



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA

IDENTIFICACIÓN DE ANTÍGENOS  
ESPECÍFICOS DE *Taenia solium* ADULTO  
UTILIZANDO EL MODELO DE TAENIASIS EN  
HÁMSTER (*Mesocricetus auratus*)

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

PRESENTA

**ALICIA OCHOA SÁNCHEZ**

DIRECTOR DE TESIS: DR. ABRAHAM LANDA PIEDRA

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE 2007



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Esta tesis, se realizó en la UNAM, en el Posgrado en Ciencias Biológicas.

Facultad de Medicina, Edificio "A" de Investigación, 2º piso. Departamento de Microbiología y Parasitología. Laboratorio de Biología Molecular de *Taenia solium*. Ciudad Universitaria, México, D.F. C.P. 04510

El trabajo fue apoyado por Asuntos del Personal Académico. Programa de apoyo a Proyectos de Investigación a Innovación Tecnológica (PAPIIT) con el contrato **IN218198** y el contrato **IN207507**.

Así mismo, se recibió apoyo del presupuesto otorgado por la Facultad de Medicina.

COMITÉ TUTORAL:

DR. JOSÉ LUIS MOLINARI SORIANO.

DR. GUILLERMO MENDOZA HERNÁNDEZ.

DR. ABRAHAM LANDA PIEDRA.

## ÍNDICE

	<i>página</i>
<b>RESUMEN</b>	1
<b>ABSTRAC</b>	2
<b>I.- INTRODUCCIÓN</b>	
1.- Generalidades	3
2.- Morfología del parásito.	5
3.- Epidemiología	7
3.1.- Cisticercosis	7
3.2.- Taeniosis	10
<b>II.- DIAGNÓSTICO</b>	12
4.- Diagnóstico cisticercosis	12
5.- Diagnóstico de taeniosis	16
<b>III.- HIPÓTESIS</b>	17
<b>IV.- OBJETIVOS</b>	17
<b>V.- JUSTIFICACIÓN</b>	18
<b>VI.- MATERIAL BIOLÓGICO Y MÉTODOS</b>	19
a) Diagrama de flujo	19
1.- Material biológico	20
2.- Determinación de viabilidad	20
3.- Producción de parásitos adultos <i>Taenia solium</i>	20
4.- Producción de antígenos de excreción/secreción	21
5.- Preparación de extractos crudos	21
6.- Producción de sueros hiperinmunes	22
7.- Electroforesis en PAGE-SDS	22
8.- Ensayos de Inmunolectrotransferencia	22
<b>VII.- RESULTADOS</b>	24
<b>VIII.- DISCUSIÓN</b>	35
<b>IX.- CONCLUSIONES</b>	40
<b>X.- BIBLIOGRAFÍA</b>	38

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<i>página</i>
<b>Figura 1.</b> Ciclo biológico de <i>Taenia solium</i>	4
<b>Figura 2A)</b> Micrografía electrónica de barrido de escólex <i>Taenia solium</i>	6
<b>2B)</b> Fotografía del Estróbilo de <i>Taenia solium</i> .	6
<b>2C)</b> Micrografía electrónica de barrido de un huevo de <i>Taenia solium</i>	6
<b>2D)</b> Fotografía de cisticercos de <i>Taenia solium</i>	6
<b>Figura 3.</b> Cisticercos de <i>Taenia solium</i> evaginados en RPMI + Bilis de cerdo	24
<b>Tabla I.</b> Recuperación de parásitos	25
<b>Figura 4.</b> Adultos de <i>Taenia solium</i> recuperados de hámsteres	26
<b>Tabla II.</b> Concentración de proteínas cuantificadas por Lowry	27
<b>Figura 5.</b> PAGE-SDS al 10%. Tinción coomassie y plata.	27
<b>Figura 6.</b> Ensayo IET de EC de <i>T. solium</i> Adulto	28
<b>Figura 7.</b> Ensayo IET de Ag. E/S de <i>T. solium</i> Adulto	30
<b>Figura 8.</b> Ensayo IET de EC de <i>T. solium</i> Larva	31
<b>Figura 9.</b> Ensayo IET de Ag de E/S <i>T. solium</i> Larva	31
<b>Figura 10.</b> Ensayo IET de Ag B (paramiosina) de <i>T. solium</i> purificado	32
<b>Figura 11.</b> Ensayo IET de EC de <i>T. saginata</i> y <i>T. taeniformis</i> Adulto	33
<b>Figura 12.</b> Ensayo IET de EC de <i>H. diminuta</i> y <i>A. lumbricoides</i> .	34

## RESUMEN

La taeniosis y la cisticercosis ocasionadas por *Taenia solium* son problemas de salud pública que prevalecen tanto en áreas urbanas como rurales, donde se asocian a las prácticas tradicionales de crianza de cerdos, malas condiciones sanitarias e higiénicas, ignorancia y pobreza. La manifestación más grave de la cisticercosis humana es el desarrollo del cisticerco en el sistema nervioso central (SNC), lo que frecuentemente causa discapacidad física y en ocasiones la muerte; se ha sugerido que la principal consecuencia de la taeniosis en salud es la desnutrición, aunque aun no se ha demostrado en forma concluyente como en otras parasitosis. El hombre desarrolla taeniosis intestinal por la ingestión de cisticercos inadecuadamente cocidos en la carne de cerdo y el portador puede permanecer infectado por varios años y frecuentemente no saben de su infección.

La relación hospedero-parásito es prácticamente desconocida en la taeniosis causada por *T. solium*, principalmente debido a que los humanos son los únicos hospederos definitivos del estadio adulto y al hecho de que la taeniosis es una enfermedad asintomática. Por lo tanto, la detección de humanos portadores del parásito adulto se ha convertido en un elemento clave para el desarrollo de estrategias de control de la enfermedad.

El objetivo del presente trabajo fue la identificación de antígenos específicos de *Taenia solium* adulto utilizando el modelo experimental de hámster (*Mesocricetus auratus*). Se trabajó con Extractos Crudos y Antígenos de Excreción-Secreción de cisticerco y Adulto. Los antígenos producidos fueron analizados en geles PAGE-SDS así como en ensayos de Inmunoelectrotransferencia (IET) contra sueros normales, sueros hiperinmunes y los sueros de los animales experimentalmente infectados con el parásito adulto. Los resultados nos mostraron la identificación de 4 proteínas altamente reconocidas por los sueros de hámster teniósico con pesos moleculares de: 72, 48, 36 y 24 kDa en porcentajes de 54, 52, 60 y 58% respectivamente. Los sueros experimentales no presentaron reacción con los antígenos del estadio larval de *T. solium* en las regiones de las proteínas mencionadas, por lo que podemos definir que son estadio específicas. Los sueros experimentales también fueron enfrentados con antígenos de otros parásitos intestinales así como con taenias relacionadas a *T. solium* con el fin de descartar reacciones cruzadas.

Se requieren de análisis adicionales para determinar si los antígenos detectados por los sueros de hámsteres teniósicos (bandas 72, 42, 36 y 24kDa) podrían ser candidatos para el diagnóstico de la taeniosis causada por *T. solium*.

Este es uno de los primeros estudios en proponer antígenos con uso potencial para diagnosticar la taeniosis causada por *T. solium*.

## ABSTRAC

The taeniosis and the cysticercosis caused by *Taenia solium* are problems of public health that prevail as much in urban areas as rural, where are associated to the traditional practices of raising of pigs, bad sanitary and hygienic conditions, ignorance and poverty. The most serious manifestation of the human cysticercosis is the development of the cysticercis in the central nervous system (SNC), which frequently cause physical incapacity and sometimes the death; it has been suggested main consequence of the taeniosis in health is the undernourishment, although it has not been demonstrated even in conclusive form like in other parasitic. The man develops intestinal taeniosis by the ingestion of inadequately cooked cysticercis in the pig meat and the carrier can remain infected by several years and frequently they do not know of its infection. The host-parasitic relation practically is not known in the taeniosis caused by *T. solium*, mainly because the humans are the only definitive host of the adult stage and to the fact that the taeniosis is a asintomática disease Therefore, the detection of carrying humans of the adult parasite has become a key element for the development of strategies of control of the disease.

The objective of the present work was the identification of specific antigens of *Taenia adult solium* using the experimental model of hamster (*Mesocricetus auratus*). One worked with Crude and Antigen Extracts of Excretory-Secretory of cysticercis and Adult. The produced antigens were analyzed in gels PAGE-SDS as well as in tests of Immunoelectrotransferencia (IET) against normal serums, hyperimmune serums and serums of the animals experimentally infected with the adult parasite. The results showed the identification to us of 4 proteins highly recognized by serums of hamster teniósico with molecular weights of: 72, 48, 36 and 24 kDa in percentage of 54, 52, 60 and 58% respectively. The experimental serums did not present/display reaction with the antigens of the larval stage of *T. solium* in the regions of mentioned proteins, reason why we can define that they are stage specific. The experimental serums also were faced antigens of other intestinal parasites as well as taenias related *T. solium* with the purpose of discarding crossed reactions.

They are required of additional analyses to determine if the antigens detected by teniósicos serums of hamsteres (bands 72, 42, 36 and 24kDa) could be candidates for the diagnosis of the taeniosis caused by *T. solium*. This he is one of the first studies in proposing antigens with potential use to diagnose the taeniosis caused by *T. solium*.

# INTRODUCCION

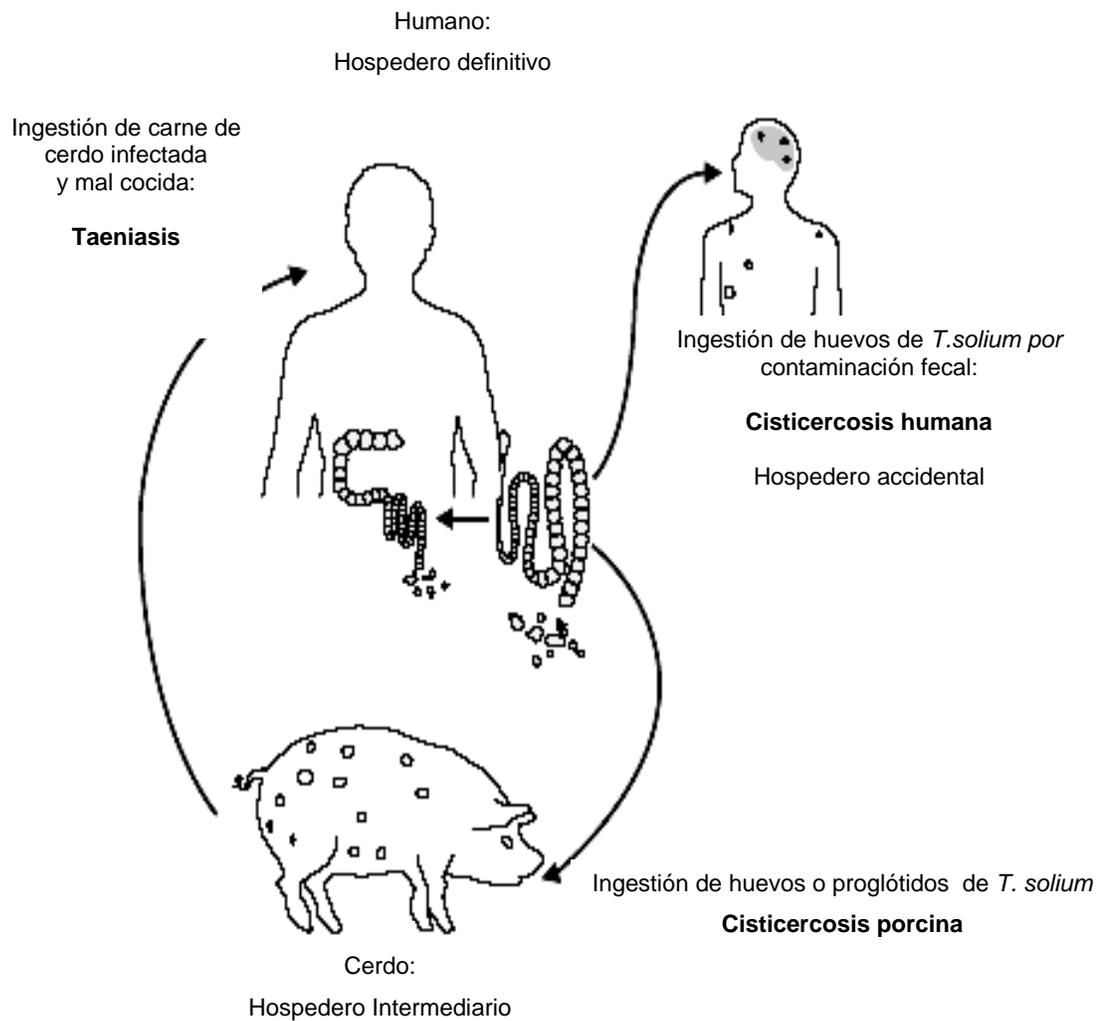
## 1.-Generalidades

La taeniosis y la cisticercosis son enfermedades causadas por dos diferentes estadios del céstodo *Taenia solium*, ambos son problemas de salud pública que prevalecen tanto en áreas urbanas como rurales, donde se asocian a las prácticas tradicionales de crianza de cerdos, malas condiciones sanitarias e higiénicas, desconocimiento del mecanismo de transmisión y la pobreza. *Taenia solium*, es un parásito del hombre y del cerdo, sus larvas (cisticercos) se desarrollan en sus tejidos produciéndoles la cisticercosis. En las personas, la infección ocurre por la ingestión de alimentos o agua contaminados con materia fecal humana que contiene huevos; esto se facilita por la convivencia cercana con un portador de *T. solium* (Sartí, E. *et.al.* 1988, 1989). En el hombre particularmente la enfermedad es grave cuando los cisticercos se sitúan en su tejido nervioso central y le ocasionan neurocisticercosis (NC) (Dixon, *et.al.* 1961, Rabiela, *et.al.*, 1979). En el cerdo con cisticercosis los problemas se presentan debido a que éste es el hospedero intermediario del parásito y es por lo tanto un eslabón para mantener su ciclo biológico; debido a que cuando la carne de cerdos infectados es consumida por el hombre, éste puede desarrollar la taeniosis (Acevedo-Hernández, 1982, Flisser, *et.al.* 1988, Tsang, *et.al.* 1995). El otro eslabón en el ciclo de vida de *T. solium* es el hombre, que desarrolla el estadio adulto en su intestino por comer carne de cerdo parasitada con cisticercos y mal cocida. Aproximadamente 4 meses después de la infección se desarrolla un gusano adulto que diariamente libera un promedio de 300,000 huevos de *T. solium* al medio ambiente. Los huevos del parásito que sean ingeridos por el cerdo u hombre desarrollarán la cisticercosis (Sartí, E. 1997). **(Fig. 1).**

El hombre puede permanecer infectado por el estadio adulto del parásito hasta por 25 años causándole sólo síntomas ligeros (Smith, 1994). Se sabe que soldados ingleses que adquirieron la cisticercosis en la India, presentaron síntomas neurológicos de 4.8 hasta 30 años después (Dixon, *et.al.*, 1961). Evolutivamente, esto refleja una gran adaptación tanto por el hospedero como por el parásito, donde éste último desarrolla mecanismos de evasión inmune para poder sobrevivir en hospederos inmunológicamente competentes.

La neurocisticercosis es una enfermedad común en regiones en vías de desarrollo como Asia, Africa y América Latina (Craig, *et.al.*1996; Simanjuntak, *et.al.* 1997) pero también es cada vez más frecuente en algunos países desarrollados; tan sólo en los Estados Unidos se

diagnostican más de 1000 nuevos casos al año (Schantz, *et.al.*, 1992; White, 1997) no obstante, es difícil establecer la verdadera morbilidad de este padecimiento ya que muchos casos pasan desapercibidos y son crónicos. Sólo el 50% de los casos de autopsias con cisticercosis cerebral del Hospital General de la ciudad de México, correlacionaron con algún síntoma clínico neurológico asociado con el parásito (Rabiela, *et.al.*, 1979).



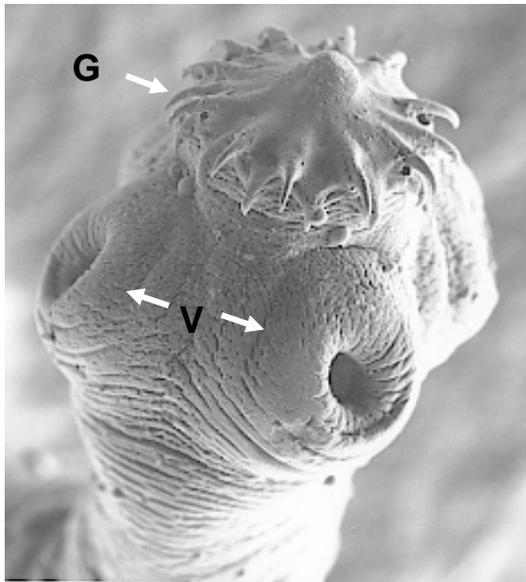
**Fig. 1. Ciclo biológico de *Taenia solium* (García, H. *et. al.*, 2003).**

## 2.-Morfología del parásito.

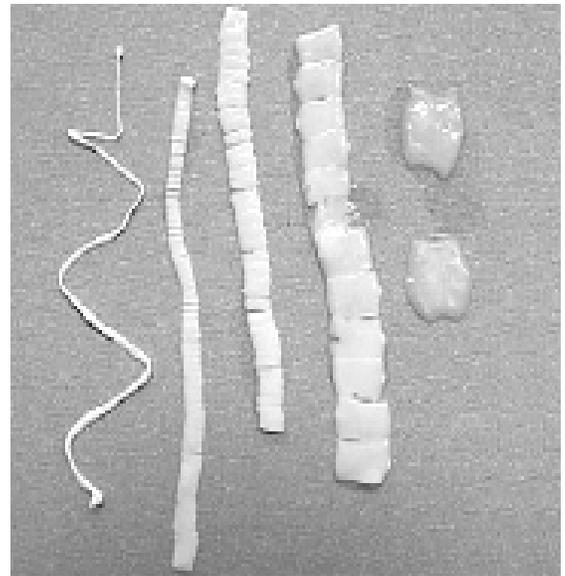
En el estadio adulto, *T. solium* es un gusano plano, formado por un escólex, un cuello y el estróbilo. El escólex está constituido por cuatro ventosas y un rostelo que posee una doble corona de ganchos, la corona interna esta compuesta de 11 a 14 ganchos largos (0.13-0.16 mm) y la externa de igual número pero con ganchos más pequeños de 0.1-2 mm (Yoshino, 1933) (**Fig. 2A**). El estróbilo mide de 2 a 7m de longitud y está dividido en segmento llamados proglótidos, estos se clasifican de acuerdo al grado de madurez así, los más cercanos al cuello son pequeños e inmaduros y todavía no tienen desarrollados los órganos sexuales; unidos a estos se encuentran los maduros, con órganos sexuales desarrollados y finalmente los grávidos, portadores de los huevos del parásito. (**Fig. 2B**)

Los huevos (**Fig. 2C**) poseen varias envolturas que posibilitan la sobrevivencia de la oncósfera en el medio; la envoltura más externa es el vitelo, la siguiente envoltura es el embrióforo, formado por pequeños bloques protéicos unidos entre si por un material cementante, esta envoltura además de ser la más importante en la protección de la oncósfera, les confiere su apariencia estriada característica. El embrióforo a su vez es producido por una envoltura celular más profunda llamada célula embrioforal. Finalmente, la membrana oncosferal que cubre a la oncósfera o embrión hexacanto, denominado así, ya que posee tres pares de ganchos.

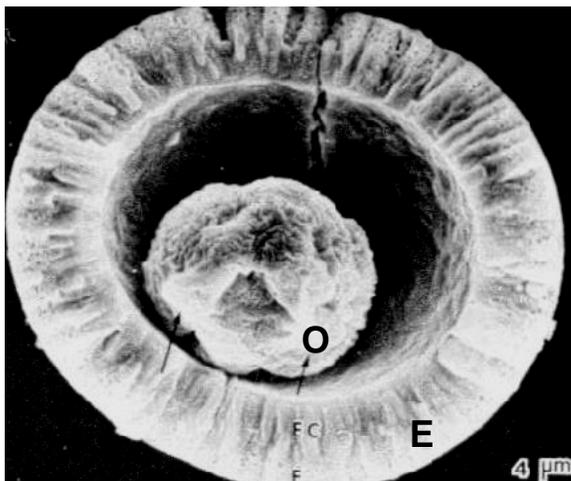
Por sus características hermafroditas cada proglótido cuenta con órganos sexuales tanto masculinos como femeninos; el aparato reproductor masculino está formado por numerosos testículos, conectados a través de túbulos finos a un espermoducto enrollado, que finaliza en una estructura muscular copulatoria llamada cirro. En el poro genital desembocan el espermoducto y la vagina, la cual recibe y conduce a los espermatozoides al receptáculo seminal, que a su vez se conecta con el oviducto. Hacia éste último son liberados los óvulos producidos por el ovario, que está formado por dos lóbulos grandes y uno pequeño, llevándose a cabo la autofertilización. Posteriormente, el huevo viaja a través de la apertura del conducto vitelino donde se recubre de células vitelinas y entra al ootipo que es una región bulbosa del oviducto que contiene glándulas, cuyas secreciones mucosas probablemente sirven como sustratos para el embrióforo (Craig, F., 1970; Smith, G.D. and Roberts, L.S.,1977). Los huevos se acumulan en el útero, donde maduran y se vuelven infectivos; cabe mencionar que el útero ocupa una región central dentro del proglótido y de él salen ramas, cuyo número es de 12 o menos para *T. solium* o más de 12 para *Taenia saginata* (Romero, 1993).



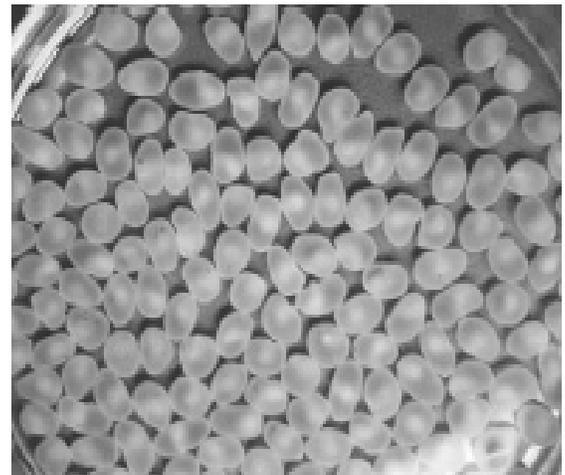
**A**



**B**



**C**



**D**

**Fig. 2. A:** Micrografía electrónica de barrido de escólex de *Taenia solium*, se puede apreciar la doble corona de ganchos (G) y un par de las 4 ventosas que posee (V) (Molinari, J.L. UNAM) **B.** Fotografía del estróbilo de *Taenia solium* en donde se muestran los proglótidos inmaduros, maduros y grávidos. (García, H.H, *et al.*, 2003). **C:** Micrografía electrónica de barrido de un huevo de *Taenia solium* donde se observa el embrióforo (E) y la oncósfera (O) (Laclette *et al.*, 1982). **D:** Fotografía de cisticercos de *Taenia solium* recién aislados de cerdo (García, H.H. *et.al.* 2003).

El cisticerco o forma larvaria del parásito, es una estructura esférica u ovalada con una envoltura formada por una delgada membrana blanca nacarada u opalescente denominada pared vesicular llena de líquido principalmente con porfirinas y albúmina sérica; el escólex es fácilmente observable como un gránulo excéntrico a través de la membrana translúcida (**Fig. 2D**).

En la neurocisticercosis, los cisticercos de *T. solium* alojados en el tejido del cerebro pueden presentar la morfología celulosa, racemosa o tener una forma intermedia entre ambos, el celuloso puede medir entre 0.5 a 2 cm y es semejante al encontrado en el cerdo, mientras que el racemoso es un parásito grande que puede llegar a medir más de 10 cm, su membrana es multilobulada y su escólex se encuentra degenerado o no existe (Rabiela, *et.al.*, 1989).

### **3. Epidemiología**

#### **3.1. Cisticercosis.**

Esta zoonosis está íntimamente relacionada con la poca o nula educación en salud, ya que los individuos afectados desconocen de que manera se lleva a cabo la transmisión de esta enfermedad, aunado a esto, las bajas condiciones de higiene como el no contar con letrinas o baños bien establecidos ni con agua corriente, así como la práctica de fecalismo al aire libre y el riego de hortalizas con aguas negras favorecen la adquisición de la enfermedad (Flisser, 1990; Sartí, 1997 b).

México es un país que continúa siendo endémico, así como en Sudamérica, Brasil (Vianna. *et.al.*, 1990), Colombia (Botero, 1986), Ecuador, Perú (Díaz, *et.al.*, 1992), y ciertos países de Europa del este (Díaz, 1962) como España (García-Albea, 1989) y Portugal (Monteiro, *et al.*, 1992). En algunos países donde la cisticercosis no era endémica, se han presentado números crecientes de casos, esto ocasionado por la migración de personas de los lugares donde la enfermedad es endémica, siendo considerada como una enfermedad emergente (Craig, *et.al.*, 1996; Schantz, *et.al.*, 1992; OPS, 1994; White, 1997). La mejor evidencia de este problema se ve en Estados Unidos, donde la cisticercosis es rara y frecuentemente diagnosticada en inmigrantes de América Latina, aunque recientemente se han diagnosticado casos autóctonos (Shandera, *et.al.*, 2002). En el Hospital General de Houston, más de 200 casos de neurocisticercosis se reportaron recientemente; 99% de estos fueron inmigrantes de América Latina y 16% tenían epilepsia. En otro hospital en USA 90% de los

casos fueron de gente de origen hispano y el 10% restante de gente nacida ahí pero que había viajado a América latina o había recibido visitantes de esta región (Shandera, *et.al.* 2002).

La prevalencia exacta de la cisticercosis es difícil de determinar debido a la inespecificidad de sus manifestaciones clínicas y a la falta de una prueba completamente confiable y segura, que pueda ser utilizada en estudios epidemiológicos a gran escala. Sin embargo, una gran variedad de técnicas se han aplicado para establecer la prevalencia de la enfermedad y se han descrito los siguientes rangos: Colombia (1.8-2.2%), Brasil (3-5.6%), México (1.3-10%), Perú (7.1-26.9%), Honduras (15.6-17%), Ecuador (2.6-14.3%), Guatemala (10-17%), Bolivia (22%), Venezuela (4-36.5%). Estos datos sugieren la exposición a *T. solium*, y no necesariamente indican una cisticercosis en curso. Para todos estos países la seroprevalencia promedio es del 10%. Utilizando tomografía computarizada (CT) y resonancia magnética (MRI) las tasas de neurocisticercosis humana muestran un rango de 1-22%, con un promedio de alrededor de 7% (Shantz, *et.al.*, 1994; Sánchez *et.al.*, 1999; Flisser, *et.al.* 2003). En América Latina, se estima que aproximadamente 400,000 casos de cisticercosis sintomática ocurren entre los 75 millones de habitantes de las zonas endémicas (Bern, *et.al.* 1999).

La cisticercosis humana puede llegar a ser una enfermedad grave, incapacitante y en ocasiones fatal. Aunque los cisticercos pueden ubicarse en cualquier tejido, se ha observado que existen ciertos lugares preferenciales como músculo esquelético, ojo y sistema nervioso central (SNC), siendo este último el de mayor importancia en salud. Los primeros estudios para conocer la frecuencia de neurocisticercosis se realizaron en hospitales y en series de necropsias. De los diferentes estudios *postmortem* efectuados, Ochotorena en 1935, realizó los primeros estudios histopatológicos de cisticercosis cerebral. Posteriormente en 1946, Costero encontró el 3.6% de cisticercosis en las necropsias realizadas durante 6 años en el Hospital General de México. Para 1966, en una revisión de 2,242 necropsias en el mismo hospital, la cisticercosis cerebral se encontró en el 1.6%, ocupando el noveno lugar como causa de muerte (Ochotorena, 1935; Costero, 1946). Todos los autores coinciden en la dificultad de establecer el diagnóstico debido a la gran variedad con que se presentan las manifestaciones clínicas y se señala que hasta 43.3% de los casos eran asintomáticos y 80% fueron hallazgo de autopsia (Briseño, *et.al.*, 1961; Rabiela, *et.al.*, 1979, Bern, *et.al.* 1999; Nash, *et.al.* 2004). La condición más comúnmente asociada con la neurocisticercosis es la epilepsia tardía; mostrando una asociación del 50% en áreas endémicas de *T. solium* (García, *et.al.* 1995, 2003b).

En América Latina es más frecuente encontrar cisticercosis en el SNC, mientras que en países asiáticos se localizan tanto en SNC como en músculo (Rabiela, *et.al.* 1982; Rabiela, *et.al.* 1989). Estadísticas oficiales actuales establecen que existe un promedio anual de 500 casos de cisticercosis, con una tasa nacional cruda de 0.6 por 100,000 habitantes, no existiendo diferencias en cuanto a sexo, y el grupo que aparece como el más afectado es el de 15 a 44 años de edad, personas económicamente productivas (Correa, *et al.*, 1994; Secretaria de Salud, 1996).

En México, la neurocisticercosis humana causa un gasto económico considerable en la atención de los pacientes (Velasco-Suárez, *et.al.*, 1982). Además, la enfermedad tiene importancia desde el punto de vista social y económico, debido a que el 75% de los individuos con neurocisticercosis se encuentran en edades productivas y están frecuentemente incapacitados para trabajar. Los costos para el cuidado médico tales como: hospitalización, quimioterapia, neurocirugía y tomografía axial computarizada, mostraron que durante 1986 se gastaron en México 14.5 millones de dólares para tratar solamente 2,700 casos nuevos de neurocisticercosis (Flisser, 1988).

La neurocisticercosis causada por *T. solium* es una enfermedad de salud pública emergente en el este y sur de África, especialmente en Kenya, Mozambique, Uganda, Zambia y Zimbabwe principalmente debida al incremento en la producción de cerdos en pequeñas granjas (Phiri, *et.al.* 2003). En algunas villas de Uganda más del 45% de los cerdos están infectados mientras que en otros países la tasa de cisticercosis en cerdos es de alrededor del 10%. Por décadas, se ha reportado una alta co-existencia de neurocisticercosis y epilepsia en Sudáfrica (Mafojane, *et.al.* 2003). En zonas rurales de África la epilepsia varía de 0.22 % en el Sur de África hasta el 5.8% en Camerún (Diop, *et.al.*, 2003) y se sospecha que una considerable cantidad de estos casos se deban a la neurocisticercosis (Pawlowski, *et.al.* 2005).

Puesto que la neurocisticercosis se caracteriza por su gran heterogeneidad su tratamiento debe ser individualizado tomando en cuenta la viabilidad, el número, la localización y el tamaño de los parásitos, la intensidad de la reacción inflamatoria asociada y el estado clínico del paciente (García *et al.* 2002; Riley y White, 2003). El tratamiento puede ser con antiparasitarios, sintomático o quirúrgico.

Dos fármacos son actualmente utilizados: el praziquantel que es una isoquinolina que fue utilizada por primera vez en 1979 y el albendazol, que es un imidazol utilizado por primera vez en 1987 (Robles y Chavarría, 1979; Escobedo *et al.*, 1987). Diversos estudios

demuestran que el praziquantel condiciona la desaparición del 60% a 70% de los cisticercos parenquimatosos luego de un curso de 15 días de tratamiento a dosis de 50 mg/kg/día (Sotelo, *et.al.*, 1984, Robles, *et.al.* 1987). El albendazol se maneja en dosis de 15 mg/kg/día durante 8 días. Destruye del 75% al 90% de los cisticercos parenquimatosos y ha probado ser superior al praziquantel en diversos estudios comparativos (Sotelo, *et.al.* 1988, Cruz , *et.al.* 1991). Existen formas de neurocisticercosis que no deben recibir tratamiento cestocida. Entre ellas se encuentra la encefalitis cisticercosa ya que el uso de dichas drogas puede exacerbar el edema cerebral que acompaña esta forma de la enfermedad y condicionar aumento en la presión intracraneal (Noboa, 1992; Rangel, R, *et.al.* 1987).

Las drogas antiepilépticas son utilizadas en un gran número de enfermos con neurocisticercosis. En pacientes con epilepsia secundaria debida a calcificaciones, la administración de una droga antiepiléptica de primera línea (carbamazepina, fenitoína o fenobarbital) usualmente produce un control adecuado de las crisis. Sin embargo, los pacientes con quistes viables deben recibir primero un curso de tratamiento con drogas cestocidas para lograr un control posterior de crisis con drogas antiepilépticas (Del Bruto, *et.al.* 1992, Vásquez, *et.al.* 1992, Medina, *et.al.* 1993). La extirpación de los cisticercos en las localizaciones cutánea y ocular, está indicado junto con el tratamiento médico.

Por otro lado, la cisticercosis en cerdos causa considerables pérdidas económicas, por ejemplo en el año de 1980 la cisticercosis porcina produjo pérdidas de más de 43 millones de dólares por decomisos de cerdos en los rastros, lo que representó el equivalente al 68.5% del total de la inversión en la producción de cerdos (Acevedo, 1989). La prevalencia de la cisticercosis porcina usualmente es establecida, *in vivo*, por inspección de la lengua o post-mortem por inspección del tejido o por análisis inmunológico; ésta varía de menos del 2% a más del 75% con un promedio del 17%, rangos altos han sido reportados en Guatemala, Honduras, México y en villas peruanas (Sartí, *et.al.* 1992, García-Noval, *et.al.* 1996; García, *et.al.* 2003a, González, *et.al.* 2003).

### **3.2. Taeniosis**

La taeniosis es importante desde el punto de vista de salud pública, debido a que los huevos del estadio adulto que liberan los portadores contribuyen a la dispersión del parásito, causando en el hombre y cerdo la cisticercosis. La patología causada en la taeniosis es de poca gravedad y la infección, frecuentemente cursa sin ser notada; su diagnóstico se realiza por la

búsqueda de los proglótidos en la materia fecal, por medio de tamizado, la búsqueda de huevos en los exámenes coproparasitológicos, o por el método de Graham para la búsqueda de huevos en las márgenes del ano. Recientemente estudios en Polonia, demostraron que la hiposecreción gástrica y cambios pato-morfológicos en la mucosa del yeyuno, comunmente observadas en infecciones por *T. saginata*, pueden ser responsables de varios desordenes funcionales y causar una gran sensibilidad a algunas otras infecciones (Pawlowsky and Murrell, 2001).

Para el tratamiento de esta enfermedad se utilizan antihelmínticos, como la niclosamida, que actúa directamente sobre el tegumento de los proglótidos, haciéndolos susceptibles a la acción de las enzimas proteolíticas del hospedero. Dicho fármaco puede exponer al paciente al riesgo de contraer cisticercosis, pues destruye los proglótidos y libera los huevos dentro de la luz intestinal, por lo que su uso se ha descontinuado en algunos países incluyendo el nuestro (Sartí, 1997a). Actualmente el prazicuantel es uno de los fármacos en uso, éste lesiona el tegumento del parásito adulto y de la larva interfiriendo la función de los canales iónicos principalmente los de calcio. Se sugiere una dosis de 10mg/kg de peso como dosis única. El albendazol es un fármaco de elección, sobre todo en menores de cinco años; su acción se ejerce sobre la tubulina, immobilizando y matando al parásito. Se utiliza en un tratamiento de 15mg/kg de peso durante 8 días (Sotelo, *et.al.*, 1988).

La extensa longevidad, la alta fecundidad del parásito adulto (Smith, 1994), así como la resistencia de los huevos a las condiciones ambientales, dificultan la posibilidad de romper el ciclo de transmisión de la enfermedad. (Sciutto, *et.al.*, 2000).

La prevalencia de taeniosis ocasionada por *T. solium* rara vez excede el 4%, aunque en algunos países se han reportado datos del 7%. Algunos estudios sugieren que esta enfermedad es más frecuente en mujeres y en individuos entre 30 y 40 años (Cruz, *et.al.* 1989, Allan, *et.al.* 1996b). En estudios epidemiológicos realizados en algunos países de América Latina se ha encontrado que en los últimos treinta años Colombia y Haití son los países con frecuencias más altas de taeniasis por año, mientras que Costa Rica es lo opuesto. En cuatro comunidades de Guatemala (Quesada, El tule, El Jocote y Santa Gertrudis), se analizaron muestras colectadas entre los años de 1991 y 1994 y se encontraron 92 casos positivos de 3,399 muestras estudiadas, lo cual representa el 2.7% donde el 98% de los parásitos recuperados fueron *T. solium*, también se encontró una frecuencia de 1% en niños cuyas edades fluctuaban entre 6 meses y 4 años de edad (Allan, *et.al.* 1996b, García-Noval, *et.al.*, 1996). En México

prevalecieron frecuencias de taeniosis de 0.2 a 1.1 % en el período de 1970 a 1971, en 1984 el 1.0% y en 1989 de 3.4%, detectándose que para *T. solium* correspondía el 1.1 % (Sartí, 1997b). Estadísticas oficiales han reportado que de 1986 a 1990 existían 13,000 casos anuales y a partir de 1991 esta cifra ha disminuido a cerca de 800 casos de *Taenia sp* en el mismo período (Sartí, 1997a).

Mientras que la relación hospedero-parásito en la cisticercosis humana y porcina ha sido ampliamente estudiada, ésta es prácticamente desconocida en la taeniosis causada por *T. solium*, principalmente debido a que los humanos son los únicos hospederos definitivos del estadio adulto (Sotelo, *et.al.*. 1988; Flisser, 1994.). Debido a que la taeniosis es relativamente asintomática, el diagnóstico así como el tratamiento de ésta, puede ser difícil. Por lo tanto, una detección sensible y exacta de casos de taeniosis se convierte en un elemento crítico para el desarrollo de estrategias exitosas de control de la cisticercosis (Schantz, *et.al.*, 1980; Gilman, *et.al.*, 1996).

## **II.- DIAGNÓSTICO.**

Enfoques parasitológicos tradicionales para el diagnóstico de taeniosis y cisticercosis, tales como cuestionar a los pacientes acerca del desalojo de proglótidos, exámenes coproparasitológicos o pruebas serológicas tienen diversas limitaciones cuando son usadas en estudios epidemiológicos y principalmente en estrategias de control debido a su baja sensibilidad y especificidad. Modernas técnicas de imagen, tales como tomografía axial computarizada (CT) o resonancia magnética (MRI) han mejorado considerablemente el diagnóstico de la neurocisticercosis pero, raramente son usadas en estudios epidemiológicos o de control debido a los costos que esto implica y a la limitada disponibilidad de equipos en áreas endémicas (Diop, *et.al.* 2003).

### **4.- Diagnóstico de Cisticercosis.**

En los últimos 20 años se han utilizado diversas pruebas inmunodiagnósticas para determinar la frecuencia de anticuerpos anticisticercosis en diferentes poblaciones; al respecto se encontraron prevalencias desde 0.1 a 12.0%. Con el advenimiento de técnicas más sensibles y específicas, como el ELISA y la Inmunoelotransferencia (IET), las frecuencias informadas en los últimos años se han mantenido alrededor del 10% en las poblaciones estudiadas (Díaz, *et.al.*, 1990, Correa, *et.al.*, 1994, Sartí, *et.al.*, 1994).

Estos métodos junto con la evaluación clínica y los resultados de las pruebas inmunológicas, han resuelto razonablemente el diagnóstico hospitalario de la cisticercosis. Sin embargo, una de las necesidades actuales es la de obtener componentes (proteínas, DNA o RNA) especie-específicos para el desarrollo de métodos de uso más amplio para definir áreas endémicas y detectar animales infectados que van a ser sacrificados en los rastros.

Entre los métodos inmunológicos que se han utilizado para el diagnóstico de la cisticercosis se encuentran el ensayo inmunoenzimático (ELISA), la inmunoelectrotransferencia (IET), la inmunoelectroforesis (IEF), la inhibición de la hemaglutinación (HI), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la fijación del complemento (FC) en suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes (Nieto, 1956; Flisser, *et.al.*, 1980; Miller, *et.al.*, 1984; Mohammad, *et.al.*, 1984; Espinoza, *et.al.*, 1986, Rosas, *et.al.*, 1986, Larralde, *et.al.*, 1986, 1989; Tsang, *et.al.*, 1989, Molinari, *et.al.*, 2002).

Diferentes estudios que utilizaron ELISA reportaron una sensibilidad entre el 70-100% en suero y LCR (Schantz, *et.al.*, 1980; Diwan, *et.al.*, 1983; Grogl, *et.al.*, 1985; Corona, *et.al.*, 1986; Espinoza, *et.al.*, 1986; Larralde, *et.al.*, 1986; Rosas, *et.al.*, 1986; Nascimento, *et.al.*, 1987; Pammenter, *et.al.*, 1987). Cabe mencionar que la mayoría de las pruebas inmunológicas utilizan extractos crudos del cisticerco, por lo que se han demostrado reacciones cruzadas con otros parásitos (Schantz, *et.al.*, 1980; Espinoza, *et.al.*, 1986, Gottstein, *et.al.*, 1986). Para el caso de la cisticercosis causada por *T. solium*, el uso de antígenos puros tales como el antígeno B (paramiosina) y algunas glicoproteínas de superficie del cisticerco han disminuido las reacciones cruzadas con algunos parásitos, pero no han permitido realizar un diagnóstico diferencial entre cisticercosis e hidatidosis (Espinoza, *et.al.*, 1986) y probablemente otras cestodiasis, debido a que estos antígenos se encuentran presentes en otros platelmintos (Olivo, *et.al.*, 1988).

Aplicando la técnica de IET como prueba diagnóstica con un extracto completo de *T. solium* y sueros de pacientes cisticercosos con otras infecciones helmínticas, se demostró que existen polipéptidos específicos (Gottstein, *et.al.*, 1986; Gottstein, *et.al.*, 1987). Por ejemplo, se han identificado 2 polipéptidos de 26 y 8 kDa, que solamente son reconocidos por anticuerpos del suero y LCR de pacientes con cisticercosis confirmada mostrando una especificidad del 100% (Gottstein, *et.al.*, 1987). Aplicando la misma estrategia pero utilizando fracciones glicoproteicas purificadas de *T. solium* por medio de cromatografías de afinidad con lectinas de *Lens culinaris*, Tsang ha logrado identificar 7 proteínas (GP50, 42, 24, 21, 18, 14, 13) que son específicas para el diagnóstico de *T. solium* encontrado un 98% de sensibilidad y un 100% de

especificidad (Tsang, *et.al.*, 1989). Sin embargo, cabe mencionar que cuando el método antes mencionado se aplicó en un grupo de sueros con neurocisticercosis de una zona endémica, bajó notablemente la sensibilidad al 45% (Garcia, *et.al.*, 1991). Asimismo, se mostró que el método es menos sensible en pacientes neurocisticercosos con lesiones únicas que en pacientes con lesiones intracraneales múltiples (Wilson, *et.al.*, 1991).

Utilizando la técnica de IET y líquido vesicular completo, se han identificado 3 proteínas (108, 103, 23 kDa) específicas de *T. solium* (Larralde, *et.al.*, 1986 y 1989). Además, se ha reportado por IET que 5 proteínas (223, 139, 114, 63 y 22 kDa), comunes a *T. solium* y *T. crassiceps*, que pueden ser usados como antígenos alternativos para el diagnóstico de la neurocisticercosis (Padilla, 1994). Otros con esta técnica y utilizando un extracto complejo, han reportado 3 proteínas de 64, 53, 30-32 kDa (Grog, *et.al.*, 1985). Chromansky y cols. (1990) recomiendan un antígeno de 110 kDa purificado por HPLC a partir de líquido cefalorraquídeo de enfermos neurocisticercosos. Finalmente dos proteínas una de 10 kDa aislado de líquido vesicular de cisticercos y otra denominada GP10 identificada en la fracción de glicoproteínas obtenida por *L. culinaris*, han mostrado un 100% de especificidad y de sensibilidad ensayadas por IET (Ito, *et.al.*, 1998, Plancarte, *et.al.*, 1999).

Recientemente, antígenos de excreción/secreción han sido utilizados en EIBT encontrando que el 88% de los líquidos cefalorraquídeos probados contenían IgG específicas a los antígenos de 95, 49 y 29 kDa, asimismo en ELISA valores de 100, 92 y 86% fueron obtenidos para cada una de las proteínas puras (López, *et.al.*, 2004 ). La sensibilidad y especificidad en análisis de ELISA dependen ampliamente del antígeno utilizado; probando antígenos de excreción/secreción (E/S) se han reportado mejoras en la especificidad para la detección de cisticercosis causada por *Taenia saginata* en ovejas (Harrison and Sewell, 1981); *Taenia ovis* en perros (Heath, *et. al.*, 1985) y *Taenia solium* (Vepa, 1993; Ng, and Ko, 1994; D'Souza, 1999) en cerdos y humanos.

Asimismo, las técnicas de clonación molecular han permitido la identificación y expresión de algunos antígenos de diferentes ténidos (Bowtell, *et.al.*, 1984; Howell, *et.al.*, 1988; Howell, *et.al.*, 1989; Johnson, *et.al.*, 1989; Cogle, *et.al.*, 1991). Hasta ahora solamente tres antígenos recombinantes han sido aplicados en el diagnóstico de infecciones por cestodos. Los antígenos recombinantes EM4 y II/3 de *E. multilocularis* han sido ensayados por ELISA, para la detección de equinococosis alveolar en humanos. El antígeno EM4 mostró una sensibilidad del 37% y una especificidad del 100% (Hemmings y McManus, 1991), mientras que el antígeno II/3

mostró una sensibilidad del 98% y una especificidad del 96% (Vogel, *et.al.*,1988; Müller, *et.al.*, 1989). Otro antígeno denominado EM13 de *E. multilocularis* mostró una especificidad de 82% (Felleisen y Gottstein, 1994).

En contraste, las pruebas inmunológicas para el diagnóstico de la cisticercosis porcina y la teniasis humana usualmente se encuentran muy poco desarrolladas. Por ejemplo, en la cisticercosis porcina las pruebas inmunológicas han sido poco y mal utilizadas, algunos datos indican que la seropositividad es extremadamente alta en comparación con la frecuencia detectada por inspección veterinaria (Inclan, 1980; Romero, 1980). En esta enfermedad el diagnóstico ha sido confirmado en muy pocos casos. El diagnóstico post-mortem de cerdos se realiza normalmente mediante un corte en los músculos tríceps/ancóneo e inspección visual del mismo en los diferentes rastros de México (Contreras, 1989). No obstante, se sabe que un número considerable de cerdos son sacrificados clandestinamente (Aluja, 1982), por lo que el efecto de la inspección para impedir el consumo humano se ve muy disminuido.

### **5.- Diagnóstico de taeniosis.**

En los últimos años, se han desarrollado nuevos métodos para el diagnóstico de la taeniosis-cisticercosis, combinando el uso de métodos inmunológicos con los productos de genes (proteínas recombinantes) y métodos de hibridación con DNA específico del parásito. Clásicamente la taeniosis ha sido detectada por exámenes parasitológicos directo de materia fecal, basados en la observación microscópica de huevos o proglótidos, que no son ni específicos ni sensibles (Díaz, 1992). Recientemente se ha desarrollado el análisis de detección de coproantígenos y se ha observado un aumento en la sensibilidad para la detección de casos. Aplicando este análisis en un ELISA de captura que utiliza sueros de conejo hiperinmune producidos contra extractos somáticos del adulto ha mostrado tener un 99% sensibilidad y un 99% de especificidad para *Taenia sp* y consistentemente detectan 2.5 veces más casos de taeniosis debida a *T. solium* que la microscopía (Allan, 1996, Rodríguez-Canul, *et.al.* 1999; Margono, *et.al.* 2003, García, *et.al.* 2003).

En la década de los noventas se empezaron a desarrollar métodos basados en la tecnología del DNA; uno de ellos utiliza sondas de DNA específicas para *T. solium* o *T. saginata* con cebadores especie-específicos para diferenciar a estas dos especies y sus infecciones (Harrison, *et.al.*, 1990; Chapman, *et.al.*, 1995). Esta técnica permite la amplificación del DNA del parásito obtenido de huevos o proglótidos presentes en las heces.

El diagnóstico diferencial basado en el DNA ha mostrado, al menos en escala experimental, una identificación exacta de céstodos humanos incluyendo *T. solium*. Estas pruebas involucran sondas de DNA, PCR o PCR acoplados a fragmentos de restricción para observar polimorfismos (Rodríguez Hidalgo, *et.al.*, 2002). PCR multiplex ha permitido un diagnóstico diferencial entre *T. solium*, *T. saginata* y *T. asiática*, usando muestras fecales (Yamasaki, *et.al.* 2004)

Independientemente del método de detección utilizado, la recolección y examen de materia fecal para la identificación de casos de taeniosis es un problema potencial por la exposición y los riesgos de infección con huevos de *Taenia*. Además la recolección de heces frecuentemente es difícil y culturalmente inaceptable en muchos lugares donde se realizan estudios de cisticercosis y taeniosis (Wilkins, 1999).

Los antígenos de excreción/secreción (Ag de E/S) son una compleja mezcla del metabolismo activo del parásito y los anticuerpos contra estos antígenos pueden ser considerados como un indicativo de la presencia de un parásito vivo (Lightowers, and Richard, 1988). Recientemente, los Ag de E/S de adultos de *T. solium* no grávidos recuperados de hámsteres fueron ensayados en EITB para el diagnóstico de taeniosis causada por *T. solium*. Se encontró que moléculas con un peso de 32.7 a 42.1 kDa son reconocidas específicamente por sueros de pacientes con un 95% sensibilidad y un 100% de especificidad (Wilkins, 1999). Sin embargo, éste es un único estudio realizado con estos antígenos, por lo que sería importante realizar más estudios para corroborar estos datos en poblaciones abiertas.

Para el diagnóstico de teniosis-cisticercosis, diversos extractos y fracciones de los estadios de cisticerco y adulto han sido usados. Se ha observado que existe una gran homología en el patrón proteico analizado por SDS-PAGE y un alto nivel de reacción cruzada detectada por EITB (Espinoza, *et.al.* 1986a; 1986b; Monroy, *et.al.*, 1992, Schatz, *et.al.* 1980).

En este trabajo se utilizaron los Ag de E/S de adulto para reducir la complejidad antigénica y disminuir las reacciones cruzadas y tratar de identificar nuevos antígenos específicos para diagnosticar la taeniosis en el modelo de hámster.

## **HIPOTESIS**

El disponer de antígenos estadio-específicos del adulto *T. solium*, nos permitirá optimizar un método diagnóstico para la taeniosis causada por este parásito.

## **OBJETIVO GENERAL**

Identificar antígenos específicos del parásito adulto de *Taenia solium*, con potencial diagnóstico para la taeniosis.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Establecer el modelo de taeniosis en hámster.
2. Elaboración de extractos crudos (EC) y de antígenos de excreción/secreción de (Ag E/S) de cisticerco y adulto de *T. solium*.
3. Producción de anticuerpos en contra de EC y Ag E/S de cisticercos y adultos del parásito.
4. Identificación de antígenos específicos del estadio adulto de *T. solium* por medio de ensayos de Inmunoelectrotransferencia (IET)..

## JUSTIFICACIÓN

Las condiciones sociales, económicas, de salud, educación y culturales que están estrechamente relacionadas con la transmisión de *Taenia solium* serán difíciles de cambiar en un país como el nuestro que se encuentra en vías de desarrollo. Además, la neurocisticercosis humana es una enfermedad incapacitante y en ocasiones fatal en la que se invierten millones de pesos para tratar y curar a los enfermos que la padecen. Por otro lado, no existen por ahora una vacuna comercial y se desconoce el número real de personas infectadas por el parásito, en especial con el estadio adulto que produce los huevos causantes de la cisticercosis. Los humanos portadores del parásito adulto son fáciles de tratar con fármacos antihelmínticos de ahí, la importancia de un buen método diagnóstico. Los hechos mencionados justifican el trabajo de descubrir nuevos antígenos para desarrollar herramientas diagnósticas para la detección del adulto en humanos y ayudar a erradicar este parásito.

# MATERIAL BIOLÓGICO Y MÉTODOS

## **1. Material biológico.**

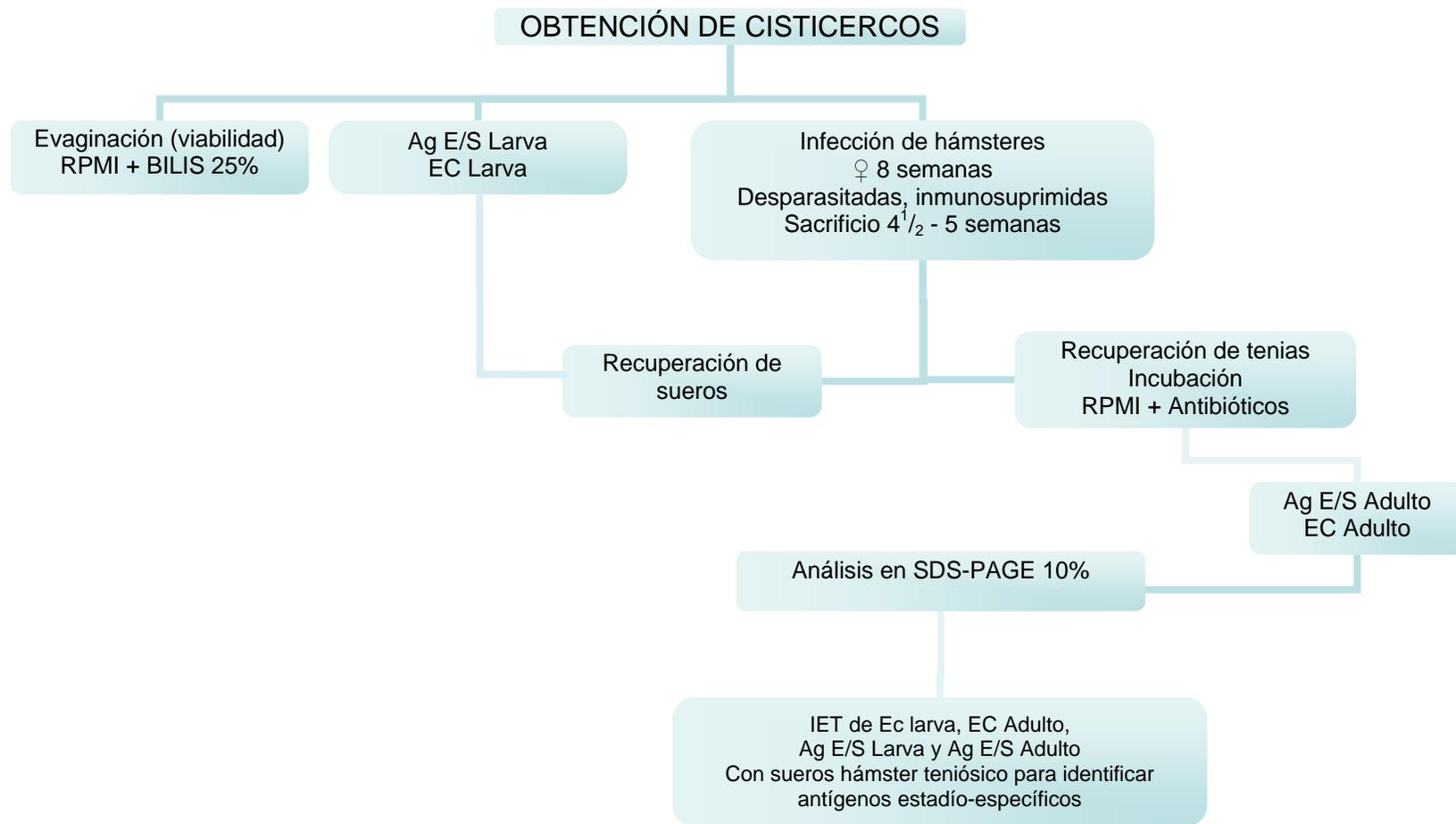
Los cisticercos de *Taenia solium* se obtuvieron por disección del músculo esquelético de cerdos cisticercosos infectados naturalmente. Una vez extraídos de la carne son lavados en amortiguador de fosfatos salino pH 7.4 (PBS) frío y estéril. Algunos cisticercos se usaron para determinar la viabilidad de los mismos y otros se usaron para infectar hámsteres. Los cisticercos restantes fueron incubados para la obtención de los Ag de E/S como se describe más adelante o bien congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$ , para después ser utilizados para la obtención de extractos crudos.

## **2. Determinación de la viabilidad.**

La viabilidad de cada lote obtenido se determinó incubando 20 cisticercos por 24 hrs a  $37^{\circ}\text{C}$  en medio RPMI 1640 (Sigma) complementado con bilis de cerdo al 25% (Cañedo, *et al.* 1982; Correa, *et al.* 1989). Se toman como viables aquellos cisticercos en los que la larva evaginó y muestra su escólex y parte del estróbilo, además de una gran movilidad. Se contó este número de parásitos evaginados y se calculó un porcentaje promedio de viabilidad.

## **3. Producción de adultos de *Taenia solium*.**

Para producir individuos adultos de *T. solium* se utilizaron hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*) desparasitados con praziquantel (PQZ 3mg/animal) administrado vía oral. Los hámsteres fueron infectados con cisticercos de acuerdo al procedimiento descrito por Vester, (1971). Brevemente, los animales fueron inmunosuprimidos con Depomedrol (metil prednisolona) en dosis de 2mg/animal por vía intraperitoneal. Esta dosis se repitió cada 15 días mientras duró la infección. Al mismo tiempo, con la primera inmunosupresión se infectaron los hámsteres dorados por vía oral con 8 cisticercos viables recién extraídos del cerdo. Después de  $4\frac{1}{2}$  - 5 semanas a partir de la fecha de infección, los hámsteres se sacrificaron con una dosis de pentobarbital sódico administrado por vía intraperitoneal (3mg/kg peso). Se extrajo el intestino delgado del hámster, se colocó en una caja petri con PBS, se abrió longitudinalmente y se recuperaron los adultos de *T. solium*. Los adultos fueron lavados con PBS complementado con antibióticos ( $1 \times 10^6$  U/L de Penicilina y 2gr/L de Estreptomicina, Sigma), para después ser pasados a medio RPMI para obtener los Ag E/S.



Los hámsteres fueron sangrados antes de la infección para tener suero control negativo (pre-infección) y al momento del sacrificio. El suero se recuperó, incubando la sangre 30 min a temperatura ambiente y centrifugando a 735 g/10 min. El suero recuperado se guardó a -20°C hasta el momento de su uso.

#### **4. Preparación de antígenos de excreción/secreción.**

**Ag E/S de cisticercos.** Los cisticercos recién recuperados de la carne de cerdo y lavados, se colocaron en cajas petri conteniendo RPMI con antibióticos y EDTA 1mM en la que se incubaron por 6 horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo se recuperó el sobrenadante y se centrifugó a 9,000xg/20min, el sobrenadante obtenido se filtró a través de membranas de 0.45um (Millipore) y se dializó contra PBS para después concentrarse (Molinari et al., 2002).

**Ag E/S de Adulto.** Una vez recuperados los parásitos adultos, fueron colocados a 37°C en cajas petri estériles con medio RPMI complementado con antibióticos (1X10<sup>6</sup> U/L de Penicilina y 2gr/L de Estreptomicina, Sigma). El medio RPMI fue cambiado cada 8 horas durante el primer día de incubación y cada 12 horas durante los siguientes 3 a 4 días. Durante este tiempo, los cultivos fueron examinados diariamente al microscopio para determinar la viabilidad del organismo, observando su morfología y movilidad. Los medios recolectados durante la incubación de los parásitos adultos se juntaron, dializaron en PBS y se concentraron, aproximadamente 20 veces en una unidad AMICON utilizando membranas PM 3,000 (Millipore). Finalizada la concentración a la muestra se le agregaron inhibidores de proteasas (TLCK, PMSF, EDTA) y se congelaron a -20°C hasta su uso.

#### **5. Preparación de extractos antigénicos crudos.**

Los extractos crudos (EC) de cisticercos y adulto se prepararon de acuerdo al siguiente procedimiento. 10gr de cisticercos ó 2gr de adultos, se homogeneizaron en un Polytron con 50 ó 10 ml de solución de extracción complementada con inhibidores de proteasas, respectivamente. La suspensión obtenida se centrifugó a 19,870xg/30minutos y el sobrenadante se dializó contra PBS a 4°C toda la noche. Posteriormente la muestra se ultracentrífuga a 100,000xg/30min, y el sobrenadante se distribuye en alícuotas que se congelaron a -20 °C hasta su uso. La concentración de todas las fracciones protéicas obtenidas fue determinada por el método de Lowry (1981).

## **6. Producción de sueros hiperinmunes.**

Los sueros hiperinmunes anti- (EC de larva, EC de adulto, Ag E/S de larva y Ag E/S de adulto de *Taenia solium*) se produjeron en hámsteres (hembras de 8 semanas de edad). Antes de iniciar la inmunización por vía intramuscular, se tomó una muestra de sangre para obtener suero preinmune o suero normal que sirviera como control negativo en el análisis de la IET. Las dosis antigénicas usadas fueron de 100 ug. Se realizaron tres inmunizaciones, una cada 15 días por la vía subcutánea. Al final de la última inmunización se valoró el título del suero de los animales por IET y ELISA. Entonces los animales se sangraron a blanco y el suero fue recuperado por centrifugación a 735xg /15min y guardado en alícuotas a -20°C hasta su uso.

## **7. Electroforesis en geles de poliacrilamida con SDS (PAGE-SDS).**

Los patrones protéicos de 50 ug de los extractos crudos y 15 ug de los Ag de E/S obtenidos de los cisticercos y adultos de *T. solium* fueron analizados en PAGE-SDS al 10%, utilizando 2-mercaptoetanol como agente reductor (Laemmli, 1970). Se utilizó un equipo MiniProtean II de Bio-Rad. La electroforesis se realizó a 100V hasta que el frente de corrida o azul de bromofenol llegará al final del gel. Los geles de extractos crudos fueron teñidos con azul brillante de Coomassie y los de los Ag de E/S con la tinción de plata.

## **8. Inmunoelectrotransferencia (IET)**

Se corrieron geles preparativos al 10% utilizando 2ug de proteína/mm lineal de membrana. Se utilizó un marcador de peso molecular preteñido (BenchMark Pre-Stained Protein Ladder, Accesolab). Al finalizar la electroforesis las proteínas contenidas en el PAGE-SDS fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa (Hybond-C, Accesolab) utilizando un equipo MiniTransblot de Bio-Rad (100V/1 hr). Se trabajó a temperatura ambiente utilizando el amortiguador de transferencia frío. Después del tiempo señalado, la membrana se lavó con PBS y se cortó en tiras de 2mm de ancho. Las membranas se guardaron a -20°C, entre dos papeles filtro humedecidos con PBS en una bolsas de plástico.

Para identificar antígenos sobre las membranas de nitrocelulosa conteniendo los extractos crudos y de Ag E/S del cisticercos y del adulto de *T. solium*, estas se enfrentaron a los sueros hiperinmunes producidos en conejo y hámster (controles positivos); los sueros preinmunes (controles negativos) y los sueros de hámsteres teniósicos. El suero fue diluido

1:100 en PBS-Tween 0.3% - Leche descremada Svelty al 5% e incubado con la membrana de nitrocelulosa de interés por 1 h a temperatura ambiente con agitación constante. Después de este tiempo se realizaron 3 lavados con PBS-Tween 0.3% de 5min c/u. Como segundo anticuerpo se utilizó una anti IgG de hámster o anti IgG de conejo peroxidado (Zymed) a una dilución 1:2000. Este segundo anticuerpo se incubó por 1 h en agitación a temperatura ambiente. Las membranas se lavaron de igual forma y se procedió al revelado de la reacción utilizando diaminobenzidina (DAB). Esta reacción se llevo a cabo durante 2 minutos y el revelado se detuvo realizando 3 lavados rápidos con PBS y un lavado de 5min con agua. Para descartar reacciones cruzadas con otros cestodos, membranas de *Himenolepis diminuta*, *Taenia saginata* y *Taenia taeniaeformis* fueron utilizadas con los mismos sueros. Las bandas obtenidas en las membranas de las IET fueron analizados con el Software 1D Image Análisis de *Kodak Digital Science*.

## RESULTADOS

Para la realización de este proyecto se obtuvieron diferentes lotes de cisticercos de cerdos infectados naturalmente de diferentes lugares de México. La viabilidad determinada de cada lote de cisticercos realizada con el protocolo de evaginación mostró porcentajes de 90, 80, 66 y 90%, dando un promedio de viabilidad de 81.5% para los cuatro diferentes lotes de parásitos probados. La **figura 3** muestra un ejemplo de los cisticercos evaginados; donde se observa que la larva del parásito ha salido completamente mostrando su escólex, cuello y estróbilo con algunos proglótidos inmaduros.



**Figura 3.** Cisticercos de *Taenia solium* evaginados en medio RPMI + Bilis de cerdo al 25%.

Una vez comprobada la viabilidad de los cisticercos se procedió a infectar con 8 cisticercos a cada uno de los hámsteres. Se infectaron 4 grupos de animales desparasitados e inmunosuprimidos para facilitar la infección. Los animales se sacrificaron a las 4½ - 5 semanas y se observó que algunos hámsteres no se infectaron. En los animales infectados el

número de parásito adultos recuperados varió en cada lote, así como la longitud de cada tenia (**Tabla I**). Se consideró un valor de 100% de infección si se obtenía una tenia adulta por cada cisticercos administrado al animal. Para obtener el porcentaje de infección se uso la siguiente fórmula:

$$\text{X \% de infección} = \frac{\text{Número de Taenias recuperadas por lote}}{\text{Número Cisticercos usados por lote}} (100 \%)$$

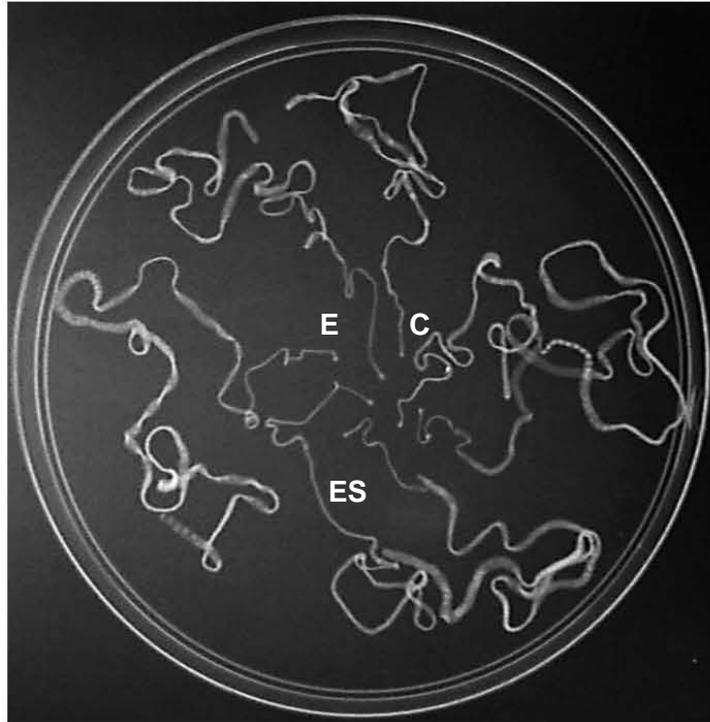
**Tabla I.** Recuperación de parásitos adultos de los diferentes grupos de hámsteres infectados.

Nº LOTE	Nº ANIMALES USADOS	N DE ANIMALES INFECTADOS	CISTICERCOS USADOS	ADULTOS RECUPERADOS	% INFECCIÓN
<b>1</b>	13	9	104	37 (10-30cm)	35.57
<b>2</b>	7	3	56	10 (20-30cm)	17.85
<b>3</b>	10	9	80	37 (10-30cm)	46.25
<b>4</b>	18	15	144	52 (15-40cm)	36.11
<b>TOTAL</b>	<b>48</b>	<b>36</b>	<b>384</b>	<b>134</b>	<b>33.94</b>

En la **figura 4**, se observan los parásitos adultos obtenidos de los hámsteres después de las 4½ - 5 semanas; la longitud de las tenias fue de 25 a 40 cm aproximadamente. El número de tenias recuperadas en cada lote fue variado, teniendo un rango de 0 hasta 8 tenias por animal infectado. En promedio se obtuvieron alrededor de 3 adultos por hámster infectado.

Las tenias recuperadas se incubaron en medio RPMI con antibióticos para la obtención de los Ag E/S de adulto. De cada lote se recuperaron alrededor de 200 ml de medio de cultivo después de 3-4 días de incubación. Para la obtención de Ag E/S de larva, después de la incubación de 6 horas de cada lote se recuperaron alrededor de 200 ml. Posteriormente, con los cisticercos y adultos de *T. solium* se prepararon extractos crudos de acuerdo al método descrito en la sección de materiales y métodos. Una vez preparados los Ag E/S de cisticercos, Ag E/S de Adulto, EC de cisticercos y EC adulto; se cuantificó la concentración de proteína de cada uno de ellos (**Tabla II**). Generalmente se observó que las tenias producían menor

cantidad de proteínas en los Ag de E/S, asimismo se mostró que se obtenía una cantidad similar de proteínas en los EC de ambos estadios.

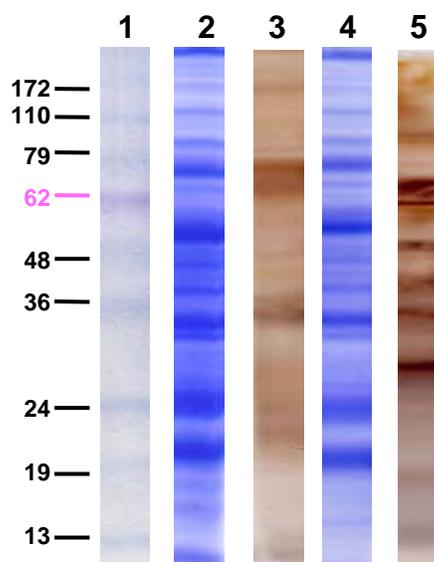


**Figura 4.** Adultos de *Taenia solium* recuperados de intestino delgado de hámsteres. Se distinguen el escólex (E) el cuello (C) y un estróbilo inmaduro (ES).

Los análisis de la composición de los EC y Ag de E/S de *T. solium* se llevaron a cabo en PAGE-SDS al 10% teñidos con azul brillante de Coomassie. Como se observa en la **figura 5**, los EC de adulto y EC de cisticerco (carriles 2 y 4) están compuestos de moléculas con un rango que van de 13 a 200 kDa, con patrones proteicos similares y muy complejos y no se observan diferencias importantes entre ellos. En contraste, para analizar los patrones de Ag de E/S de cisticerco y adulto fue necesario usar la tinción de plata para detectar a los antígenos que estaban en baja concentración en la fracción. Se observaron también proteínas en el mismo rango de 13 a 200kDa, sin embargo éstas si muestran una composición diferente entre ellas. Por ejemplo, para Ag E/S de adulto se observan 8 bandas en la región de 20 a 170 kDa, sobresaliendo proteínas de 62-78, 48, 36 y 20-24 kDa. Para los Ag E/S de cisticerco las proteínas más abundantes por su concentración están en la región de 30-110 kDa en la que se distinguen 5 proteínas de 64, 50, 40, 30 y 28 kDa; y un doblete en la región de 90kDa. Cabe mencionar que existen diferencias en los perfiles electroforéticos obtenidos entre los Ag de E/S y los extractos crudos de los estadios estudiados.

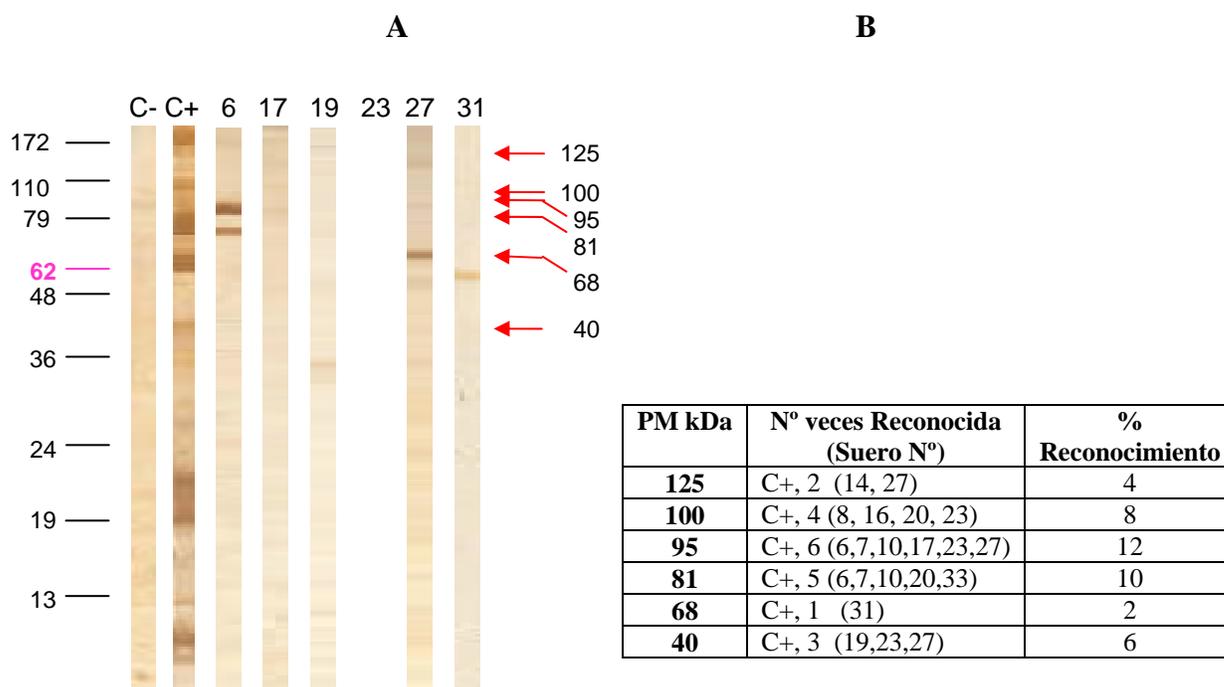
**Tabla II.** Concentración de proteínas de los extractos crudos y Ag de E/S de cisticercos y adultos.

Muestra	Proteínas [mg/ml]
Extracto Crudo cisticerco (EC larva)	5.7
Extracto Crudo adulto (EC adulto)	6.0
Ag E/S cisticerco	9 - 11
Ag E/S adulto	0.9 - 3.55



**Figura 5.** PAGE-SDS al 10% de las fracciones: **1.-** Pesos moleculares (BenchMark Prestained Protein Ladder, de Invitrogen) **2.-** EC de adulto, **3.-** Ag E/S de adulto, **4.-** EC de cisticerco, **5.-** Ag E/S de cisticerco.

Para identificar los antígenos específicos para el estadio adulto, los cuatro grupos de antígenos (EC de adulto, Ag E/S de adulto, EC de cisticerco y Ag de E/S de cisticerco) fueron evaluados por inmunoelectrotransferencia con los sueros de los hámsteres teniósicos de 4½ - 5 semanas infectados experimentalmente. Como controles negativos en estos ensayos se utilizaron sueros de hámster preinmune y como controles positivos los sueros hiperinmunes producidos en hámster contra cada grupo de antígenos. En la **figura 6** se presenta el ensayo de IET realizado con los antígenos del EC de adulto enfrentados contra los sueros de hámsteres teniósicos. Estos sueros reconocieron principalmente 6 bandas con pesos moleculares que van de 125 a 40 kDa, siendo la banda de 95kDa reconocida en un 12% (6 Sueros) y la de 81 kDa reconocida en un 10% (5 sueros). Las bandas de 125, 100, 68, y 40 kDa fueron reconocidas entre un 2 al 8% (1 a 4 sueros). En este ensayo el control negativo no presentó ninguna reacción mientras que, el control positivo reconoció bandas en toda la membrana con pesos moleculares desde 170 hasta 10 kDa. Es importante señalar que este control reconoció fuertemente todas las bandas que reaccionaron con los sueros de hámster teniósico e incluso bandas de 20, 19, 13 y 10 kDa que no fueron reconocidas por estos sueros.



**Figura 6.** A) Ensayo de IET de EC de adulto enfrentado con los sueros de hámsteres teniósicos (sueros 6, 17, 19, 23, 27, 31)\*. Control negativo (C-): suero preinmune de hamster y control positivo (C+): suero de hámster anti-EC de adulto. B) Tabla donde se muestra el número de veces y porcentaje de reconocimiento de antígenos en el EC de adulto por sueros de hamster teniósico.\*Se muestran las membranas mas representativas de todos los experimentos.

En la **figura 7** se muestran los resultados de la IET obtenidos al enfrentar los sueros de hámsteres teniósicos con los Antígenos E/S de adulto. En la imagen se observa un marcado reconocimiento de antígenos que van en un intervalo de 96 hasta 15 kDa. Se pueden distinguir claramente 16 bandas de diferente peso molecular. Destacan particularmente 4 bandas localizadas en las regiones de 72, 48, 36 y 24 kDa que fueron reconocidas por el mayor número de sueros de los hámsteres teniósicos, presentando porcentajes de reconocimiento de 54, 52, 60 y 58 % respectivamente. En este ensayo el suero preinmune Control Negativo reaccionó ligeramente con una banda en la región de 20 kDa, debido a esto, reacciones por parte de los sueros experimentales contra esta proteína fueron descartadas para su análisis como antígeno importante. El control positivo reaccionó intensamente con proteínas en una región de 20 a 80 kDa, de manera significativa con proteínas de 72, 48, 36, 30, 24 y 19 kDa mismas que fueron reconocidas por los sueros de hámster teniósico.

En las **Figuras 8** se presentan los resultados obtenidos de los ensayos de la IET al enfrentar los sueros de hámsteres teniósicos contra EC de cisticerco, observamos que sólo los sueros 20, 30 y 32 reaccionaron con las bandas de 158, 120, 95 y 81 kDa lo cual representa un reconocimiento del 4%. Los carriles 1 y 8 son una muestra de todos los sueros probados que no reaccionaron con ninguna banda. El Control Negativo en este ensayo no presentó reacción contra estos antígenos; el Control Positivo, tuvo una respuesta contra las proteínas presentes a lo largo de la membrana en un rango de 200 hasta 10 kDa. Se observó una fuerte respuesta con proteínas de 95, 85, 65, 36, 30, 20 y 13 kDa. Al probar los mismos sueros con los Ag E/S de cisticerco se observó que éstos reconocen 4 bandas de 115, 77, 52 y 30 kDa con porcentajes de reconocimiento de 4, 14, 6 y 6% respectivamente. Cabe mencionar que estas bandas fueron también reconocidas por el suero de hámsteres anti-Ag E/S de cisticerco utilizado como control positivo. Adicionalmente se muestran en los carriles 19 y 23 sueros que no presentaron reacción contra este grupo de antígenos así como el suero preinmune utilizado como control negativo. Los datos resultantes de este ensayo se resumen en la tabla adjunta a la imagen de la **Figura 9**.

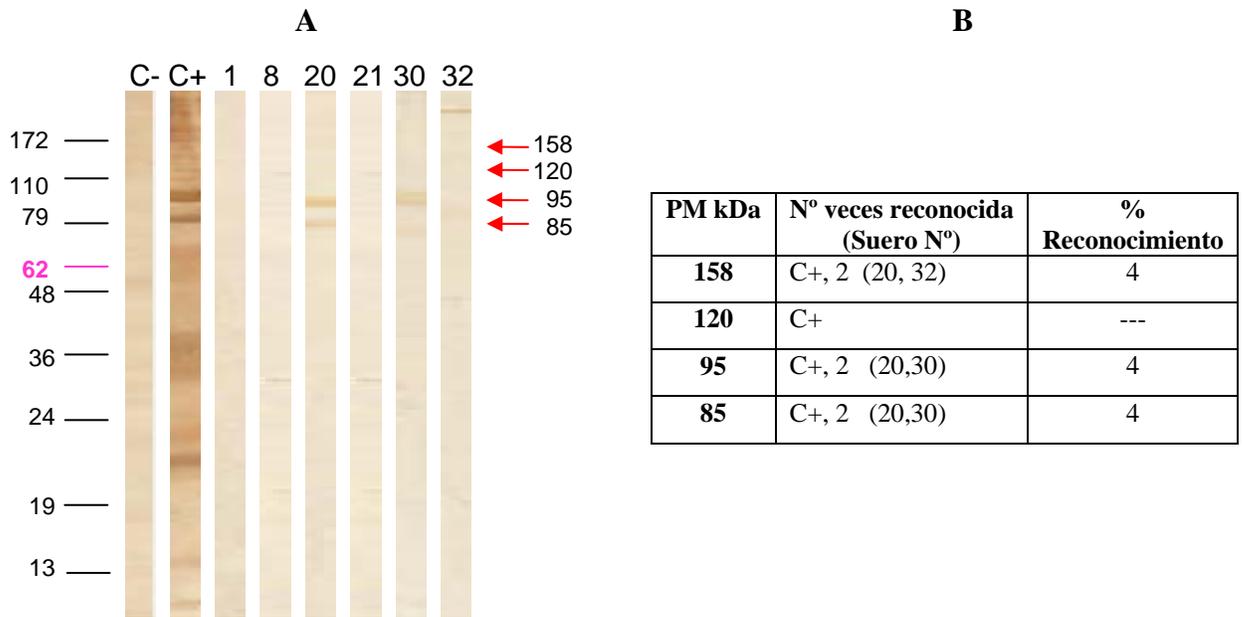
### A



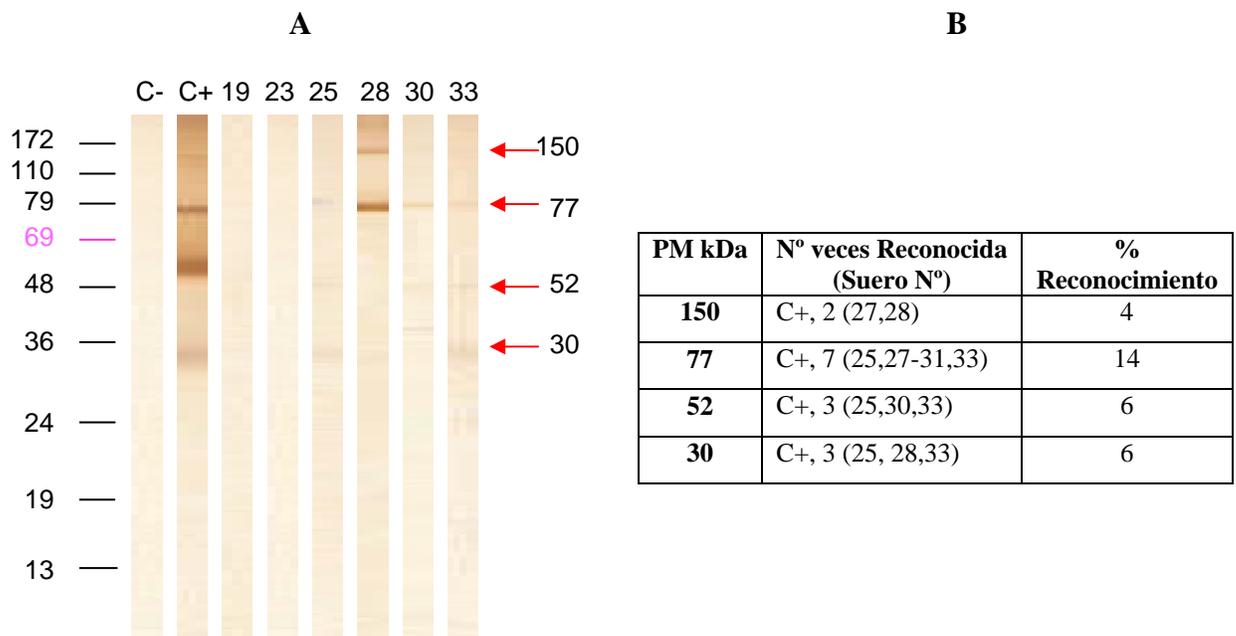
### B

PM kDa	Nº veces reconocida (Suero Nº)	%Reconocimiento
96	3 (22, 23, 25)	6
86	C+, 11 (2,5,6,7,8,10,16,19,22,24,25,32)	23
77	C+, 23 (2-5,8,10,12,15-25,27,29-33)	48
<b>72</b>	C+, 26 (2-5,7,8,10-12,15,16,18-33)	<b>54</b>
52	C+, 15 (2-8,19-25,29,32)	31
<b>48</b>	C+, 25 (2-5,7,8,10-14,16,19-33).	<b>52</b>
43	4 (15,18,21,22)	8
<b>36</b>	C+, 29 (1-5,7-14,16,18-33)	<b>60</b>
30	C+, 5 (19,21,24, 32,33)	10
27	C+, 4 (22-25)	8
25	C+, 1 (19)	2
<b>24</b>	C+, 28 (1-5,7-12,14,16,17,19-33)	<b>58</b>
22	C-, C+, 21 (1-14,16-20,26,27,31)	44
19	C+, 4 (2,5,27,28)	8
17	C+, 10 (2,5,16,25-28,30,32,33)	20
15	4 (1,2,7,29)	8

**Figura 7. A)** Ensayo de IET con membranas conteniendo los Ag E/S de adulto enfrentas con los sueros de hámster teniósicos, carriles del 1-33. Control negativo (C-): suero preinmune de hámster. Control positivo (C+): suero de hámster hiperinmune anti-Ag E/S de adulto. **B)** Muestra el número de veces y porcentaje de reconocimiento de antígenos en los Ag E/S por los suero de hámster teniósicos.

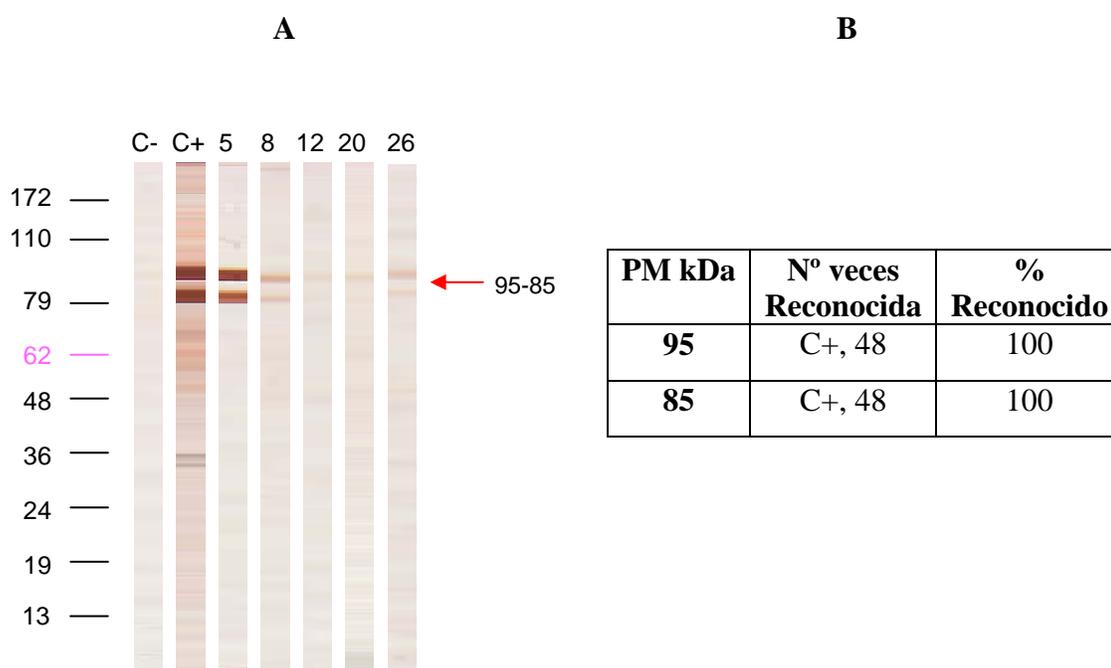


**Figura 8. A)** Análisis de IET usando EC de larva enfrentado con los sueros de hámsteres teniósicos (carriles 1, 8, 20, 21, 30, 32)\*. Control negativo (C-) suero preinmune de hámster. Control positivo (C+): suero de hámster anti-EC de larva **B)** Muestra el numero de veces y el porcentaje de reconocimiento que los sueros de hámster teniósico presentan ante el EC de larva. \*Se muestran las membranas más representativas de todos los experimentos.



**Figura 9. A)** Ensayo de IET realizada con los Ag E/S de cisticerco enfrentado con los sueros de hámsteres teniósicos (carriles 19, 23, 25, 28, 30 y 33)\*. (C-) Control negativo suero preinmune de hámster. Control positivo (C+): suero de hámster anti-Ag E/S de larva. **B)** Muestra el número de veces y porcentaje de reconocimiento que los sueros de hámster teniósico presentan ante los Ag E/S de cisticerco. \*Se muestran las membranas mas representativas de todos los experimentos.

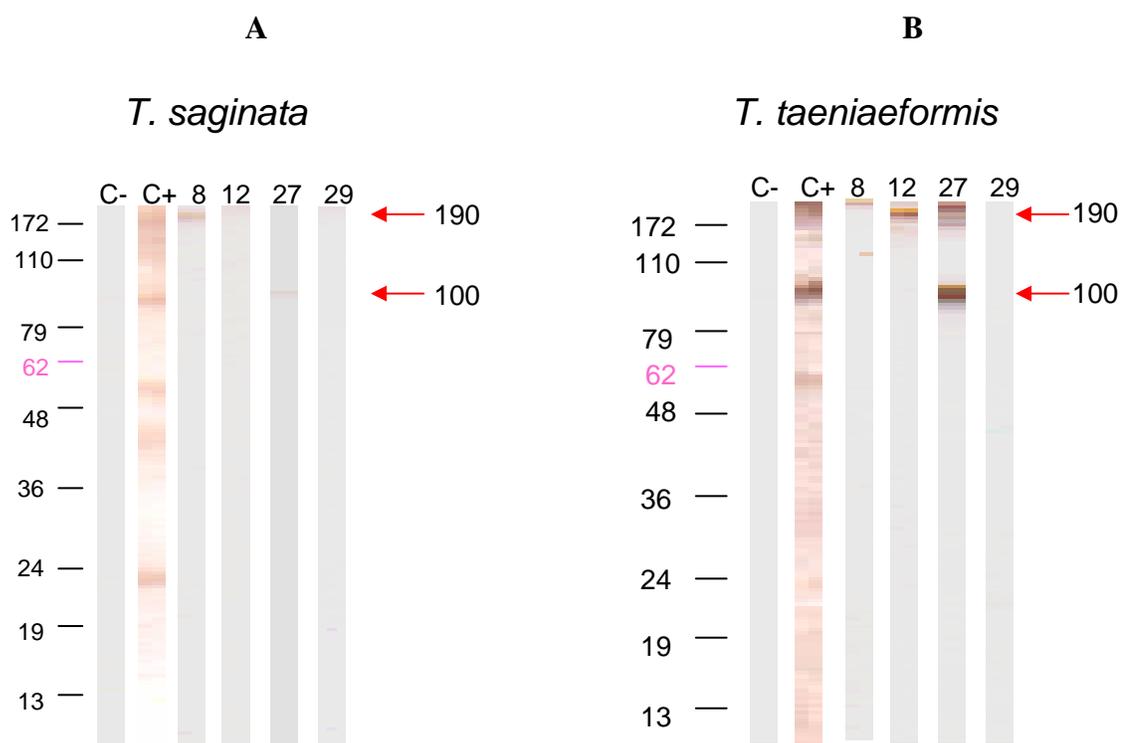
Puesto que los sueros de los hámsteres teniósicos reconocían frecuentemente bandas cercanas a la región entre 110 a 79 kDa, región donde se encuentra un antígeno inmunodominante, la paramiosina o AgB, se realizó una IET enfrentando al AgB de *T. solium* en contra de los sueros de hámsteres teniósicos. **La Figura 10** muestra que todos los sueros de los hámsteres teniósicos reconocen 2 bandas de 95 y 85 kDa con diferentes intensidades y, ligeramente algunas bandas por debajo de las ya mencionadas. Asimismo, un suero anti-AgB utilizado como control del ensayo, reconoce específicamente las bandas de 95 y 85 kDa y también varias bandas por debajo de ellas, probablemente productos de la degradación de la banda de 95 kDa.



**Figura 10.** **A)** Ensayo de IET realizada con el AgB de *T. solium* enfrentado con los sueros de hámster teniósicos (sueros 5, 8, 12, 20, 26). Control negativo (C-): suero normal de conejo. Control positivo (C+): suero de conejo anti-AgB. **B)** Muestra el número de veces y porcentaje de reconocimiento que los sueros de hámster teniósico presentan ante el AgB de *T. solium*.  
\*Se muestran las membranas mas representativas de todos los experimentos.

En la **figura 11**, se presentan los resultados obtenidos al enfrentar los sueros de hámsteres teniósicos con EC de otras taenias filogenéticamente cercanas a la *T. solium*, como la *Taenia saginata* y la *Taenia taeniaeformis*. Esto se realizó con el fin de descartar reacciones cruzadas.

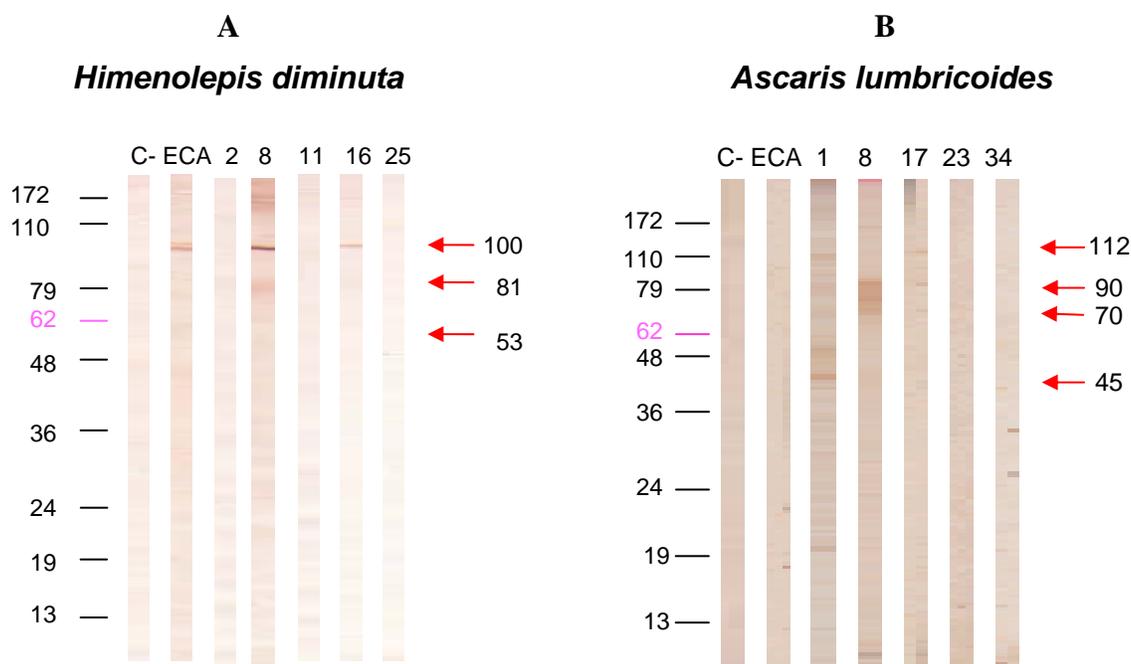
Los resultados obtenidos mostraron que los sueros 8 y 12 reconocieron una banda de 190 kDa, mientras que los sueros 27 y 29 reconocen una banda de alrededor a 100 kDa en el EC de *T. saginata*, correspondiendo a un 4% de reconocimiento. Para el caso del EC de *T. taeniaeformis* se observó una respuesta ligeramente mayor en la que 8 sueros reaccionaron con la banda de 190 kDa y 3 sueros con la banda de aproximadamente 100 kDa mostrando un reconocimiento del 16% y 6%, respectivamente. Estas mismas bandas y otras fueron reconocidas por los sueros anti-EC de *T. saginata* y anti- EC de *T. taeniaeformis* producidos en conejo utilizados como sueros controles positivos. Los sueros preinmunes controles negativos no mostraron ninguna reacción.



PM (kDa)	<i>T. saginata</i> (Suero N°)	<i>T. taeniaeformis</i> (Suero N°)
<b>190</b>	C+, 2 (8, 12 = 4%)	C+, 8 (8,12, 20,23-27 =16%)
<b>100</b>	C+, 2 (27, 29 = 4%)	C+, 3 (27 – 29 = 6%)

**Figura 11.** A) Ensayo de IET con EC de *T. saginata* o EC de *T. Taeniaeformis* enfrentados con los sueros de hámster teniósicos (Sueros 8, 12, 27 y 29)\*. Control negativo (C-): suero conejo preinmune y controles positivos (C+): sueros de conejo anti-EC de *T. saginata* y anti-EC de *T. taeniaeformis*. B) Muestra el número de veces y porcentaje de reconocimiento que los sueros de hámster teniósico presentan contra estos extractos \*Se muestran las membranas más representativas de todos los experimentos.

Adicionalmente, los sueros de los hámsteres teniósicos se analizaron contra EC de otros parásitos intestinales como *Hymenolepis diminuta* y *Ascaris lumbricoides*. La **figura 12** muestra que esos sueros reconocen principalmente bandas en las regiones de 100, 81 y 53 kDa y otro antígenos débilmente en las membranas conteniendo el EC de *H. diminuta*. Por otro lado, los sueros teniósicos reconocen principalmente bandas en las regiones de 112, 90, 70, 45, 21, 19, y 15 kDa en el EC de *A. lumbricoides*. En este ensayo utilizamos suero preinmune de hámster como control negativo el cual no presentó ninguna reacción con los extractos de estos parásitos y como control positivo se probó el suero de hámster hiperinmunizado contra EC de Adulto debido a que no contabamos con sueros positivos a estos parásitos. El suero anti-ECA reaccionó con una banda de 100 kDa en el extracto de *H. diminuta* y no presentó reacción contra antígenos de *A. lumbricoides*.



<i>Hymenolepis diminuta</i>			<i>Ascaris lumbricoides</i>		
PM kDa	Nº veces reconocido (Suero Nº)	% Reconocido	PM kDa	Nº veces reconocido (Suero Nº)	% Reconocido
100	5 (ECA,7,8,16,25)	10	112	2 (1,17)	4
81	2 (ECA, 8)	4	90	2 (8, 17)	4
53	3 (ECA, 8, 11)	6	70	2 (8, 17)	4
			45	1 (1)	2
			21,19,15	1 (1)	2

**Figura 12.** A) Ensayo de IET con extracto crudo de: *Hymenolepis diminuta* y *Ascaris lumbricoides* enfrentado con los sueros de hámster teniósico (sueros 1, 2, 8, 11, 16, 17, 25)\*: Control negativo (C-): suero preinmune de hámster. Control positivo: un suero de hámster anti-EC de adulto (ECA). B) Muestra el número de veces y porcentaje de reconocimiento que los sueros de hámster teniósico presentan contra estos extractos.\* Muestras representativa de los sueros teniósicos probados contra estos antígenos.

## DISCUSIÓN

Diversos formatos de herramientas serológicas comerciales y de laboratorio disponibles para el diagnóstico de la cisticercosis, utilizan técnicas como la IET (EITB) y ELISA con antígenos específicos del estadio larvario de *T. solium* como las glicoproteínas específicas aisladas por Tsang y cols., que presentan 98% de sensibilidad y un 100% de especificidad al probar suero y sensibilidad de 86% y especificidad del 92 % cuando se prueban con saliva (Tsang *et.al.*, 1989). Adicionalmente en ELISA se han obtenido sensibilidades de 41 y 71% en suero y saliva respectivamente y especificidad de 95.7% para ambas muestras (Proano-Narváez, *et. al.* 2002). Otros antígenos quiméricos recombinantes creados a partir de estas glicoproteínas y anticuerpos monoclonales han presentado sensibilidades de 64% para ELISA y 68 % en EITB al ser enfrentadas con sueros de cerdos cisticercosos positivos a la inspección de lengua. (Yong, *et. al.* 1993; Sako and Ito 2001; Sato *et.al.* 2003).

Mientras que el conocimiento de la cisticercosis ha permitido tener un gran avance en los esfuerzos para su diagnóstico y tratamiento, el desarrollo para el diagnóstico de la taeniosis no ha recibido igual atención (Katti, 2002; Wadley, 2002; Sato, *et.al* 2003). Esto puede deberse a varias razones: 1) lo asintomático de la taeniosis que usualmente pasa desapercibida por el hospedero, 2) la dificultad para hacer estudios sobre esta enfermedad ya que el hospedero definitivo es el humano y 3) al alto riesgo que tiene trabajar con el adulto debido a la infectividad de los huevos que produce.

Diversos estudios han demostrado que los pacientes teniósicos son la única fuente de contaminación que puede causar la cisticercosis y que las taenias adultas de hospederos definitivos pueden ser destruidas por fármacos antihelmínticos como el PZQ y la Niclosamida. Lo antes mencionado, hace que un buen diagnóstico oportuno de los portadores humanos del parásito sea un paso crítico para el desarrollo de estrategias exitosas de control y eliminación de la taeniosis/cisticercosis (Who, 1983; Gilman, *et.al.*, 1996, Schantz, *et.al.*1980, 1993, Sarti, 2003).

En este estudio para evitar los problemas éticos y otros asociados como la recolección y la exposición a heces contaminadas con huevos de *T. solium*, nosotros trabajamos con el modelo de taeniosis en el hámster dorado (*Mesocricetus auratus*). Este modelo es seguro debido a que las tenias se desarrollan dentro del hámster sin alcanzar su madurez sexual, por

lo que son incapaces de producir huevos (Gnezdilov, 1957; Vester, 1971; Allan, *et.al.* 1990; Maravilla, *et.al.* 1998). Este modelo también ha sido utilizado para desarrollar no solo adultos de *T. solium*; sino de *T. saginata*; *Ancylostoma ceylanicum*, *Necator americanus* y, recientemente de *T. crassiceps* y *E. multilocularis* (Ray, *et.al.* 1972; Garside, y Behnke, 1988; Rajasekariah, *et.al.* 1987; Kamiya y Sato, 1989; Sato y Kamiya, 1990). Un inconveniente de este modelo es que se utiliza acetato de metilprednisolona o esteroides como inmunosupresores de la respuesta inmune para incrementar el establecimiento y permanencia del parásito en el intestino del hámster con lo que se ha visto un aumento en la mortalidad de los animales proporcional a las dosis de esteroides (Vester en 1971, Rajasekariah, G. *et.al.* 1987, Sato y Kamiya, 1990).

Maravilla *et.al.* (1988), al trabajar este modelo con animales inmunosuprimidos observó que se presenta una alta susceptibilidad a la infección (8 de 12 = 66%), los parásitos sobreviven por más de 16 semanas y se recupera un mayor número de taenias (22 de 48 cisticercos administrados = 45.83 %). Por el contrario en animales que no son inmunosuprimidos se observa un bajo porcentaje de animales parasitados (5 de 12 = 42%), la infección dura solo 10 semanas y el número de taenias recuperadas es muy bajo (8 de 48 cisticercos administrados = 16%).

En este trabajo, los resultados al trabajar con animales inmunosuprimidos e infectados con 8 cisticercos, nos mostraron una susceptibilidad variable a la infección y el promedio obtenido fue muy alto (36 de 48 = 75%). Se recuperaron taenias durante las 5 semanas que mantuvimos la infección dando como resultado un promedio de sobrevida de 34.89 %.

Nuestros datos concuerdan con estudios previos de la literatura en donde utilizan en el modelo hamster inmunosuprimidos y caen dentro de los promedios reportados. (Gnezdilov, 1957; Vester, 1971; 1974; Allan, *et.al.* 1990 and Maravilla, *et.al.* 1998); esto confirma que en hámsteres inmunosuprimidos, el parásito permanece en el animal por más tiempo y permite recuperar un mayor número de tenias en las necropsias. También se observó que contrario a lo reportado por Vester en 1974, en donde señala que se requieren cisticercos con un porcentaje de evaginación del 90% o más para lograr una infección; en este trabajo el lote de cisticercos con 66% de evaginación fue el que presentó el mayor porcentaje de infección (46.25%). Este dato es similar al obtenido por Ávila, (1992), lo que muestra que probablemente existen otros componentes del hospedero que disparan la evaginación del parásito.

Una vez establecido el modelo de hamster teniósicos, se recolectaron adultos que fueron incubados en medio RPMI para obtener sus Ag de E/S, los que a su vez se analizaron utilizados en estudios de IET con los sueros de hámsteres teniósicos experimentales para identificar antígenos con potencial utilidad para el diagnóstico de la taeniosis causada por *T. solium*.

Para identificar antígenos estadio-específicos se produjeron EC y Ag de E/S de los estadios de cisticerco y parásitos adultos. Análisis de los extractos crudos en PAGE-SDS mostraron que la cantidad de proteína extraída de cisticercos y adultos fue muy similar (5 y 6mg/ml respectivamente). En contraste, la cantidad de proteína en los Ag de E/S presentaba una diferencia en concentración de proteínas de 9-11 mg/ml en cisticerco y de 0.9 a 3.55 mg/ml para adulto. Lo que puede explicarse debido al volumen y número de los parásitos trabajados o al metabolismo de cada estadio. El análisis en los PAGE-SDS al 10% mostró que todas las fracciones presentan gran complejidad, para el caso de los EC de cisticerco y adulto, un patrón muy similar fue observado entre ellos con proteínas que están dentro de un rango que va de los 13 a 200 kDa, como ya se había visto antes en otros trabajos (Monroy, *et.al.*, 1992 y Landa, *et.al.*, 1994). En contraste en las fracciones de Ag de E/S de cisticerco y adulto se observan grandes diferencias en los patrones proteicos. Para el caso de Ag E/S de adulto se lograron distinguir alrededor de 12 proteínas que van de 110 a 13 kDa, resultados que coinciden con datos obtenidos por Wilkins y cols, (1999) donde con la misma tinción de plata distinguieron alrededor de 16 proteínas de entre 100 y 14 kDa. Para los Ag de E/S de cisticerco se encontró un grupo de proteínas abundantes, alrededor de 20 bandas, entre la región de 13 a 172 kDa, sobresaliendo por su concentración bandas en las regiones de 64, 54, 46 y 30kDa. Igualmente estos datos coinciden con un par de trabajos que reportan la presencia de al menos 19 proteínas en los Ag E/S de cisticerco con pesos moleculares que van de 14 a 116 kDa en donde sobresalen proteínas de 19, 54 y 62 (Ko, and Ng, 1998) y en otro estudio que presenta hasta 13 proteínas en un rango de 7.5 a 115 kDa (López, *et.al.* 2004).

Los ensayos de IET con membranas conteniendo Ag E/S de adulto de *T. solium* enfrentadas con los sueros de hámsteres teniósicos identificaron cuatro antígenos de 24, 36, 48 y 72 kDa reconocidos en 58, 60, 52 y 54 % respectivamente. Así como un reconocimiento promedio de 12 % para las proteínas de 95 y 85 kDa. Wilkins, (1999) mostró que sueros de pacientes teniósicos enfrentados con Ag E/S de adulto detectaron 3 bandas de 32.7, 37.8 y

42.1 kDa; las que coincide con la banda de 36 que nosotros identificamos con los sueros de hámsteres teniósicos, por lo que podría tratarse del mismo antígeno.

Para determinar la especificidad de las bandas antes mencionadas, se realizó un análisis por IET con los sueros de hámsteres teniósicos experimentales contra fracciones de Ag E/S de cisticerco y EC de cisticerco y adulto de *T. solium*, este nos mostró que 4 bandas de 115, 77, 52 y 30 kDa fueron reconocidas por el suero de hámsteres teniósicos, siendo la banda de 77 kDa la más reconocida (14%). Sin embargo, esta banda no coincide con las bandas identificadas por los sueros de hámsteres teniósicos en los Ag de E/S de adulto. Además, los sueros de los hámsteres teniósicos también reconocieron frecuentemente 2 bandas de 95-85 kDa en los EC de cisticerco y Ag de E/S de cisticerco y adulto; bandas que coinciden en PM con un antígeno inmunodominante del parásito, el AgB o paramiosina. Por lo que para resolver esta duda, sueros teniósicos de hámsteres se enfrentaron por IET con el AgB, resultando que todos los sueros reconocen, aunque con diferentes intensidades las bandas antes mencionadas. Este antígeno, aunque interesante no es recomendable para ser usado en diagnóstico, ya que es una proteína estructural conservada en los helmintos (Olivo, *et.al.*, 1988).

Cabe mencionar que existen estudios que han utilizado Ag de E/S de *T. pisiformis* adulto para diagnosticar teniasis canina en ensayos de ELISA con muestras de sueros y salivas de perros infectados experimentalmente en los que se detectaron IgG e IgA específicas en contra de antígenos del parásito. También existen estudios con EC y Ag de E/S adulto en ELISA para *T. solium*, sin embargo no hay reportes que prueben reacciones cruzadas con otras tenias o helmintos relacionados. Por ejemplo, Wilkins (1999), probó sueros de pacientes positivos a *T. saginata* contra Ag E/S de adulto de *T. solium*, mostrando que no existen reacciones cruzadas.

En cuanto a reacciones cruzadas con otros helmintos intestinales nuestro trabajo mostró que los sueros de hámsteres teniósicos reconocieron fuertemente bandas de 190 y 100 kDa en EC de *T. saginata* y *T. taeniformis* y ninguna banda fuertemente en *H. diminuta* y *A. summ*, parásitos intestinales frecuentes en el humano. Cabe mencionar que Tsang y cols., tampoco encontraron reacciones cruzadas entre *T. saginata* y *T. solium* utilizando como antígeno al Ag E/S de adulto de *T. solium* (Wilkins, *et.al.* 1999), dato que confirma nuestro resultado al menos para la *T. saginata*.

Se requieren de análisis adicionales para determinar si los antígenos detectados por los sueros de hámsteres teniósicos (bandas 72, 42, 36 y 24kDa) podrían ser candidatas para la elaboración de un método diagnóstico para la taeniosis causada por *T. solium*.

En países en vías de desarrollo como el nuestro, donde la taeniosis-cisticercosis causada por *T. solium* es una enfermedad endémica que causa importantes problemas de salud pública; es de gran importancia el poder desarrollar un método diagnóstico para identificar a los portadores de este parásito, para controlar y/o erradicación esta enfermedad (Sartí, E. *et.al.* 1988; Diaz, *et.al.* 1990).

Finalmente, este es uno de los primeros estudios en proponer antígenos con uso potencial para desarrollar un método para diagnosticar la taeniosis causada por *T. solium* en humanos.

## CONCLUSIONES

1. Se montó el modelo de taeniasis experimental en el modelo de hámster. Obteniéndose porcentajes de infección de 75%.
2. Se produjeron Ag de Excreción/Secreción del estadio adulto y se observaron las grandes deferencias que existen con el estadio larval.
3. Por medio de análisis de IET, se lograron identificar 4 proteínas de 72, 48, 36 y 24 kDa que fueron reconocidas por los sueros de hámsteres teniósicos en porcentajes de 54, 52, 60 y 58 % respectivamente.
4. Dichas proteínas se proponen como antígenos candidatos a ser usadas en un método de diagnóstico específico para la taeniasis causada por *Taenia solium*.
5. Se reafirmo la presencia del AgB (paramiosina), en ambos estadios de *T. solium*; así como su inmunodominancia al ser identificado por todos los sueros analizados.

## BIBLIOGRAFIA

- Acevedo-Hernández, A. (1982).** Economic impact of porcine cysticercosis. In *Cysticercosis: Present state of knowledge perspectives*. A. Flisser, K. Willms, J.P. Lacleste, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán. (eds), Academic Press, New York, pp 63-68.
- Acevedo-Hernández, A. (1989)** Epidemiología de la cisticercosis porcina. En: *cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación*. Flisser, A. y Malagón, F. (eds). Limusa. México, 251.
- Allan, J.C., Ávila, G., García-Noval, J., Flisser, A. and Craig P. (1990).** "Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen. *Parasitology* 101, pp: 473-477.
- Allan, J.C., Craig, P.S., García-Noval, J., Mencos, F., Liu, D., Wang, Y., Wen, H., Zhou, P., Stringer, R., Rogan, M. and Zeyhle, E. (1992).** Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dogs and humans. *Parasitology* 104. pp: 347-356.
- Allan J.C., Mencos F., Garcia-Noval J., Sarti E., Flisser A., Wang, Y., Liu D. and Craig P.S. (1993).** Dipstick dot ELISA for detection of *Taenia* coproantigens in humans. *Parasitology* 107: 79-85.
- Allan J.C., Velasquez-Tohom, M., Garcia-Noval, J., Torres-Alvarez, R., Yurrita, P. and (1996a).** Field trial of the coproantigen-based diagnosis of *Taenia solium* by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg* 54: 352-356.
- Allan J.C., Velasquez-Tohom, M., Torres-Alvarez, R., Yurrita, P. Fletes, C., de Mata, F., Soto de Alfaro, H. and Craig, P.S. (1996b).** Epidemiology of intestinal taeniasis in four rural Guatemalan communities. *Annals. Trop. Med. Parasitol.* 90, pp: 157-165.
- Allan, J.C., Wilkins P., Tsang, V. and Craig P. (2003).** "Immunodiagnostic tools for taeniasis". *Acta Tropica* 87, pp: 87-93.
- Aluja, A. (1982)** Frecuency of porcine cysticercosis in México. In *Cysticercosis: present state of knowledge and perspectivas*. Flisser, A., Wilms, K., Lacleste, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., Beltrán, F. (eds). New York
- Ávila, G.; Benitez, M.; Aguilar-Vega, L. and Flisser, A. (2003)** Kinetics of *Taenia solium* antibodies in experimental taeniosis. *Parasitol Res.* 89, pp: 284-289.
- Ávila, G.; Aguilar, L.; Benitez, S.; Yopez-Mulia, L.; Lavenat, I. and Flisser, A. (2002)** Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*. *International Journal of Parasitology.* 32, pp: 1301-1308.
- Ávila, G. (1992).** Detección de antígenos de *Taenia solium* en heces por un método inmunoenzimático. Tesis de maestría. UNAM.

- Bern, S., Carcía, H.H., Evans, C., González, A.E., Verastegui, M., Tsang, V. and Gilman, R.H. (1999).** Magnitude of the disease burden from neurocysticercosis in a developing country. *Clin. Infect. Dis.* 29, pp: 1203-1209.
- Briceño, CE., Biagi, F. and Martínez, B. (1961)** Observaciones sobre 97 casos de autopsia. *Prensa Med. Mex.* 26: 193.
- Botero, D. (1986).** Estudio sobre cisticercosis en Colombia. *Rev. UIS Medicina Bucaramanga, Colombia.*
- Bowtell, DDL., Saint, RB., Rickard, MD. and Mitcheli, G. (1984).** Expression of *Taenia taeniaeformis* antigens in *Escherichia coli*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 13: 173
- Carpio, A. (2002).** Neurocysticercosis: an update. *Lancet Infectious Diseases.* 2, pp: 751-762.
- Contreras, C. L. (1989)** Aspectos más sobresalientes de la inspección sanitaria de suinos en los rastros del D.F y en otros del país en busca del cisticerco de *Taenia solium*. En *Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México.* Limusa-Noriega, México. 257.
- Correa, D., Flisser, A., Sartí, E., Valdespino, JL, Del Rio, A., Velasco, D., Escobar, A., Ibañez, S., Magos, E. (1994).** Teniasis y Cisticercosis. *Enfermedades Tropicales en México.* México, D.F. Secretaría de Salud. 8, pp: 335-345.
- Costero I. (1946).** Tratado de anatomía patológica. 1ª Edición. México Editorial Atlante.
- Cogle, WG, Lightowlers, MW, Bogh HO, Rickard MD, Johnson KS. (1991)** Molecular cloning of *Taenia taeniformis* oncosphere ontigen genes. *Mol. Biochem Parasitol.* 45(1). 137-146.
- Craig, Faust. (1970).** *Clinical Parasitology.* Philadelphia. Lea & Feniger; pp: 529-535.
- Craig, PS., Rogan, MT. and Allan, J.C. (1996).** Detection, screening and community epidemiology of taeniid cestode zoonoses: Cystic echinococcosis, alveolar echinococcosis. *Advances in parasitology*, 38 pp: 170-250.
- Cruz M, Cruz I, Horton J. (1991).** Albendazole vs praziquantel in the treatment of cerebral cysticercosis: clinical evaluation. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 85, pp:244-47.
- Cruz, M., Davis, A., Dixon, H., Pawlowski, Z. and Proano J. (1989).** Operational studies on control of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in Ecuador. *Bull. World Health Organ.* 67, pp: 401-407.
- Chapman, A., Vallejo, V., Mossie, K.M., Ortíz, D., Agabian, N. and Flisser, A. (1995).** Isolation and characterization of species-specific DNA probes from *Taenia solium* and *Taenia saginata* and their use in a egg detection assay. *J. Clin. Microbiol.* 33, pp: 1283-1288.
- Choromansky L., Estrada J. and Kuhn R. (1990).** Detection of antigens of larval *Taenia solium* in the cerebrospinal fluid of patients with the use of HPLC and ELISA. *J. Parasitol.* 76(1)-. 69.

- Del Brutto OH, Sotelo J, Aguirre R, Díaz-Calderón E, Alarcón TA. (1992)** Albendazole therapy for giant subarachnoid cysticerci. *Arch Neurol.* 49, pp:535-538.
- Del Brutto OH, Santibañez R, Noboa CA, Aguirre R, Díaz E, Alarcón TA. (1992)** Epilepsy due to neurocysticercosis: analysis of 203 patients. *Neurology.* 42, pp:389-92.
- Del Brutto OH, Sotelo J. (1990)** Albendazole therapy for subarachnoid and ventricular cysticercosis. *J Neurosurg.* 72, pp:816-817.
- Diaz, F.. (1962).** "Cerebral cysticercosis in Poland: clinical symptoms and operative results in 132 cases. *J. Neurosurg.*
- Diaz, F., García, HH., Gilman, RH. (1992).** Epidemiological of taeniasis and cysticercosis in a Peruvian village. *Am. J. Epidemiol.* 135, pp: 875-882.
- Díaz, S., Candil, R., Uribe, M. and Willms, K. (1990).** Serology as an indicator of *Taenia solium* tapeworm infections in a rural community in México. *Trans. R. Soc. Tro. Med. Hyg.*
- Diop, A.G., de Boer, H.M., Mandlhate, C., Prilipko, L. and Meinardi, H. (2003).** The global campaigning against epilepsy in Africa. *Acta Trop.* 87, pp: 149-159.
- Diwan, A.R., Coker-Van, M., Brown, M., Sibianto, DB., Yolken, R. Desowitz, R., Escobar, A., Gibbs, C., Gadjusek, C. (1982)** Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to cysticerci of *Taenia solium*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31: 364.
- Dixon, HB., Lipscom, FM. (1961).** Cysticercosis: an analysis and follow up of 450 cases. *Privy Council Med. Res. Special Rep. Serial N° 229*, pp: 1-58.
- D'Souza, P.E. and Hafeez, Md. (1999).** Detection of *Taenia solium* cysticercosis in pigs by ELISA with an Excretory-Secretory Antigen. *Vet. Research Comm.* 23, pp: 293-298.
- Eldson-Dew, R. and Proctor, E.M. (1965).** Distinction between *Taeniarhynchus saginata* and *Taenia solium*. *South African Journal of Sciences.* 61, pp: 215-217.
- Espinoza, B., Ruiz-Palacios, G., Tovar, A. Sandoval, MA. Plancarte, A. and Flisser, A. (1986)** Response in patients with neurocysticercosis and its application in immunodiagnosis. *J. Clin. Microbiol.* 24: 536.
- Escobedo F, Penagos P, Rodriguez J, Sotelo J. (1987).** Albendazole therapy for neurocysticercosis. *Arch Intern Med.* 147, pp:738-741.
- Felleisen, R., Gottstein, B. (1994).** Comparative analysis of full-length antigen Il/3 from *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 109 (2) 223-232.
- Flisser, A., Woodhouse, E., and Larralde, C. (1980).** Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders. *Clin. Exp. Immunol.* 39, pp: 27-37.
- Flisser, A., Madrazo, I., Gonzalez, D., Sandoval, M., Rodriguez-Carbajal, J., De-Dios, J. (1988).** Comparative analysis of human and porcine neurocysticercosis by computed tomography. *Clin. Exp. Immunol.* 39 (1). 27-37.

- Flisser, A. (1988).** Neurocysticercosis in México. *Parasitology Today*, 4(5): 131.
- Flisser, A. (1990).** Cysticercosis. *Parasitol.* 12:3 pp: 50-54.
- Flisser, A.; Plancarte, A. Correa, D. (1991).** *Taenia solium* cysticercosis: a review. *Res. Rev Parasitol.*51:1-4, pp:17-23.
- Flisser, A.; Plancarte, A.; Correa, D. (1993).** "Diagnóstico, tratamiento y mecanismos de evasión inmune de la cysticercosis por larvas de *T. solium* en seres humanos y en cerdos". En: Quiroz, H. Diagnóstico y control de parásitos de animales y el hombre. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Div. de Sist. de Universidad Abierta S.U.A pp: 383-411.
- Flisser, A.; Madrazo, I.; Plancarte, A.; Schantz, P.; Allan, J.; Craig, P.; Sarti, E. (1993).** "Neurological symptoms in occulted neurocysticercosis after single taeniocidal dose of praziquantel". *Lancet* 342: 748.
- Flisser, A. (1994).** Taeniasis and cysticercosis due to *Taenia solium*. *Progress in clinical parasitology*. Tsieh Sun de CRC Press. Inc. pp: 77-115.
- Flisser, A.; Madrazo, I.; Delgado, H. (1997).** Cisticercosis Humana. México: Edit. El Manual Moderno pp: 1-65.
- Flisser A. (2002).** "Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*". *International Journal for Parasitology*. 32:10 pp. 1301-1308.
- Flisser, A., Sarti, E., Lightowers, M. and Shantz, P.M. (2003).** Neurocysticercosis regional status, epidemiology, impact and control measures in the Americas. *Acta. Trop.* 87, pp: 43-51
- García H. Martínez M., Gilman R., Herrera G., Tsang V., Pilcher J., Díaz F., Verastegui M., Gallo C., Porrás M., Alvarado M. y Miranda E. (1991).** Diagnosis of cysticercosis in endemic regions. *The lancet* 338(31): 549.
- García, H.H., Gilman, R.M., Tovar, M., Flores, E. and Jo, R. (1995).** Factors associates with *T. solium* cysticercosis: analysis of 946 Peruvian neurological patients. *Am. J. Trop. Med Hyg.* 52, pp: 145-148.
- García, H.H., and Del Bruto, O.H. (2000).** *Taenia solium* cisticercosis. *Infectious Diseases Clinical North American*. 14, pp: 97-119.
- García, H. H., C. A. Evans, T. E. Nash, O. M. Takayanagui, A. C. White Jr., D. Botero, V.**
- Rajshekhhar, V. C. Tsang, P.M. Schantz, J. C. Allan, A. Flisser, D. Correa, E. Sarti, J. S. Friedland, S. M. Martínez, A. E. González, R. H. Gilman and del Brutto, O.H. (2002).** Current consensus guidelines for treatment of neurocysticercosis. *Clinical Microbiology Reviews* 15(4) pp:747-756.

- García, H.H., Gilman, R.H., González, A.E., Verastegui, M., Rodríguez, S., Gaviria, C., Tsang, V., Falcon, N., Lescano, A.G., Moulton, L.H., Bernal, T. and Tovar, M. (2003a).** Hyperendemic Human and porcine *Taenia solium* infection in Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 66, pp: 268-275.
- García, H.H., González, A.E., Evans, C.A. and Gilman, R.H. (2003b).** Cisticercosis Working Group in Peru *Taenia solium* Cysticercosis. *The Lancet*, 361, pp: 547-556.
- García-Albea, E. (1989).** Cisticercosis en España. Algunos datos epidemiológicos. *Rev. Clin. Esp.*
- García-Noval, J., Allan, J.C., Fletes, C., Moreno, E., De Mata, F., Torres-Alvarez, R., Soto de alfaró, H., Yurritia, P., Higueros-Morales, H., Menocs, F. and Craig, P.S. (1996).** Epidemiology of *Taenia solium* taeniasis and cisticercosis in two rural Guatemalan communities. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 55, pp: 282-289.
- Garcide, P. and Behnke, J.M. (1988).** *Ancylostoma ceylanicum* in the hamster: observations on the host-parasite relationship during primary infection. *Parasitology*, 98, pp: 283-289.
- Gilman, R.H.; Dunleavy, M, Evans, CAW., García, H., González, A.E., Verastegui, M., and The cysticercosis Working Group in Peru (1996).** Methods for the control of taeniasis-cysticercosis. García, HH., Martínez, M. eds. *Taeniosis/Cysticercosis por T. solium*. Lima: Editorial Universo, pp: 327-403.
- Gnezdilov, V.G. (1957).** The golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) as potential definitive host of tapeworm *Taenia solium*. *Zoologicheski Zhurnal*. 36, pp: 1770-1773.
- González, A.E., García, H.H., Gilman, R.H. and Tsang, V. (2003).** Control of *Taenia solium*. *Acta Trop.* 87, pp: 103-109.
- Gottstein, B., Tsang, V.C.W., Schantz, P.M. (1986)** Demonstration of species-specific and cross-reactive components of *Taenia solium* metacestode antigens. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 35:308.
- Gottstein, B., Zini, D. y Schantz, P.M. (1987)** Species-specific immunodiagnosis of *Taenia solium* cysticercosis by ELISA and immunoblotting. *Trop. Med. Parasitol.* 38: 299.
- Grogl, M., Estrada, J.J., Mac Donald, G. Kuhn, R. E. (1985)** Antigen-antibody analysis in neurocysticercosis. *J. Parasitol.* 71 (4): 433-442.
- Guerra, G.; Flisser, A.; Cañedo, L. and Lacleste, JP. (1982).** Biochemical and immunological characterization of antigen B purified from cysticerci of *Taenia solium*. In *Cysticercosis present state of knowledge and perspectives*, A. Flisser; K. Willms; J.P. Lacleste; C. Larralde; C. Riadura and F. Beltrán (eds) New York: Academic Press pp: 437-515.
- Harrison, LJS., Delgado, J. and Parkhouse, RME: (1990).** Differentiation of *Taenia saginata* and *Taenia solium* by the use of cloned DNA fragments. *Parasitology*. 100, pp: 459-461.
- Heath, D.D. Lawrence, S.B., Glennie, A. and Twaalfhoven, H. (1985).** The use of excretory and secretory antigens of the scolex of *Taenia ovis* for the serodiagnosis of infection in dogs. *J. Parasitol.* 71, pp: 192-199.

- Hemmings L. and McMannus D. P. (1991)** The diagnostic molecular characterization of an *Echinococcus multilocularis* antigen clone. Mol. Biochem. Parasitol. 44: 53.
- Hoberg, E.P. (2002).** Taenia tapeworms: their biology, evolution and socioeconomic significance. Microbes Infection 4, pp: 859-866.
- Howell, M.J. and Hargreaves, J.J. (1988)** Cloning and expression of *Taenia ovis* antigens in *Escherichia coli*. Mol. Biochem. Parasitol. 28: 21.
- Howell, M.J. and Hargreaves, J.J. (1989)** Characterization of cloned antigens of *Taenia ovis*. Int. J. of Parasitol. 19(6): 631.
- Inclan, M.C. (1980)** Comparación de las técnicas de inspección sanitaria e inmunoelectroforesis en el diagnóstico de la cisticercosis porcina. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
- Ito, A., Plancarte, A., Ma, L., Kong, Y., Flisser, A., Cho, S.Y., Liu, Y.H., Kamhaki, S., Lightowers, M. W. and Shantz, P.M. (1998).** Novel antigens for neurocysticercosis: simple method for preparation and evaluation for serodiagnosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 59, pp: 291-294
- Johnson, K.S., Harrison, G.B.L., Lightowers, M.W., O'Hoy, K.L., Cougie, W.G., Dempster, R.P., Ko, R.C. and Ng, T.F. (1998).** Evaluation of excretory/secretory products of larval *Taenia solium* as diagnostic antigens for porcine and human cysticercosis. 72, pp: 147-154.
- Kamiya, M. and Sato, H. (1990).** Survival strobilation and sexual maturation of *Echinococcus multilocularis* in the small intestine of golden hamster. Parasitology. 100, pp: 125-130.
- Katti, M.K. (2002).** Proposed diagnostic criteria for neurocysticercosis. Neurology 58, pp: 1315.
- Kinder, A., Carter, S.D., Allan, J., Marshall Clark, S. and Craig, P. (1992).** Salivary and serum antibodies in experimental canine teniasis. Vet. Parasitol. 41, pp: 321-327.
- Laclette, J. P., Y. Ornelas, M. T. Merchant y K. Willms (1982).** Ultrastructure of the surrounding envelopes of *Taenia solium* eggs", en A. Flisser, K. Willms, J.P. Laclette, C. Larralde, C. Ridaura y F. Beltrán (eds.), Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives, Academic Press, Nueva York, pp. 375-388.
- Laemmli, U.H. (1970)** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. Nature, 227, 680-685.
- Landa, A.; Merchant, M.T.; Willms, K. and Laclette, J.P. (1994).** Purification and ultrastructural localization of surface glycoproteins of *Taenia solium* (Cestoda) cysticerci. International Journal for Parasitology. 24, pp: 265-269.

- Larralde, C., Lacleste, J.P., Owen, C.S., Madrazo, I., Sandoval, M., Boja;;, R., Sciutto, E., Contreras, L., Arzate, J., Diaz, M. L., Govezensky, T., Montoya, R.M., Goodsaid, F. (1986)** Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: Elisa and hemagglutination tests. *Am. J.Trop. Med. Hyg.* 35: 965.
- Lawrence, S.B., Vinton, J.G., Heath, D.D. y Rickard, M.D. (1989)** Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. *Nature.* 338: 585.
- Levine, M.Z., Calderon, J.C., Wilkins, P.P. Lane, W.S., Asara, J.M., Hancock, K., Gonzalez, A.E., García, H.H., Hilman, R.H. and Tsang, V.V. (2004).** Characterization, cloning and expression of two diagnostic antigens for *Taenia solium* tapeworm infection. *J. Parasitol.* 90, pp: 631-638.
- Lightowlers, M.W. and Rickard, M.D. (1988).** Excretory-Secretory products of helminth parasites-effects on host immune responses. *Parasitology*, 96, pp:123-166.
- López, J.A., García, E., Cortes, I.M., Sotelo, J., Tato, P. an Molinari, J.L. (2004).** Neurocysticercosis: relationship between the developmental stage of metacestode present and the titre of specific IgG in the cerebrospinal fluid. *Annals of Trop. Med. And Parasitol.* 98 (6), pp: 569-579
- Lowry, O. H. Rosenbrough, N.J.; Lewis-Farr, A.; Randall, R.J. (1951).** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J.Biol. Chem.* 193, pp:265-275.
- Mafojane, N.A., Appleton, C.C., Krecek, R.C., Michael, L.M. and Willingham, A.L. (2003).** The current status of neurocysticercosis in Eastern and Southern Africa. *Acta. Trop.* 87, pp: 25-33.
- Maravilla, P.; Ávila, G.; Cabrera, V.; Aguilar, L. and Flisser, A. (1998).** Comparative development of *Taenia solium* experimental models. *J. Parasitol.* 84 (5) pp: 882-886
- Margono, S.S., Ito, A., Sato, M.O., Okamoto, M., Subahar, R., Yamasaki, H., Hamid, A., Wandra, T., Purba, W.H., Nakaya, K., Ito, M., Craig, P.S. and Suroso, T. (2001).** *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in Papua, Indonesia in 2001: detection of human worm carriers. *J.Helminthol.* 77, pp: 39-42.
- Miller, B., Goidberg, M.A. Heiner, D.G., Myers, A. y Goldberg, A. (1984)** A new immunologic test for CNS cysticercosis. *Neurology.* 34: 695.
- Mohammad, I.N., Heiner, D.C. Miller, B.L. Goldberg, M.A. y Kagan, I.G. (1984).** Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of cerebral cysticercosis. *J. Clin. Microbio;.* 20: 775.
- Molinari JL, Garcia-Mendoza E, de la Garza Y, Ramirez JA, Sotelo J, Tato P. (2002).** Discrimination between active and inactive neurocysticercosis by metacestode excretory/secretory antigens of *Taenia solium* in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J. Trop. Med. Hyg.* 66(6) 777-781.
- Monteiro, L.; Coelho, T.; Stocker, A.** Neurocysticercosis, a review of 231 cases. *Infection.*

- Monroy, O.A.; Gómez, L.J. Ramírez, A. and Carrillo, G. (1992).** Reconocimiento por Inmunoelctrotransferencia de antígenos de *Taenia solium* y su larva. Rev. Lat. AMER. Microbiol. 34, pp: 33-38.
- Müller, N., Gottstein, B., Monique, Vogel, M., Flury, K. y Seebeck, T. (1989)** Application of a recombinant *Echinococcus multilocularis* antigen in an Enzyme-linked immunosorbent assay for immunodiagnosis of human alveolar echinococcosis. Mol. Biochem. Parasitol. 36:151.
- Nascimento, E., Tavares, C.A., Lopes, J.D. (1987)** Immunodiagnosis of human cysticercosis (*Taenia solium*) with antigens purified by monoclonal antibodies., J. Clin. Micro. 25: 1181.
- Nash, T.E., Del Bruto, O.H., Butman, J.A., corona, T., Delgado-Escueta, A., Duron, R.M., Evans, C.A., Gilman, R.H., González, A.E., Loeb, J.A., Medina, M.T., Pietsch-Escueta, S., Pretell, E.J., Takayanagui, O.M., Theodore, W., Tsang, V. and García, H.H. (2004).** Calcific neurocysticercosis and epileptogenesis. Neurology. 62, pp:1934-1938.
- Nieto, D. (1956)** Cysticercosis of the nervous system. Diagnosis by means of the spinal fluid complement fixation test. Neurology. 6: 725.
- Noboa CA. (1992).** Encefalitis cisticercosa: análisis de 10 casos. Rev Ecuat Neurol. 1, pp:61-71.
- Ng, T.G. and Ko, R.C. (1994).** Serodiagnosis of cysticercosis-specificity of different antigens and ELISAs. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 88, pp: 421-422.
- Ochotorena J. (1935).** Contribución para el conocimiento de la histopatología de la cisticercosis cerebral humana. Análisis del Instituto de Biología UNAM 4: 81
- Olivo, A, Plancarte, A., Flisser, A. (1988).** Presence of antigen B from *Taenia solium* cysticercus in other platyhelminthes. Int J. Parasitol. 18 (4). 543-545.
- Organización Panamericana de la Salud. (1994).** Epidemiología y control de la teniosis y cisticercosis en América Latina. Washington, D.C. OPS/OMS.
- Padilla A.(1994).** Cisticercosis Humana: Epidemiología y análisis de antígenos por Western blot. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias.
- Pammenter, M. D., Rossow, E.J. Epstein, S.R. (1987)** Diagnosis of neurocysticercosis by enzyme-linked immunosorbent assay. S. Afr. Med. J. 71: 512.
- Pawlowski, Z.S. and Meinardi, H. (2005).** Chapter 6. control Measures for taeniosis and cysticercosis. In: Murrell, K.D. (Ed.) WHO/FAO/OIE Guidelines for the surveillance, prevention and control of taeniosis//cysticercosis. OIE, Paris, pp: 73-92
- Pawlowski, Z.S. (2005).** Standard on management of human taeniosis control measures. Annex 6.7.5. In: Murrell, K.D. (Ed.) WHO/FAO/OIE Guidelines for the surveillance, prevention and control of taeniosis//cysticercosis. OIE, Paris, pp: 96-99

**Pawlowski, Z.S., Murrell, K.D. (2001).** Taeniasis and Cysticercosis. In: Hui, Y, H. (Ed.), Foodborne Disease Handbook, second ed Viruses, Parasites, Pathogens, and HACCP, vol. 2. Marcel Dekker, New York, pp: 217-227.

**Phiri, I.K., Ngowi, H., Afonso, S., Matenga, E., Boa, M., Mukatirwa, S., Githigia, S., Saimo, M., Sikasunge, C., Maingi, N., Lubega, G.W., Kassusu, A., Michael, L., Siziya, S., Krecek, R.C., Noormahomed, E., Villena, M., Dorny, P. and Willinmham, A.L. (2003).** The emergente of *Taenia solium* cisticercosis in Eastern and Southern Africa as a serious agricultura problem and public health risk. Acta Trop. 87, pp: 13-23.

**Plancarte, A., Hirota, C., Martínez-Ocaña, J., Mendoza-Hernández, G., Zenteno, E. and Flisser, A. (1999).** Characterization of GP39-42 and GP24 antigens from *Taenia solium* cysticerci ando of their antigenic GP10 subunit. Parasitology Research. 85, pp: 680-684.

**Proano-Narvaez, J.V., Meza-Lucas, A., Mata-Ruiz, O., García-Gerónimo, R.C. and Correa, D. (2002).** Laboratory diagnosis of human neurocisticercosis: double-blind comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and electroimmunotransfer blot assay. Journal of Clinical Microbiology. 40, pp: 2115-2118.

**Rangel R, Torres B, Del Brutto O, Sotelo J. (1987)** Cysticercotic encephalitis. A severe form in young females. Am J trop Med Hyg. 36, pp:387-92.

**Rabiela, M.T.; Rivas, H.A.; Rodríguez, I.J. (1979).** Consideraciones anatomopatológicas sobre la cisticercosis cerebral como causa de muerte. Revista Patología 17: 119-136.

**Rabiela, M.T.; Rivas, H.A.; Rodríguez, I.J. (1982).** "Anatomopathological aspects of human brain cysticercosis". In Cysticercosis, present state of knowledge and perspectives. Flisser, A.; Willms, K.; Laclette, J.P. Larralde, C.; Ridaura, C.; Beltrán, F.(eds). Academic press. New York pp:179-200.

**Rabiela, M.T.; Rivas, A. and Flisser, A. (1989).** Morphological types of *Taenia solium* cysticerci. Parasitology Today, 5, pp: 357-359.

**Rajasekariah, G.R.; Dhage, K.R.; Bose, S. and Deb, N. (1987).** "Human *Necator americanus* in the intestines of young adult hamster". J. Parasitol. 73, pp: 1252-1254.

**Ray, D.K.; Bhopale, K.K. and Shrivastava, V.B. (1972)** "Migration and growth of *Ancylostoma ceylanicum* in golden hamster *Mesocricetus auratus*. J.Helminthol, 46, pp: 57-62.

**Riley, T. y A. C.White Jr. (2003).** Management of neurocysticercosis. CNS Drugs 17(8), pp:577-591.

**Robles C, Sedano AM, Vargas-Tentori N, Galindo-Virgen S. (1987)** Long-term results of praziquantel therapy in neurocysticercosis. J Neurosurg. 66, pp:359-363.

**Robles C, Chavarria M. (1979).** Presentación de un caso clínico de cisticercosis cerebral tratado médicamente con un nuevo fármaco: praziquantel. Salud Pub Mex. 21, pp:603-618.

- Rodríguez-Canul, R., Fraser, A., Allan, J.C., Domínguez-Alpizar, J.L., Argaez-Rodríguez, F. and Craig, P.S. (1999).** Epidemiological study of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in a rural village of Yucatán, México. *Annals. Trop. Med. Parasitol.* 93, pp: 57-67
- Rodríguez-Hidalgo, R., Geysen, D., Benitez-Ortíz, W., Geerts, S. and Brandt, J. (2002).** Comparison of conventional techniques to differentiate between *Taenia solium* and *Taenia saginata* and improved polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay using a mitochondrial 12S rDNA. *J. Parasitol* 88, pp: 1007-1011.
- Romero, C. R. (1993).** *Microbiología y parasitología Humana.* México:edit. Médica panamericana, pp: 574-582.
- Rosas, N., Sotelo, J., Nieto, D. (1986)** ELISA in the diagnosis of neurocysticercosis. *Arch. Neurol.* 43: 53.
- Sako, Y. and Ito, A. (2001).** Recent advances in serodiagnosis for cysticercosis. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health.* 32 (suppl. 2) pp: 98-104.
- Sánchez, A.L., Ljungstrom, I. and Medina, M.T. (1999).** Diagnosis of human neurocysticercosis in endemic countries: a clinical study in Honduras. *Parasitol. Int.* 48, pp: 81-89.
- Sartí, E. (1989).** Epidemiología de la teniasis y cisticercosis. En Flisser, A Malagón, F. ed. *Cisticercosis Humana y Porcina, su conocimiento e investigación en México.* México D.F. Limusa Noriega pp: 233-242
- Sarti, E., Shantz, P.M., Lara, R., Gómez, H. and Flisser, A. (1988)** *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in a Mexican village. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 39, pp:194-198.
- Sartí, E., Shantz, P.M., Aguilés, J. and López, A. (1992).** Epidemiologic observations on porcine cysticercosis in a rural community of Michoacán State, México. *Vet. Parasitol.* 42, pp: 195-201.
- Sartí, E., Schantz, P.M., Plancarte, A., Wilson, M., Gutiérrez, IO., López, AS., Roberts, J., Flisser, A. (1994).** Prevalence and risk factors for taeniasis and cisticercosis in humans and pigs in a village in Morelos, México. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 46, pp:677-685:
- Sartí, E. (1997 a).** La teniosis y cisticercosis por *Taenia solium*. *Salud Pública México.* 39:3, pp: 225-231.
- Sartí, E. (1997 b).** Teniosis y Cisticercosis en México. Capítulo 2, en Arriagada, C.; Nogales, J.; Wemer, A.B. *Neurocisticercosis; Aspectos epidemiológicos, patológicos, inmunológicos, clínicos, imagenológicos y terapéuticos.* Clile: Arrynog ediciones, pp: 5-21.
- Sartí, E. and Rajshekhar, V. (2003).** Measures for the prevention and control of *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis. *Acta. Trop.* 87 (1), pp :137-143
- Sato, H. and Kamiya, M. (1990).** Establishment, development and fecundity of *Taenia crassiceps* in the intestine of prednisolona treated Mongolian gerbils and inbred mice. *J. Helminthol.* 64. pp: 217-222.

**Sato, M.O., Yamasaki, Y., Sako, M., Nakao, K., Nakaya, A., Plancarte, A., Kassuku, A., Dorny, P., Geerts, S., Benitea-Ortiz, W., Hashiguchi, Y. and Ito, A. (2003).** Evaluation of tongue inspection and serology for diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in swine; usefulness of ELISA using purified glycoproteins and recombinant antigen. *Vet. Parasitol.* 111, pp: 309-322

**Secretaría de Salud. (1996).** Boletín semanal de epidemiología, 1994-1996. México, DF. Dirección General de Epidemiología.

**Schantz, P. M., Shanks, D., Wilson, M. (1980)** Serologic cross-reactions with sera from patients with echinococcosis and cysticercosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 21: 609.

**Shantz, P.M., Moore, A.C., Muñoz, J.L., Hartman, B.J., Schaefer, J.A., Aron, A.M., Persaud, D., Sartí, E., Wilson, M. and Fliser, A. (1992).** Neurocysticercosis in an Orthodox Jewish community in New York City. *N.E.J. Med.* 327, pp: 692-695.

**Shantz, P.M., M. Cruz., E. Sarti and Pawlowski (1993)** Potential eradicability of taeniasis and cisticercosis. *Bulletin of the Pan American Health Organization.* 27, pp: 397-403.

**Shantz, P.M., Sartí, E. Plancarte, A., Wilson, M., Criales, J.L., Roberts, J. and Flisser, A. (1994).** Community based epidemiological investigations of cysticercosis due to *Taenia solium*. Comparison of serological screening tests and clinical findings in two populations in México. *Clin.Infect. Dis.*18, pp:879-885

**Schantz, P.M.; Moore, A.; Muñoz, J.L.; Hartman, B.; Schoefer, J.; Aron, A.; Persaud D.; Sartí, E.; Simanjuntak, G.M.; Margono, S.S. and Okamoto, M. (1997).** Taeniasis/Cisticercosis in Indonesia as an emerging disease. *Parasitology Today*,13 pp: 321-323.

**Shandera, W.X., Shantz, P.M., White, A.C. (2002).** *Taenia solium* cysticercosis; the special case of the United States. In: Singh, G., Prabhakar, S. (Eds.), *Taenia solium* cysticercosis: From Basic To Clinical Science. CABI Cambridge UK, pp: 139-144.

**Scott, J. y Smith, G. (1990)** Searching for peptide ligands with an epitope library. *Science* 249: 386-390.

**Sciutto, E.; Fragoso, G.; Fleury, A.; Laclette, J.P.; Sotelo, J.; Aluja, A.; Vargas, L.; Larralde, C. (2000).** "*Taenia solium* disease in humans and pigs: an ancient parasitosis disease rooted in developing countries and emerging as a major health problem of global dimensions. *Microbes Infect.* 2, pp:1875-1890

**Smith, G.D.; Roberts, L.S. (1977).** *Foundation of Parasitology.* The C.V. Mosby Co. USA. pp: 354-379

**Smith, J.L. (1994).** "*Taenia solium* neurocysticercosis. *J. Food Protect* 57, pp:831-844.

**Sotelo J, Escobedo F, Penagos P. (1988).** Albendazole vs praziquantel therapy of neurocysticercosis: a controlled trial. *Arch Neurol.* 45, pp:532-534.

**Sotelo J, Penagos P, Escobedo F, Del Brutto OH. (1988)** Short course of albendazole therapy for neurocysticercosis. *Arch Neurol.* 45, pp:1130-1133.

**Sotelo, J. and Sartí, E. (1986).** La teniasis y cisticercosis en México (revisión bibliográfica), Salud Pública Mex.

**Sotelo J, Escobedo F, Rodriguez-Carbajal J, Torres B, Rubio-Donnadieu F. (1984)** Therapy of parenchymal brain cisticercosis with praziquantel. N Engl J Med. 301, pp:1001-1007.

**Tsang., V.C.W., Brand, J.A., Boyer, A.E. (1989)** An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigen for diagnosing human cisticercosis (*Taenia solium*). J. Infect. Dis. 59, pp:50-59.

**Tsang, V. and Willson, M. (1995).** *Taenia solium* cisticercosis: an under recognized but serious public health problem. Parasitology Today. 11, pp: 124-126.

**Tsang V. (1999).** "Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* taeniasis". Am. J. Trop. Med. Hyg. 60:2 pp. 199-204.

**Vianna, N.G.; Macedo, V.; Mello, P; Costa, J.M.; Yoo, J.M. (1990).** "Estudio Clínico e laboratorial da neurocisticercose em Brasilia". Rev. Bras. Neurol.

**Velasco-Suarez, M., Bravo, M.A. y Quirasco, F. (1982)** Human cisticercosis: Medical implication and economic impact. In Cisticercosis: Present state of knowledge and perspectivas.

**Verastegui, M., Gilman, R.H., García, H.H., gonzález, A.E., Arana, Y., Jeri, C., Tuero, I., Gaviria, C.M. Levine, M. and Tsang, V.C. (2003).** Cisticercosis Working Group in Peru. Prevalence of antibodies to unique *Taenia solium* oncosphere antigens in taeniasis and human and porcine cisticercosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 69, pp: 438-444

**Vogel, M., Gottstein, B., Müiier, N. y Seebeck, T. (1988).** Production of a recombinant antigen of *Echinococcus multilocularis* with high immunodiagnostic sensitivity and specificity. Mol. Biochem Parasitol. 31: 117.

**Wadley, J.P. (2002).** Diagnosis of neurocisticercosis. British Journal of Neurosurgery. 16, pp: 313.

**Wilson M., Bryan R., Fried J., Ware D., Schantz P., Pilcher J. y Tsang., V. (1991).** Clinical evaluation of the cisticercosis enzyme-iinked immunoelectrotransfer biot in patients with neurocisticercosis. J. Infect Dis. 164: 1007-1009.

**Wilson, M.; Flisser, A.. (1992).** "Neurocisticercosis in an orthodox Jewish community in New York City". New Engl J Med 327, pp:692-695.

**Wilkins P; James C; Verastegui M; Acosta M; Eason A; García H; González A; Gilman R; and White, C.A. (1997).** Neurocisticercosis: A major cause of neurological disease world wide". Clin. Infect Dis. 24, pp: 101-115.

**Who (1983).** Guidelines for surveillance prevention and control of taeniosis/cisticercosis. Gemmell, M., Matyas, A., Pawlowski, Z, Soulsby, E.J.L., Larralde, C. Nelson, G.S. Rosicky, B. (Eds.). WHOVPH/83.49. World Health Organization, Geneva.

**Yamasaki, H., Allan, J.C., Otake, Sato, M., Nakao, M., Sako, Y., Nakaya, K., Dongchuan, Q., Mamuti, W., Craig, P.S. and Ito, A. (2004).** DNA differential diagnosis of taeniasis and cysticercosis by Multiplex PCR. J. Clin. Microbiol. 42, pp: 548-553

**Yong, T.S. Yeo, I.S., Seo, J.H., Chang, J.K., Lee, J.S., Kim, T.S. and Jeong, G.H. (1993).** Serodiagnosis of cysticercosis by ELISA-inhibition test using monoclonal antibodies. Korean Journal of Parasitology. 31, pp: 149-156

**Yoshino, K. (1933).** Studies on the postembryonal development of *Taenia solium*. Parte III. J. Med. Ass Formosa. 32, pp: 166-169.

**Vepa Suryanarayana, (1993).** Studies of cysticercosis cellulosae the causative parasite of neurocysticercosis. Bio-chemical and immunochemical characterization of excretory-secretory products. (PhD thesis, Indian Institute of Sciences, Bangalore).

**Verster A. (1971)** Preliminary report on the golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* Linneus 1758 y *Taenia saginata* Goeze 1782. Onderstepoort J. Vet. Res. 38, pp: 63-64.

**Vester A. (1974)** The golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* and *Taenia saginata*. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 41, pp: 23-28.