negativos (VP^-), la prueba alcanzó 100% del VP^+ al detectar antígeno HP10 en ambas muestras cuando existió una NC vesicular así como una localización ventricular, esta capacidad se observó influenciada con el tipo de muestra al

medir anticuerpos, siendo del 100% en LCR e inferior al 94.4% en suero. En lo referente al VP⁻ la prueba de ELISA se observaron variaciones dependiendo de la muestra, tipo de NC y localización del parásito al detectar antígenos, pero fue del 100% al detectar anticuerpos en ambas muestras con excepción de la NC degenerada y/o calcificada que presentó 44.4%.

Cuadro 3

Determinación de la capacidad diagnóstica de la detección de anticuerpos anti-cisticerco y antígeno de secreción HP10

	SENSIBILIDAD (%)				Vp ⁺ (%)				Vp ⁻ (%)			
	LCR		SUERO		LCR		SUERO		LCR		SUERO	
	Ag	Ac	Ag	Ac	Ag	Ac	Ag	Ac	Ag	Ac	Ag	Ac
NC vesicular	88.2	100	82.3	100	100	100	100	94.4	71.4	100	62.5	100
Ventrículo/ SA base	100	100	92.3	100	100	100	100	92.8	100	100	83.3	100
Parénquima/ SA surco	0	100	0	100	0	100	0	66.6	71.4	100	71.4	100
NC calcificada y/o degenerada	0	53.8	0	61.5	0	100	0	88.8	27.7	45.4	27.7	44.4

Vp⁺, valor predictivo positivo; Vp⁻, valor predictivo negativo; Ag, antígeno; Ac, anticuerpos; NC, neurocisticercosis; SA, subaracnoideo.

6.4 Relación entre los niveles de antígeno y anticuerpos de pacientes con diagnóstico de neurocisticercosis con:

6.4.1 Localización del parásito

Se detectaron niveles mayores de antígeno HP10 positivos cuando el parásito se localizó en los ventrículos o en el espacio SA de las cisternas de la base 88% en LCR (P=0.005) y 80% en suero (P=0.02), pero no cuando el parásito estaba alojado en el parénquima. Mientras tanto no se encontraron diferencias significativas (P=0.71) en ambas muestras al medir los niveles de anticuerpos específicos en las distintas localizaciones del parásito (Cuadro 4).

Cuadro 4

LOCALIZACIÓN DEL PARÁSITO DE PACIENTES CON NEUROCISTICERCOSIS EN RELACIÓN AL NIVEL DE ANTÍGENO Y ANTICUERPOS

MUESTRA	ELISA	LOCALIZACIÓN	POSITIVO	NEGATIVO	P
Líquido cefalorraquídeo	Ag	1	0	2	0.005
		2	14	2	
	Ac	1	2	0	0.71
		2	15	1	
Suero	Ag	1	0	2	0.02
		2	12	3	
	Ac	1	2	0	0.71
		2	14	1	

Ag, antígeno; Ac, anticuerpo; 1, Parénquima o espacio subaracnoideo de los surcos cerebrales; 2, Ventrículos o espacio subaracnoideo de las cisternas de la base.

6.4.2 Estado del parásito

Al buscar si la etapa del parásito se relacionaba con la positividad del antígeno se encontró que en el estado vesicular las muestras de LCR y suero fueron positivas 67% (P=0.002) y 60% (P=0.004) respectivamente, ninguna muestra presentó antígeno cuando el parásito se encontraba calcificado. No se observaron diferencias significativas, independientemente del estado del parásito cuando se detectaron niveles de anticuerpos tanto en LCR como en suero (Cuadro 5).

Cuadro 5

**ESTADO DEL PARÁSITO DE PACIENTES CON
NEUROCYSTICERCOSIS EN RELACIÓN AL NIVEL DE
ANTÍGENO Y ANTICUERPOS**

MUESTRA	ELISA	ESTADO	POSITIVO	NEGATIVO	P
Líquido cefalorraquídeo	Ag	1	4	2	0.002
		2	0	11	
	Ac	1	5	1	0.13
		2	5	6	
Suero	Ag	1	3	2	0.004
		2	0	11	
	Ac	1	5	1	0.23
		2	6	5	

Ag, antígeno; Ac, anticuerpo; 1, vesicular; 2, calcificado.

6.4.3 Celularidad en líquido cefalorraquídeo

Como se observa en el cuadro 6, la pleocitosis se asocio significativamente con la positividad del antígeno y de anticuerpos, detectando los niveles en ambas muestras (suero y LCR).

Cuadro 6

CELULARIDAD DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE PACIENTES CON NEUROCYSTICERCOSIS EN RELACIÓN AL NIVEL DE ANTÍGENO Y ANTICUERPOS

MUESTRA	ELISA		N	MEDIA ± D.S.	P
Líquido cefalorraquídeo	Ag	+	16	63.5 ± 85.0	0.02
		-	30	9.3 ± 5.6.	
	Ac	+	37	36.14 ± 61.7	0.001
		-	10	1.1 ± 1.4	
Suero	Ag	+	16	63.8 ± 85.3	0.02
		-	31	10.0 ± 15.5	
	Ac	+	36	36.7 ± 62.5	0.002
		-	11	1.3 ± 1.5	

Ag, antígeno; Ac, anticuerpos.

6.4.4 Procedencia

Como se observa en el cuadro 7, el 100% de pacientes procedentes de un medio rural presentaron anticuerpos tanto en suero como en LCR, mientras tanto solo en el 64% de aquellos de medio urbano se detectaron anticuerpos en LCR y en el 68% en suero. En contraste, solo en el 32% de los pacientes de medio urbano se detectaron niveles de antígenos tanto en suero como en LCR y en el 63% de medio rural se detectaron antígenos sin que se encontrara diferencia estadísticamente significativa.

Cuadro 7

**MEDIO DE PROCEDENCIA DE PACIENTES CON
NEUROCYSTICERCOSIS EN RELACIÓN AL NIVEL DE
ANTÍGENO Y ANTICUERPOS**

MUESTRA	ELISA	MEDIO	POSITIVO	NEGATIVO	P
Líquido cefalorraquídeo	Ag	1	8	17	0.12
		2	5	3	
	Ac	1	16	9	0.04
		2	8	0	
Suero	Ag	1	7	18	0.15
		2	4	3	
	Ac	1	17	8	0.06
		2	8	0	

Ag, antígeno; Ac, anticuerpos; 1, urbano; 2, rural.

6.4.5 Edad

Se observó que aquellos pacientes que fueron positivos a HP10 en ambas muestras tenían una edad de 47 ± 10 años ($P=0.001$). Las edades promedio de los pacientes con anticuerpos, no presentaron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 8).

Cuadro 8

**DISTRIBUCIÓN ETARIA DE PACIENTES CON
NEUROCYSTICERCOSIS EN RELACIÓN AL NIVEL DE
ANTÍGENO Y ANTICUERPOS**

MUESTRA	ELISA		N (46)	Edad (años) Media \pm D.S.	P
Líquido cefalorraquídeo	Ag	+	15	47 ± 10	0.001
		-	30	35 ± 11	
	Ac	+	36	40 ± 12	0.3
		-	10	35 ± 12	
Suero	Ag	+	15	47 ± 10	0.001
		-	31	35 ± 11	
	Ac	+	35	40 ± 12	0.24
		-	11	35 ± 11	

Ag, antígeno; Ac, anticuerpo.

6.4.6 Género

En lo que se refiere a género no se observaron diferencias significativas entre géneros en los niveles de anticuerpos ni de antígeno determinados. 46% de hombres y 24% de mujeres presentaron antígenos en LCR, comparado con el 42% de hombres y 20% de mujeres que lo presentaron en suero ($P=0.11$). Al detectar anticuerpos en ambas muestras se encontró que un 85% de hombres y 71% de mujeres los presentó ($P\geq 0.20$) (Cuadro 9).

Cuadro 9

GÉNERO DE LOS PACIENTES CON NEUROCISTICERCOSIS EN RELACIÓN AL NIVEL DE ANTÍGENO Y ANTICUERPOS

MUESTRA	ELISA	SEXO	POSITIVO	NEGATIVO	P
Líquido cefalorraquídeo	Ag	1	12	14	0.11
		2	5	16	
	Ac	1	22	4	0.27
		2	15	6	
Suero	Ag	1	11	15	0.11
		2	4	16	
	Ac	1	23	4	0.20
		2	14	6	

Ag, antígeno; Ac, anticuerpo; 1, masculino; 2, femenino.

7. DISCUSIÓN

El uso de estudios radiológicos como TAC y RMN para diagnosticar la NC, permite determinar el número, estado y localización del parásito, sin embargo resultan ser costosos e inaccesibles en áreas endémicas (Fleury et al., 2003).

Técnicas de inmunodiagnóstico se han desarrollado con el objetivo de determinar la presencia de antígeno y anticuerpos (Flisser et al., 1997; Fleury et al., 2003), siendo la prueba de ELISA el método más utilizado en donde se emplean extractos del cisticerco de *T. solium* y un anticuerpo monoclonal denominado mAb HP10, que han resultado ser unas herramientas adicionales para apoyar el diagnóstico y tratamiento de la NC (García et al., 2000; Fleury et al., a) 2001, b) 2003; Proaño et al., 2002; Dorny et al., 2003; Abraham et al., 2004; Bobes et al., 2006). En los últimos años se ha visto que el antígeno HP10 es indicativo de una infección activa, pero no los anticuerpos que pueden permanecer en las personas que han estado expuestas al parásito o han recibido algún tratamiento.

En este trabajo de tesis se establece por primera vez el uso de muestras de suero y se compara con los resultados obtenidos en LCR de pacientes neurológicos con diagnóstico confirmado de NC. Observamos al usar suero que la sensibilidad de la prueba es similar a la encontrada en LCR, pero que la especificidad es superior al detectar anticuerpos en muestras de LCR; como algunos autores lo mencionan, la presentación de la enfermedad modula la presencia de antígeno y anticuerpos, ya que en pacientes donde el parásito se presentaba en forma vesicular la sensibilidad del antígeno fue del 88.2% en LCR y 82.3% en suero, no así cuando el parásito había sufrido algún

daño (degenerado y/o calcificado) en donde esta sensibilidad como era de esperarse fue 0% debido a que no se pudo detectar ningún componente de la secreción/ excreción del parásito. También se observó que la localización ventricular/ SA base, como ya lo señalaba Bobes (2006) fue superior en sensibilidad (100%) que en Parénquima/ SA surcos en donde la sensibilidad fue de cero. Con relación a la detección de anticuerpos, sin importar en que forma se presentó el parásito ni su localización, se detectaron niveles en ambas muestras.

De acuerdo con los resultados encontramos una gran heterogeneidad en los niveles de antígeno HP10 así como anticuerpos detectados en los pacientes y descubrimos los siguientes factores asociados que podrían estar relacionados: la presencia del antígeno se asoció a la localización en los ventrículos o en el espacio SA de las cisternas de la base, además fue significativamente mayor en LCR que en suero. Este resultado señala que los antígenos que son secretados en el parénquima o espacio SA de los surcos cerebrales quizá no alcanzan la circulación y esto podría estar relacionado con la menor inflamación en el LCR de estos pacientes. No obstante la localización parece no tener mayor relevancia con la presencia de anticuerpos, posiblemente por que se generaron a partir del contacto con el parásito y no necesariamente están relacionados con su establecimiento en el SNC; estos datos concuerdan con lo descrito por Bobes y col. (2006) quienes encuentran que los altos niveles de HP10 se detectan los ventrículos o SA base con una Sen de 87.5%. Asimismo, los distintos estados del parásito están relacionados con la presencia del antígeno, el cual se detectó cuando el parásito es vesicular, pero no cuando está calcificado. También se encontró que la

presencia de anticuerpos no difiere entre los diferentes estados del parásito, indicando que los niveles de anticuerpos permanecen elevados en periodos prolongados aun después de estar calcificado el parásito (Fleury et al., 2006). Otro factor asociado es la celularidad del LCR cuando el parásito se encuentra vivo, en donde el número de células se duplicó al detectar antígenos, encontrándose una relación estadísticamente significativa.

La detección de antígenos resulta un procedimiento de alta Sen y Esp aplicado tanto en suero como en LCR para la detección de enfermos con NC por cisticercos vesiculares localizados en las cisternas de la base o en los ventrículos. En contraste la detección de anticuerpos, si bien presenta una alta Sen y Esp utilizada en ambos compartimentos (suero y LCR), no permite diferenciar la localización ni el estado de los parásitos. Sin embargo, la seropositividad de anticuerpos parece un factor de utilidad predictiva como marcador de contacto con el parásito como se había descrito previamente (Corona et al., 1986; Fleury et al., 2003).

En el intento por identificar aquellos factores adicionales a la localización y el estado del parásito que pudieran relacionarse con los diferentes niveles de antígeno y anticuerpos presentes en pacientes con NC, tanto en LCR como en suero, se relacionaron los resultados obtenidos en ambos ensayos y los diferentes factores que pudieran estar asociados, encontrándose que existe una mayor seropositividad de antígenos en suero y en LCR con la edad. Es factible que esta relación se deba a una mayor probabilidad de NC asociada a cisticercos vesiculares resultante de un posible desgaste inmunológico asociado al envejecimiento. Estas observaciones resultan compatibles con la mayor frecuencia de cisticercosis vesicular reportada en individuos mayores de

60 años (Fleury et al., 2004). Al respecto del género, a pesar que se ha reportado que las mujeres presentan mayor inflamación en el LCR, y este parámetro lo encontramos asociado a la seropositividad a antígenos y a anticuerpos, tanto en suero como en LCR, en este estudio no se encontraron diferencias significativas entre el sexo y la seropositividad para anticuerpos ni para antígenos en ambas muestras estudiadas. Otro aspecto de relevancia que resulta de interés a considerar son las diferencias encontradas en seropositividad relativas a la procedencia de los pacientes. Clasificando los pacientes como provenientes de medio rural o urbano de acuerdo a sus respectivos expedientes, encontramos que mientras el 100% de los individuos provenientes del medio rural presentaron anticuerpos solo se detectaron entre el 64 y 68% de los pacientes proveniente del medio urbano y en ambos casos en la mitad de ellos se detectaron antígenos en circulación tanto en suero como en LCR. La interpretación de estos resultados debe considerarse con precaución dado que representa solo aquellos individuos que presentaron sintomatología, pero resulta compatible con la hipótesis que aproximadamente la mitad de los individuos, tanto de medio rural como de medio urbano desarrollan la forma grave de la enfermedad, localizándose el parásito en los ventrículos o en el espacio SA de la base y manteniéndose en el estado vesicular. Estos datos generan también nuevos interrogantes como porque los individuos neurocisticercosos provenientes de medio urbano presentaron menos seropositividad de anticuerpos considerando que tienen el parásito presente en el SNC (Fleury et al., 2006).

8. CONCLUSIÓN

Se determinó la importancia de la NC y el interés de su diagnóstico utilizando diferentes estudios como la TAC y/o RMN, apoyados de estudios inmunológicos que son capaces de detectar una exposición previa del parásito o una infección actual.

La sensibilidad y especificidad de la técnica de ELISA para la detección del antígeno de secreción HP10 fue mayor en LCR que en suero y similar para la detección de anticuerpos en ambas muestras.

El antígeno de secreción HP10 detecta con alta sensibilidad casos de NC vesicular con parásitos alojados en los ventrículos o en el espacio SA de la base pero, no detecta casos de NC parenquimatosa y/o parásitos en vía de degeneración o calcificados.

La detección de anticuerpos no permite distinguir entre NC vesicular y calcificada ni la localización del parásito.

La detección del antígeno de secreción HP10 apoya al diagnóstico de enfermedades severas mientras que la detección de anticuerpos es un marcador de contacto.

9. REFERENCIAS

1. Abraham R, Pardini A, Vaz A, Livramento J, Ramos L. Taenia antigens detection in the cerebrospinal fluid of patients with neurocysticercosis and its relationship with clinical activity of the disease. Arq. Neuropsiquiatr. 2004; 63(3):756-760.
2. Bobes R, Hernández M, Márquez C, Fragoso G, García E, Parkhouse R, Harrison L, Sciutto E, Fleury A. Subarachnoidal and intraventricular human neurocysticercosis: application of an antigen detection assay for the diagnosis and follow-up. Tropical medicine and international health. 2006; 2(6):943-950.
3. Bueno E, Vaz A, Machado L, Livramento J. Neurocysticercosis detection of IgG, IgA and IgE antibodies in cerebrospinal fluid, serum and saliva samples by ELISA with *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* antigens. Arq. Neuropsiquiatr. 2000; 58(1):18-24.
4. Camacho D. Correlación clínico-imagenológico de neurocisticercosis en pacientes atendidos en el hospital Manuel Ávila Camacho del estado de Puebla en el periodo comprendido del 1 de enero del 2004 al 30 de diciembre del 2004 (tesis licenciatura). Puebla (Puebla) México: Facultad de Medicina. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 2006.
5. Canas N, Calado S, Vale J. Tratamiento de la neurocisticercosis racemosa medular. Revista de neurología. 2005; 4 (9):544-547.
6. Carpio A. Neurocysticercosis: an update. Lancet Infect Dis. 2002; 2(12): 751-62.

7. Cordero del Campillo M. Parasitología veterinaria. 1ª ed. España: Mc Graw-Hill interamericana 1999.
8. Corona T, Pascoe D, González- Barranco D, Abad P, Landa L, Estañol B. Anticysticercous antibodies in serum and cerebrospinal fluid in patients with cerebral cysticercosis. Journal of neurosurgery, and psychiatry. 1986; 49:1044-1049.
9. Correa D, Sandoval M, Harrison L, Parkhouse R, Plancarte A, Meza-Lucas A, Flisser A. Human neurocysticercosis comparison of enzyme immunoassay capture techniques based on monoclonal and polyclonal antibodies for the detection of parasite products in cerebrospinal fluid. Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene. 1989; 83:814-816.
10. De Aluja A.S, Escobar A, Escobedo F, Flisser A, Laclette J.P, Larralde C, Madrazo I, Velázquez K.W. Cisticercosis. Una recopilación actualizada de los conocimientos básicos para el manejo y control de la cisticercosis causada por *Taenia solium*. 1ª ed. México: Fondo de cultura económica 1987.
11. Del Brutto OH, Rajshekhar V, White AC Jr, Tsang VC, Nash TE, Takayanagui OM, Schantz PM, Evans CA, Flisser A, Correa D, Botero D, Allan JC, Sarti E, Gonzalez AE, Gilman RH, Garcia HH. Proposed diagnostic criteria for neurocysticercosis. Neurology. 2001; 57(2):177-83.
12. Dorny P, Brandt J, Zoli A, Geerts S. Immunodiagnostic tools for human and porcine cysticercosis. Acta tropica. 2003; 87:79-86.
13. Fleury A, Bouteille B, García E, Marquez C, Preux P, Escobedo F, Sotelo J, Dumas M. Neurocysticercosis: validity of ELISA after storage of

- whole blood and cerebrospinal fluid on paper. *Tropical Medicine and International Health*. 2001; 9(6):688-693.
14. Fleury A, Hernandez M, Fragoso G, Parkhouse RM, Harrison LJ, Sciutto E. Detection of secreted cysticercal antigen: a useful tool in the diagnosis of inflammatory neurocysticercosis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2003; 97(5):542-546.
 15. Fleury A, Dessein A, Preux PM, Dumas M, Tapia G, Larralde C, Sciutto E. Symptomatic human neurocysticercosis age, sex and exposure factors relating with disease heterogeneity. *J. Neurology*. 2004; 251(7):830-837.
 16. Fleury A, Morales J, Bobes R, Dumas M, Yáñez O, Piña J, Carrillo-Mezo R, Martínez J, Fragoso G, Dessein A, Larralde C, Sciutto E. An epidemiological study of familial neurocysticercosis in an endemic mexican community. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2006; 100:551-558.
 17. Fleury A, Hernandez M, Ávila M, Cardenas G, Bobes R, Fragoso G, Harrison L, Parkhouse R, Sciutto E. Neurocysticercosis: clinical usefulness of serum HP10 antigen for the diagnosis and follow-up of severe forms. En proceso.
 18. Flisser A, Malagón F. *Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México*. 1ª ed. México: Limusa 1989.
 19. Flisser A, Madrazo I, Delgado H. *Cisticercosis Humana*. México: Manual moderno 1997.
 20. Garcia H, Parkhouse R, Gilman R, Montenegro T, Bernal T, Martinez S, Gonzalez A, Tsang V, Harrison L. Serum antigen detection in the

- diagnosis, treatment, and follow-up of neurocysticercosis patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2000; 94(6):673-676.
21. Harrison L, Joshua G, Wright S, Parkhouse R. Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *Taenia saginata* cysticercosis. *Parasite immunology.* 1989; 11:351-370.
22. Imirizaldo L, Miranda L, García I, Gaston I, Urriza I, Quesada P. Neurocysticercosis. Una enfermedad emergente. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2004; 27(2):201-209.
23. Kahl-Martin C. *Fundamentos de epidemiología.* Madrid: Ediciones Díaz de Santos S.A. 1990.
24. Larralde C, Padilla A, Hernández M, Govezensky T, Sciutto E, Gutiérrez G, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Sepúlveda J. Seroepidemiología de la cisticercosis en México. *Salud Pública de México.* 1992; 34(2): 197-210.
25. Machado L, Livramento J, Vaz A, Bueno E, Mielli S, Bastouly V, Nóbrega J. *Arq. Neuropsiquiatr.* 2002; 60(2-B):395-399.
26. Mark W.H, Kiarash S, Kee D.K, Theis J.H. Neurocysticercosis: a review. *Surgical Neurology.* 2005; 63:123-132.
27. Martínez M. Dinámica de la transmisión de la teniosis/ cisticercosis (*T. solium*) en una comunidad rural del estado de Guerrero, México (tesis de doctorado) México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1991.
28. Odashima N, Takayanagui O, Figueiredo J. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of IgG, IgM, IgE and IgA against *Cysticercus cellulosae* in cerebrospinal fluid of patients with neurocysticercosis. *Arq. Neuropsiquiatr.* 2002; 60(2-B): 400-405.

29. Proaño J, Meza A, Mata O, García R, Correa D. Laboratory diagnosis of human neurocysticercosis: double-blind comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and electroimmunotransfer blot assay. *Journal of clinical microbiology* 2002; 40(6):2115-2118.
30. Quiroz H. *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. México: Limusa, 2005:335-363.
31. San Esteban J, Flisser A, González A. Neurocysticercosis en la infancia. Memorias del simposio internacional "Tanya Martínez Flisser"; 1997 abril 27-29; México (D.F.):133-153.
32. Sánchez-Vizcaíno J, Cambra M. *Técnicas inmunoenzimáticas ELISA en patología animal y vegetal*. 2ª ed. Francia: Office international des epizooties 1987.
33. Sarti E. *Estrategias de intervención para la prevención y control de la teniosis y cisticercosis en áreas rurales de México (tesis de doctorado)*. México, D.F México: Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México, 1998.
34. Sarti E. La teniosis y cisticercosis por *Taenia solium*. *Salud Pública de México*. 1997; 39 (3):1-12.
35. Sciutto E, Hernández M, García G, De Aluja A, Villalobos A, Rodarte L, Parkhouse M, Harrison L. Diagnosis of porcine cysticercosis: a comparative study of serological test for detection of circulating antibody and viable parasites. *Veterinary Parasitology*. 1998; 78:185-194.
36. Sciutto E, Fragoso G, Fleury A, Cavarria A, Vega R, Yáñez O, Carrillo M, Piña J, De Aluja S. A y Larralde C. *Taenia solium* cysticercosis of humans and pigs: A review of our contributions and perspectives in the

- research of its complexities. *Recent Res. Devel. Infection & Immunity*. 2003; 475-497.
37. Singhi P and Singhi S. Neurocysticercosis in children. Topical review. 2004; 19:482-492.
38. Tibor K. *Helmintología veterinaria*. España: Acribia 1998.
39. Tsang V, Brand J, Boyer A. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *The journal of infectious diseases*. 1989; 159(1):50-59.

ANEXO**Soluciones de ELISA para detectar- antígeno HP10**

Buffer de boratos 1x (BBS)

H ₃ BO ₃	6.18g
Na ₂ B ₄ O ₇	9.54g

Aforar a 1litro, con agua destilada. Ajustar con HCl si es necesario, para tener un pH de 8.2

Buffer de fosfatos 1x (PBS)

NaCl.....	10.11g
KCl.....	0.362g
KH ₂ PO ₄	0.362g
Na ₂ HPO ₄	1.449g

Aforar a 1litro, con agua destilada.

0.9% NaCl-Tween 20

NaCl.....	9.0g
Tween 20(sigma).....	0.5g

Aforar a 1litro, con agua destilada.

PBS1x Tween0.05% BSA1%

Albumina de suero bovino (BSA)...	10.0g
Tween 20.....	0.5g
PBS.....	1 litro

Soluciones de ELISA para detectar anticuerpos

Buffer de Carbonatos 2M

Na_2CO_3 1.68g/100ml

NaHCO_3 2.12g/100ml

Adicionar lentamente Na_2CO_3 hasta alcanzar el pH de 9.5

PBS 1x

Na_2HPO_4 2.004g

$\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ 0.772g

NaCl 14.800g

Aforar a 1litro, con agua destilada. Ajustar el pH a 7.2

PBS1x Tween0.3% BSA1%

Albumina de suero bovino..... 10.0g

Tween 20..... 6.0ml

PBS..... 1 litro

Amortiguador de dietanolamina al 10%

Dietanolamina..... 100ml

$\text{Cl}_2\text{Mg}_6\text{H}_2\text{O}$ 102mg

NaN_3 0.40g

Aforar a 1litro, con agua destilada . Ajustar el pH a 9.8 con HCl