

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE POST GRADO**

**Evaluación y diagnóstico del estado de la teniasis en el  
Perú : 1997-2009**

**TESIS**

Para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas

**AUTOR**

Juan Atilio Jiménez Chunga

**ASESOR**

Pablo S. Ramírez Roca

**Lima - Perú**

**2011**

## **DEDICATORIA**

A DIOS, a quien siempre tengo presente y acompaña.

A mis padres Juan y Santos, a mis hermanos, Giulliana, Giovanna, Elisa, Adán, Eva; sobrinos: Alex, Otilia, Christian, Omar, Rodrigo, Santiago y demás familia por su apoyo moral y espiritual ya que sin él no hubiera podido culminar con éxito mi formación profesional.

A mi esposa Maritza por el apoyo incondicional que siempre me brinda.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Pablo Ramírez Roca por su asesoramiento en la realización del presente estudio.

Al Dr. Hugo García y Dra. Silvia Rodríguez por las facilidades brindadas durante el desarrollo de este trabajo.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Cisticercosis del Instituto Nacional de Ciencia Neurológicas (INCN), quienes, de una u otra manera, contribuyeron valiosamente en la culminación de este trabajo.

<b>CONTENIDO</b>	<b>Páginas</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>V</b>
<b>LISTA DE TABLAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>IX</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENERALIDADES.....</b>	<b>3</b>
<b>3. HIPÓTESIS .....</b>	<b>25</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>32</b>
<b>7. DISCUSIÓN.....</b>	<b>45</b>
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>9. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>54</b>
<b>10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>63</b>

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1. Ciclo biológico de <i>T. solium</i>/<i>T. saginata</i> .....</b>	<b>5</b>
<b>Figura 2. Placa de ELISA-coproantígeno.....</b>	<b>10</b>
<b>Figura 3. Western Blot con el antígeno recombinante rES33.....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 4. Neurocisticercosis (con cisticercos calcificados).....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 5. Neurocisticercosis (con cisticercos viables) .....</b>	<b>18</b>

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla N° 1. Evaluación de la microscopía, coproantígeno y rES33 en pacientes que eliminaron <i>T. solium</i> y <i>T. saginata</i> .....</b>	33
<b>Tabla N° 2. Combinación de la microscopía, coproantígeno y rES33 en pacientes que eliminaron <i>T. solium</i> .....</b>	34
<b>Tabla N° 3: Evaluación de tres muestras de heces por microscopía y/o coproantígeno y rES33 en pacientes potadores de <i>T. solium</i> .....</b>	36
<b>Tabla N° 4: Evaluación de tres muestras de heces por microscopía y/o coproantígeno y rES33 en pacientes potadores de <i>T. saginata</i> .....</b>	38
<b>Tabla N° 5: Distribución de los casos de Teniasis por sexo .....</b>	39
<b>Tabla N° 6: Distribución de los casos de Teniasis por grupo étnico .....</b>	40
<b>Tabla N° 7: Neurocisticercosis en portadores de <i>T. solium</i> .....</b>	42
<b>por lugar de procedencia .....</b>	42
<b>Tabla N° 8: Neurocisticercosis (cisticercos viables) vs. Neurocisticercosis (cisticercis calcificados) en portadores de <i>T. solium</i> .....</b>	44

## ABREVIATURAS

TSET: Técnica de sedimentación espontánea en tubo

CoAg: Coproantígeno

WB: Western blot

EITB: Electro-Inmuno-Transferencia-Blot

SDS-PAGE: Sodium Dodecyl Sulfate– PolyAcrylamide  
Gel Electrophoresis

ELISA: Enzyme Linked Inmunosorbent Assay

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

TSES: antígeno excreción /secreción de *T. solium*

rES33: proteína recombinante de excreción /secreción 33

NCC: Neurocisticercosis

PBS: Phosphate-buffered saline.

IECN: Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas.

TAC: Tomografía axial computarizada.

RM: Resonancia magnética.

## RESUMEN

El hombre es el hospedero definitivo de la *Taenia solium*, céstodo zoonótico, y la única fuente de infección de la cisticercosis para los cerdos y los humanos. Las especies más comunes que afectan al hombre son *Taenia solium* y *Taenia saginata*, cuya distribución es cosmopolita. La detección de portadores humanos del gusano adulto constituye uno de los pilares fundamentales para la culminación del ciclo biológico. Las técnicas convencionales para el diagnóstico de portadores de *Taenia* sp se basan en el hallazgo de huevos en heces, el ELISA de captura (coproantígeno), y el diagnóstico serológico. **El objetivo** del trabajo fue evaluar los métodos diagnósticos para la teniasis intestinal en zonas endémicas del Perú. El estudio se llevó a cabo durante los años 1997 al 2009. La población de estudio consistió en 324 pacientes, que acudieron al IECN por sintomatología neurológica además de pacientes provenientes de estudios de campo, que eliminaron todos ellos *Taenia* sp, después de recibir tratamiento. **Resultados:** De los 324 pacientes, 299 eliminaron *T. solium* y 25 eliminaron *T. saginata*. De los pacientes que eliminaron *T. solium*, 60% (178/299) fueron de sexo femenino y 40% (121/299) fueron de sexo masculino. El 86% (259/299) de nuestros casos fueron diagnosticados por microscopia, y 95% (144/151) por coproantígeno. Así mismo, se obtuvo una muestra de suero por paciente la cual fue evaluada por Western blot con antígeno recombinante rES33, donde 99% (164/166) fueron positivos. De los pacientes que eliminaron *T. saginata*, el 100% (25/25) de los casos fueron positivos a microscopia, ninguno fue diagnosticado por coproantígeno. Así mismo ningún suero fue positivo al recombinante rES33 (0/20). El riesgo de adquirir neurocisticercosis (NCC) fue evaluado en 120 pacientes con teniasis confirmada por *T. solium*. **Conclusiones:** Se puede observar que hay una tendencia del sexo femenino a adquirir teniasis. El diagnóstico por coproantígeno ha demostrado detectar solamente casos de teniasis por *T. solium*, lo mismo que el recombinante rES33; probablemente la combinación de ambas pruebas mejore aun más la posibilidad de detección. Se encontró que el riesgo de adquirir NCC fue bajo en áreas no endémicas y que la NCC (cisticercos viables) fue encontrada sólo en pacientes sintomáticos y familiares.

Palabras claves: Coproantígeno, microscopía, Teniasis, Western blot.

## ABSTRACT

Man is the definitive host of *Taenia solium* tapeworm zoonotic, and the only source of infection of cysticercosis in pigs and humans. The most common species that affect humans are *Taenia solium* and *Taenia saginata*, whose distribution is cosmopolitan. Detection of human carriers of adult worms is one of the pillars for the breaking of the cycle. Conventional techniques for the diagnosis of carriers of *Taenia sp.* are based on finding eggs in feces, capture ELISA (coproantigen) and serological diagnosis. The **objective** was to evaluate diagnostic methods for intestinal taeniasis in endemic areas of Peru. The study was conducted during 1997 to 2009. The study population consisted of 324 patients who attended the IECN by neurological symptoms in addition to patients from field studies, which eliminated all *Taenia sp.* after treatment. **Results:** Of 324 patients, 299 eliminated *T. solium* and 25 eliminated *T. saginata*. Of the patients who eliminated *T. solium*, 60% (178/299) were female and 40% (121/299) were male. 86% (259/299) of our cases were diagnosed by microscopy, and 95% (144/151) for coproantigen. Likewise, we obtained a sample of patient's serum which was evaluated by Western blot with recombinant antigen rES33, where 99% (164/166) were positive. Of the patients who eliminated *T. saginata*, 100% (25/25) of cases were positive microscopy, none was diagnosed coproantigen. Likewise, no serum was positive recombinant rES33 (0 / 20). The risk of acquiring neurocysticercosis (NCC) was evaluated in 120 patients with confirmed taeniasis *T. solium*. **Conclusions:** We can see that there is a tendency of females to acquire taeniasis. Diagnostic coproantigen has shown only detect cases of taeniasis with *T. solium*, as well as the recombinant rES33, probably the combination of the two tests further improves the possibility of detection. It was found that the risk of acquiring NCC was low in non-endemic areas and that the NCC was found viable only in symptomatic patients and relatives.

Keywords: Coproantigen, microscopy, Taeniasis, Western blot.

## 1. INTRODUCCIÓN

Tres especies de *Taenia* afectan al hombre como hospedero definitivo: *T. saginata*, *T. solium*, y *T. asiatica*. Así, la teniasis es causada por la fase adulta de *T. solium* o *T. saginata*, mientras que la cisticercosis es consecuencia de la infección por el estadio larvario del parásito (cisticerco o metacestode) (Ferrer, 2006). La teniasis sólo afecta al humano ya que éste es el único hospedero definitivo del parásito, mientras que la cisticercosis ocurre en el animal (cerdo o bovino) como hospedero intermediario habitual. El cisticerco de *T. solium* (*Cisticercus cellulosae*) causa la cisticercosis porcina y humana, ya que el hombre también puede convertirse en hospedero intermediario accidental de *T. solium*; el cisticerco de *T. saginata* (*Cisticercus bovis*) provoca la cisticercosis bovina poco frecuente en el hombre (Flisser, 1987; White, 1997). La cisticercosis porcina es endémica en muchos países en vías de desarrollo presentándose particularmente en lugares donde la carne de cerdo se ingiere insuficientemente cocida, y en lugares donde las condiciones sanitarias permiten a los cerdos tener acceso a las heces humanas. El parásito es considerado de importancia médica y veterinaria causando morbi-mortalidad en humanos y produciendo pérdidas de los animales de consumo (García, 1996). La *T. saginata asiatica* afecta también a humanos (Eom, 1993; Fan, 1988) la cual tiene como hospedero intermediario al cerdo y animales silvestres (Hoberg, 2002), (Fan, 1988; Galán-Puchades, 2000; Hoberg, 2002). El estadio larval de *T. asiatica* (*Cisticercus viscerotropica*) en el cerdo muestra un marcado tropismo por el hígado por lo cual causa cisticercosis hepática en el hospedero intermediario (Eom, Rim, 1992).

Según la Organización Mundial de la Salud, en su IX revisión, la teniasis se describe: "infección por *Taenia solium* forma intestinal 123.0" (Rodríguez, 1996). El término "teniasis" debería ser reemplazado por "teniosis", dado que la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria y posteriormente la Federación Mundial de Parasitólogos sugieren que se uniformice la terminología de las parasitosis y que el nombre de ésta se conformara por el género del parásito y la terminación "osis" en todos los casos. La raíz griega "isis" en su significado, puede asimilarse al efecto de daño, lesión o dolencia y la raíz griega "osis", puede asimilarse a la situación de parasitado o portador, que puede llegar a daño (Flisser *et al.*, 1997; Náquira C., 2005).

Dentro del ciclo biológico del parásito el portador humano es considerado el más importante en la propagación de la enfermedad y en la transmisión de la cisticercosis tanto animal como humana. La detección de portadores humanos de la forma adulta de *T. solium* constituye uno de los pilares fundamentales para la culminación del ciclo biológico, siendo un problema de salud pública que no solo afecta a áreas endémicas, puesto que se ha observado un número creciente de casos en otras zonas geográficas.

Actualmente la utilización de la técnicas moleculares está contribuyendo grandemente en el conocimiento de la magnitud del problema de la teniasis intestinal ya que ha mejorado la detección especie-específica de los portadores de *Taenia* sp pero tiene el inconveniente de requerir el material parasitario, esta desventaja ha sido superada por el inmunodiagnóstico de teniasis/cisticercosis basado en coproantígeno (Allan *et al.*, 1990) y antígenos recombinantes (Levine *et al.*, 2007), sin embargo hacen falta más estudios para completar la evaluación de estas nuevas herramientas y su aplicación en el diagnóstico de la enfermedad.

El presente trabajo de investigación es un estudio descriptivo analítico, longitudinal del estado de la teniasis intestinal en el Perú, durante el periodo de 1997 al 2009, a partir de la base de datos seleccionada y proporcionada por la Unidad de Cisticercosis del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (IECN).

El objetivo principal de la tesis fue evaluar los métodos existentes de diagnóstico en pacientes que eliminaron el céstodo después de tratamiento. Fueron analizadas las siguientes variables:

1. Microscopía
2. Coproantígeno
3. Antígeno recombinante rES33
4. Edad
5. Sexo
6. Neurocisticercosis (NCC) en portadores de *T. solium*.

## 2. GENERALIDADES

### 2.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

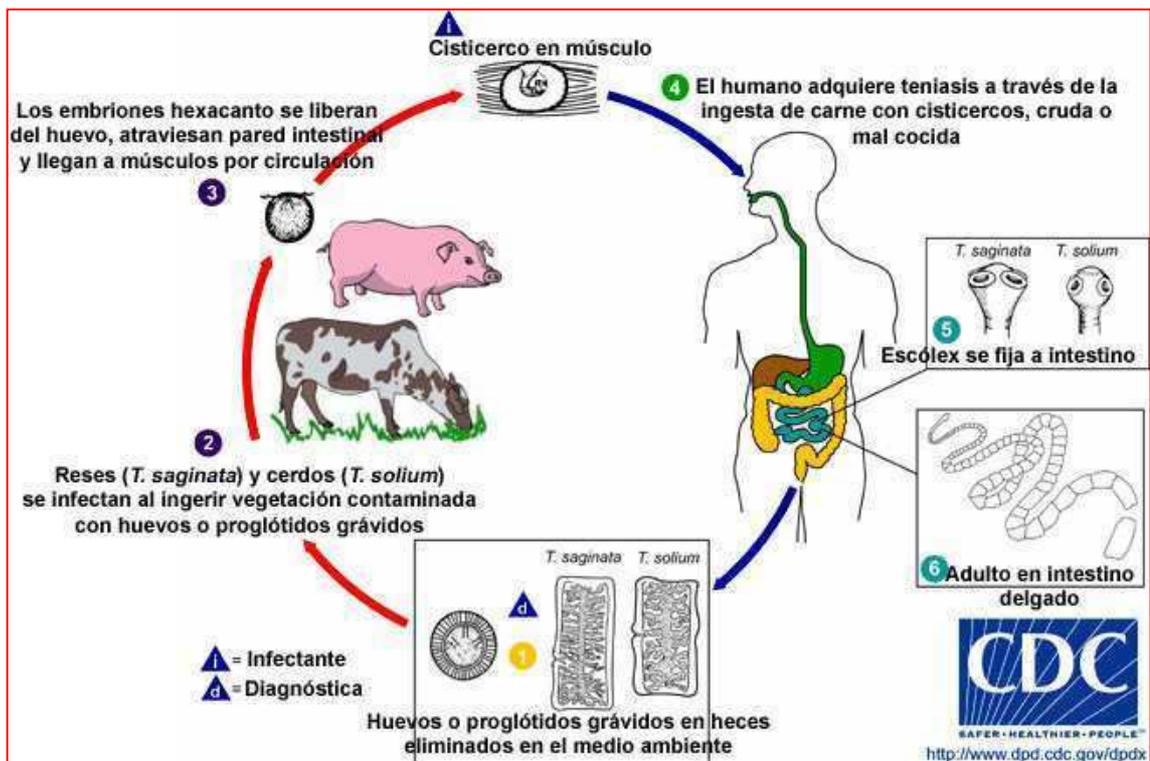
La clasificación taxonómica se muestra de la siguiente manera:

- Phylum: Platyhelminthes
- Subphylum: Neodermata
- Clase: Cestoidea
- Subclase: Eucestoda
- Orden: Cyclophyllidea
- Familia: Taeniidae
- Género: *Taenia*
- Especie: *Taenia solium*, *Taenia saginata* (Botero, 2003; Flisser *et al.*, 1997; García-Albea, 1991).

### 2.2 CICLO BIOLÓGICO

El ciclo de vida involucra a dos hospederos (Figura 1). La teniasis intestinal se desarrolla cuando el hombre (hospedero definitivo) ingiere la carne de cerdo o bovino infectada con cisticercos. El cisticerco llega al intestino y se digiere la membrana que lo cubre, quedando libre el escólex el que se fija a la mucosa intestinal mediante las ventosas y rostelo (*T. solium*), desarrollando una cadena de proglótidos que darán lugar al parásito adulto en aproximadamente tres meses después de la infección (Silverman, 1954), pudiendo permanecer en el intestino durante años. Existe información de casos en Europa que mencionan hasta 15 años (Aluja *et al.*, 2006). Sin embargo, algunas observaciones en México hablan de un lapso de vida mucho más corto (Aluja *et al.*, 2006). Los huevos en gran número (hasta 50,000) que pueden permanecer viables en el medio ambiente hasta por 60 días (Mehlhorn, 1993). Para la infección con *T. solium*, el cerdo actúa como hospedero intermediario habitual de la larva cisticerco, y debido a sus hábitos coprofágicos, ingiere cientos de estos huevos infectándose (cisticercosis animal) (Gonzalez *et al.*, 2005).

La oncósfera se disemina por vía sanguínea e invade preferentemente el tejido conjuntivo interfascicular de los músculos, sistema nervioso y el ojo, hasta formar después de tres meses la larva cisticerco (García *et al.*, 1993; Yoshino, 1933). Solamente el humano es el hospedero definitivo habitual de *T. solium*; se han podido obtener gusanos inmaduros en roedores como hámster dorado (*Mesocricetus auratus*), gerbils, chinchillas (*Chinchilla laginer*), y gibbon (*Hylobates lar*) previa inmunosupresión del animal (Cadigan *et al.*, 1967; García *et al.*, 2003; Maravilla *et al.*, 1998).



**Figura 1. Ciclo biológico de *T. solium*/*T. saginata*.** Los seres humanos son los únicos hospederos definitivos de *T. solium* y *T. saginata* (teniasis). El ganado vacuno (*T. saginata*) y cerdos (*T. solium*) se infectan al ingerir vegetales contaminados con huevos o proglótidos grávidos siendo los hospederos intermediarios habituales (cisticercosis) (Traducido por <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/espagnol>).

## 2.3 MORFOLOGÍA DEL PARÁSITO

### 2.3.1 ESTRÓBILA

La *Taenia* presenta una cabeza o escólex, formado por cuatro ventosas y 22-32 ganchos, distribuidos alternadamente sobre un rostelo (*T. solium*) (Yoshino, 1933), constituyendo sus órganos de fijación a la mucosa intestinal, ausente en *T. saginata* que solo presenta cuatro ventosas; un cuello corto y delgado que constituye la porción de mayor actividad biosintética pues a partir de aquí se van a ir formando los proglótidos y el cuerpo o estróbilo de color blanco-marfil, que es la porción más larga del parásito y está formado por cientos de proglótidos, divididos en inmaduros, maduros y grávidos. La longitud de la *T. solium* es de 2 a 4 metros a diferencia de *T. saginata* que puede medir de 4 a 12 metros (Náquira C, 1999a; Náquira C., 1999b; Nieves *et al.*, 2005).

### 2.3.2 HUEVO

Los huevos son morfológicamente indistinguibles de otras especies de ténidos e idénticos a los de *T. saginata* incluyendo la subespecie *T. saginata asiática*. Los huevos son esféricos de color amarillo-pardo-marrón, miden aproximadamente entre 35 a 50  $\mu\text{m}$ , y tienen apariencia radiada cuando se observan bajo el microscopio de luz. El embrióforo está formado por una cubierta de bloques embriofóricos unidos por una proteína cementante que le dan al huevo una apariencia física radiada unidos de manera contigua (Flisser *et al.*, 1997; García *et al.*, 2001; Laclette *et al.*, 1982; Yoshino, 1933). Los huevos contenidos en los proglótidos grávidos tienen diferente grado de maduración; alrededor del 50% de los huevos contienen oncósferas infectivas totalmente desarrolladas (Aluja *et al.*, 2006).

### 2.3.3 CISTICERCO

*Cisticercus cellulosae*, forma larvaria de *T. solium*, está formado por una vesícula ovalada y translúcida llena de líquido vesicular (de 0.5 a 2 cm. de diámetro mayor) presenta un escólex invaginado provisto de rostelo y ganchos (Flisser *et al.*, 1997; Yoshino, 1933). En un corte histológico podemos distinguir el tegumento del

parásito, canal espiral, canal de entrada, vestíbulo, y cápsula del hospedero (Aluja *et al.*, 2006; Cox, 2002; Flisser *et al.*, 1997).

## **2.4 DIAGNÓSTICO DE TENIASIS INTESTINAL**

### **2.4.1 MICROSCOPIA**

El diagnóstico de teniasis se realiza por técnicas coproparasitológicas tradicionales, las cuales no han sufrido modificaciones a pesar de su baja sensibilidad, esto debido principalmente a factores biológicos del parásito y a la falta de experiencia para poder identificar los huevos de *Taenia* sp. El diagnóstico de teniasis comprende: observación de proglótidos, escólex o huevos en materia fecal, con técnicas de laboratorio como el examen directo simple (suero fisiológico o lugol), y técnicas de concentración: flotación con sulfato de zinc, método de Ritchie, técnicas de cuantificación por Kato-Katz; la técnica de Graham, así como la sedimentación simple y cualquier otro método que demuestre una alta sensibilidad y especificidad (Nieves *et al.*, 2005; OPS, 1993; Pawlowski, 1972; Rodríguez, 1996; Tello, 2000).

La microscopía directa es el método más utilizado y disponible en los laboratorios, con la desventaja de presentar una baja sensibilidad (Pajuelo-Camacho *et al.*, 2006). Tradicionalmente, se descubre al portador de *Taenia* cuando éste expulsa proglótidos o cuando el examen microscópico resulta positivo a huevos del parásito, siendo la técnica más usada en estudios de campo reportándose sensibilidades entre 38%, 50% y 78% (Allan *et al.*, 1996b; Schantz, 1989). Se ha publicado una técnica de histología básica con coloración hematoxilina-eosina en secciones histológicas de proglótidos que permiten el diagnóstico de especie (Mayta *et al.*, 2000; Meza-Lucas, 2002).

La técnica de sedimentación espontánea en tubo (TSET) descrita por Tello *et al.*, 2000, tiene como fundamento la sedimentación espontánea en solución salina fisiológica tanto de protozoarios como de helmintos, y ha demostrado tener un alto rendimiento en el diagnóstico de helmintos y ser adaptable fácilmente tanto en comunidades rurales y urbanas (Lau Chong *et al.*, 2005; Maco *et al.*, 2002; Pajuelo-Camacho *et al.*, 2006; Tello, 2000).

## 2.4. 2 COPROANTÍGENO

Los coproantígenos son productos específicos de un parásito que se eliminan en las heces del paciente y que son susceptibles de su detección por técnicas inmunológicas, como por ejemplo ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) (Allan *et al.*, 2003; Ubeira *et al.*, 2009). La inmunodetección de coproantígeno se basa en el empleo de anticuerpos, monoclonales o policlonales, que reconocen específicamente los productos eliminados (secreción, superficie o somáticos (Allan *et al.*, 2003; Maass *et al.*, 1991; Valero *et al.*, 2009) por los parásitos que invaden el intestino y órganos anexos del hombre (Allan, 2006). Se han desarrollado métodos de coproantígeno para el diagnóstico tanto de protozoos como de helmintos (Fuentes *et al.*, 2010).

Brevemente, inicialmente los anticuerpos preparados contra las moléculas del parásito a diagnosticar se inmovilizan sobre un soporte sólido, con frecuencia placas de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), membranas inmunocromatográficas y otros materiales inertes. Después, los soportes sensibilizados se incuban con muestras diluidas de las heces sospechosas (Maass *et al.*, 1991). Por último, los complejos inmunes se detectan con el mismo anticuerpo empleado en un principio o con otro de especificidad semejante, o distinta, al previamente utilizado (Allan *et al.*, 1990).

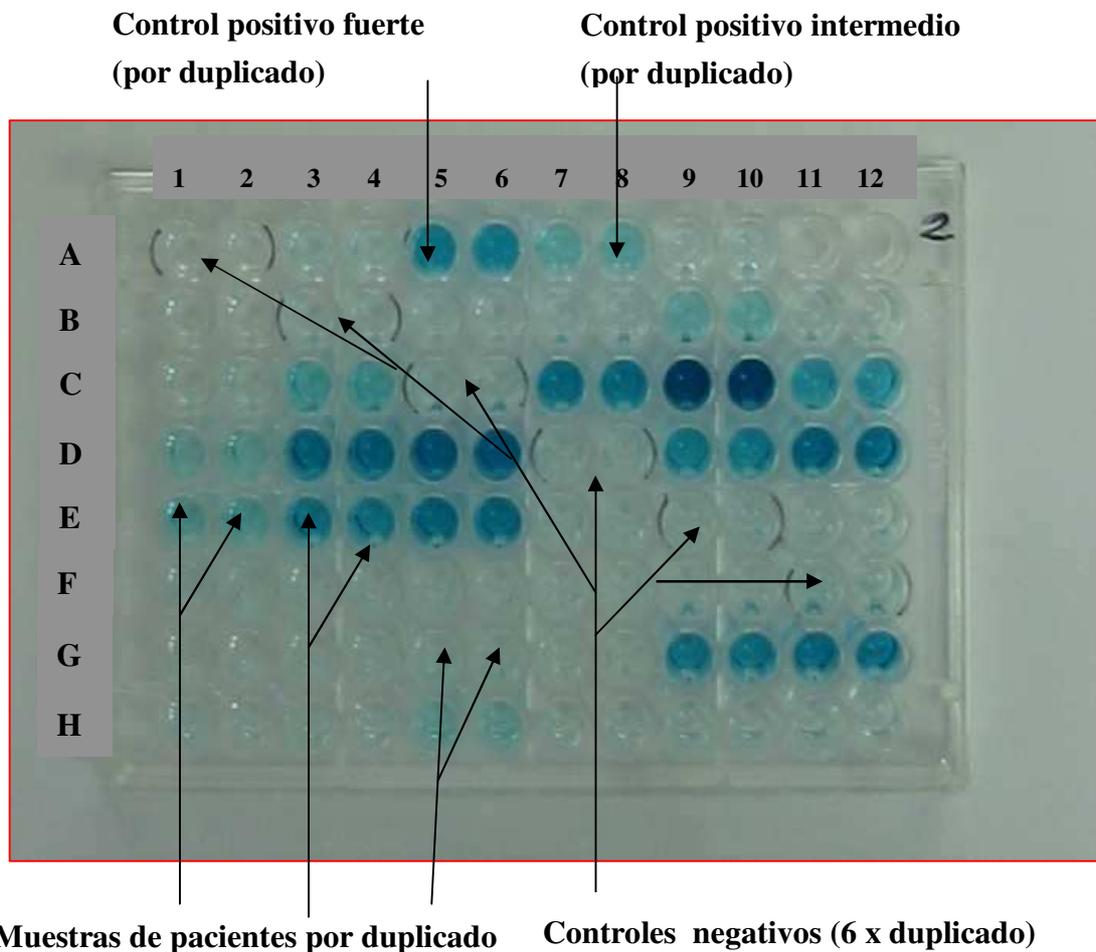
Con respecto a *Taenia*, la eliminación de productos de excreción-secreción, del parásito adulto con capacidad antigénica en las heces (coproantígeno), han sido detectados con anticuerpos policlonales específicos (producidos en conejos), mediante un ELISA de captura; todo esto obtenido a partir del modelo experimental de teniasis en el hámster dorado (Allan *et al.*, 1990).

Las ventajas del coproantígeno en el diagnóstico parasitológico son: *a)* la mayoría de las pruebas muestran una buena sensibilidad y especificidad; *b)* no requiere personal técnico experimentado para su ejecución; *c)* es un diagnóstico rápido, de fácil interpretación y que posibilita el manejo de gran número de muestras, en estudios de campo; *d)* habitualmente, no encontrarlos en las heces se relaciona con la eliminación del parásito mediante una tratamiento eficaz; *e)* conduce a la diferenciación entre infecciones pasadas y recientes, y *f)* permite, en algunos casos, la distinción de especies. Como desventaja tenemos el mayor costo de los reactivos, la obligación de emplear heces recientes o congeladas en la

mayoría de los ensayos comercializados y, en ocasiones, la necesidad de examinar más de una muestra para conseguir un resultado concluyente, y sobre todo que el paciente esté dispuesto a coleccionar la muestra (Fuentes *et al.*, 2010).

En el caso de *Taenia*, este método tiene la ventaja de no requerir mayores cuidados para el transporte, almacenamiento y procesamiento de las muestras. Los coproantígenos son estables durante días en muestras fecales no fijadas a temperatura ambiente, y durante periodos muy largos (meses o años) en muestras congeladas o fijadas con formalina 5% a temperatura ambiente (Allan, 2006).

El coproantígeno para *Taenia* ha mejorado el diagnóstico en cuanto a su sensibilidad, aumentándolo a más de 90%, no dando reactividad cruzada con heces de individuos sanos o de aquéllos infectados con *Hymenolepis nana* (Allan, 2006; Allan *et al.*, 1993; Allan *et al.*, 2003; Guezala *et al.*, 2009).



**Figura 2. Placa de ELISA - coproantígeno.** Los pocillos positivos presentan coloración azul y los pocillos negativos color transparente. En diagonal se encuentran los controles negativos (6) y en la fila A el control positivo fuerte (por duplicado) y el control positivo intermedio (por duplicado). Estos resultados fueron obtenidos en el Laboratorio de Cisticercosis-INCEN.

### 4.3 ELECTROIMMUNOTRANSFERENCIA (EITB)

El Western Blot es una técnica que combina el gran poder de resolución del SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate–PolyAcrylamide Gel Electrophoresis) y la gran sensibilidad del ELISA (Enzyme Linked Inmunosorbent Assay) para producir una herramienta extremadamente poderosa para el estudio de la combinación antígeno-anticuerpo (Towbin *et al.*, 1979; Tsang, 1987; Tsang *et al.*, 1985; Tsang *et al.*, 1991; Tsang *et al.*, 1989; Tsang *et al.*, 1983). El método consta de 3 etapas: Electroforesis, transferencia y blot (Tsang *et al.*, 1983). Trabajar con las proteínas fijadas sobre una membrana tiene ventajas sobre emplearlas dentro del propio gel ya que son más rápidas de teñir, se detectan cantidades pequeñas, las membranas son mucho más fáciles de manipular que el propio gel, y presenta alta especificidad. Como desventajas tenemos que requiere de una intensa y delicada labor que puede durar varios días. Los resultados necesitan ser interpretados usando un criterio estricto ya que se basa en la observación de bandas coloreadas (Yábar, 2003).

El diagnóstico serológico de la infección por teniasis está basado en la búsqueda de anticuerpos específicos. En 1999 Willkins *et al.*, desarrollaron la primera herramienta para la detección serológica de teniasis. Esta prueba detectó anticuerpos en sueros de pacientes teniásicos, utilizando antígenos del gusano cultivado *in vitro*, estas proteínas fueron denominadas antígenos de excreción /secreción de *T. solium* (TSES). Se encontraron dos antígenos específicos de excreción /secreción de *T. solium*, cuyos pesos moleculares fueron de 33 kDa y 38 kDa respectivamente, presentes en los sobrenadantes de los cultivos del parásito (Wilkins *et al.*, 1999) (Figura 3).

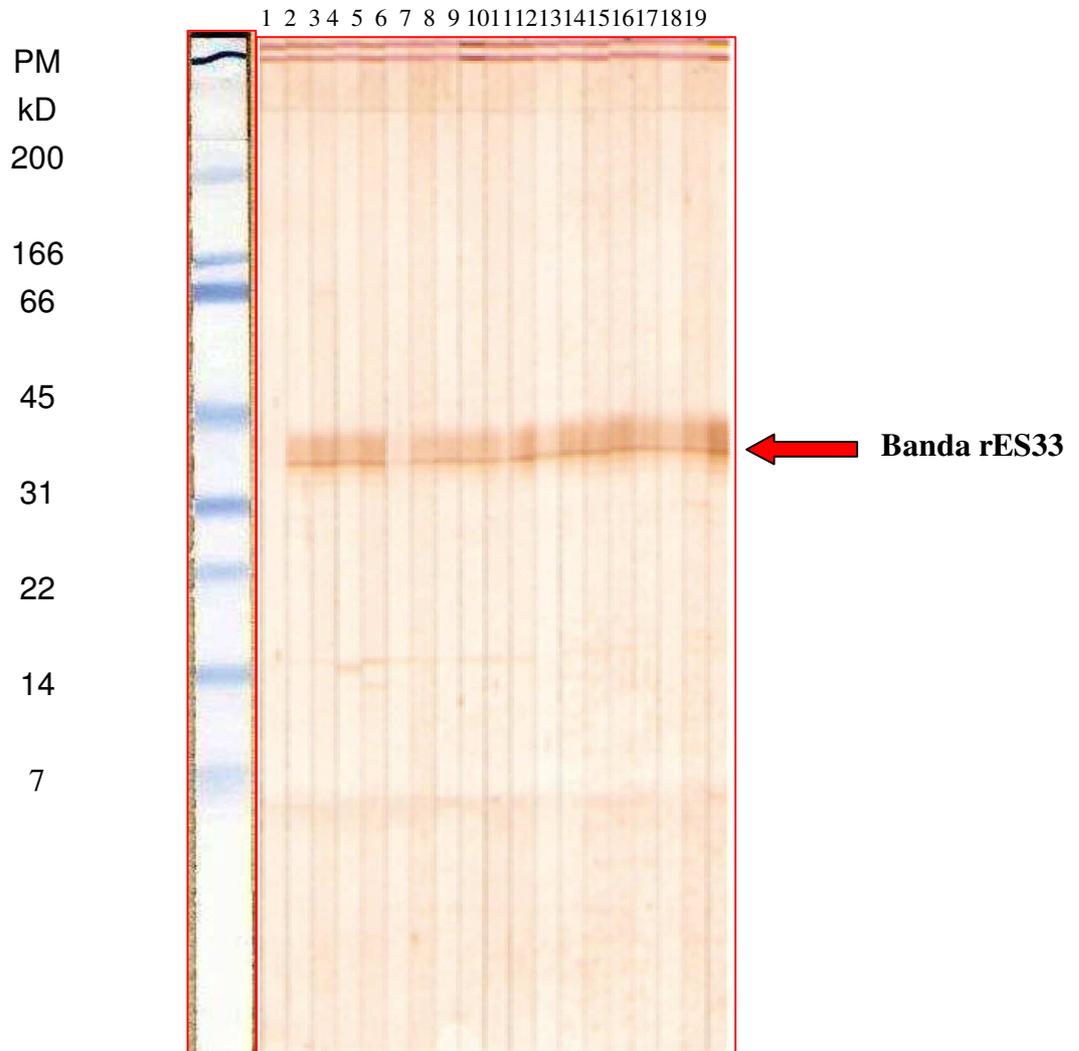
#### 2.4.4 PROTEÍNAS RECOMBINANTES

Siendo los antígenos recombinantes específicos una alternativa para el diagnóstico de la enfermedad, se logró reemplazar los antígenos nativos (TSES: proteína de excreción /secreción de *T. solium* de 33 kDa y 38 kDa), por proteínas recombinantes. El antígeno nativo TSES 33 para el diagnóstico de teniasis fue caracterizada, y el gen que la codifica fue clonado y expresado en el sistema Baculovirus, para producir la proteína en su forma recombinante (Levine *et al.*, 2004).

#### **2.4.5 TÉCNICAS MOLECULARES**

Se trata de protocolos de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) basados en el estudio de la secuencia del DNA del parásito, utilizando segmentos génicos como del 5.8S RNA ribosomal, marcadores oligonucleótidos específicos de cada especie e inclusive el segmento del gen 12S rDNA mitocondrial, mediante los cuales se pueden hacer estudios comparativos entre *T. solium* y *T. saginata* convirtiéndose éste en un método rápido, sensible y específico.

Sin embargo, este ensayo requiere equipo sofisticado, reactivos caros y sobre todo contar con el material parasitario (González *et al.*, 2000; Mayta *et al.*, 2000; Rodríguez, 2001).



**Figura 3. Western Blot con el antígeno recombinante rES33.** Se muestra el blot del rES33 a una concentración de 0.3 g/mm en un gel de gradiente 5-22.5% en SDS PAGE y transferidos a una membrana de nitrocelulosa. Las tiras con el antígeno se cortaron a 3 mm de ancho, cada tira se incubó con el suero de cada paciente a una dilución 1:50. Las tiras 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 son sueros positivos al rES33 (como se indica en la flecha). Las tira 1 es negativa al rES33. Estos resultados fueron obtenidos en el Laboratorio de Cisticercosis-INCN.

## **2.5 CISTICERCOSIS HUMANA**

La cisticercosis es una enfermedad grave. El hombre puede albergar desde un cisticerco a varios centenares. La localización de mayor frecuencia es el sistema nervioso central (SNC) o neurocisticercosis (NCC) y, en segundo lugar, la del ojo (cisticercosis ocular). La sintomatología de la NCC varía con el número de cisticercos; su estado de desarrollo (jóvenes, maduros, intactos, degenerados); su variedad morfológica (vesiculosa o racemosa); su ubicación en el SNC; la respuesta inflamatoria que despierte y las reacciones que produzca en el paciente (Correa, 1991; García, 1996; García *et al.*, 2003). El 40% de cisticercosis humana tiene localización cerebral. Se presenta habitualmente en adultos jóvenes, con cierta predominancia discreta en el sexo masculino. Las edades de mayor prevalencia se sitúan entre los 20 y 40 años (80% de los casos) (Escalante, 1973a; Escalante, 1977b; Escalante, 1977c). Los exámenes de ayuda al diagnóstico como la tomografía axial computarizada (TAC) (Dávila *et al.*, 2002; Loo, 1982; Sotelo *et al.*, 1985) y la resonancia magnética (RM) están permitiendo realizar un mejor diagnóstico. La técnica de Western Blot (WB) ha demostrado ser sensible, específica y reproducible constituyendo la prueba de inmunodiagnóstico de elección para confirmar un diagnóstico presuntivo clínico y radiológico de neurocisticercosis (Grisolia, 1982; Shanley, 1980).

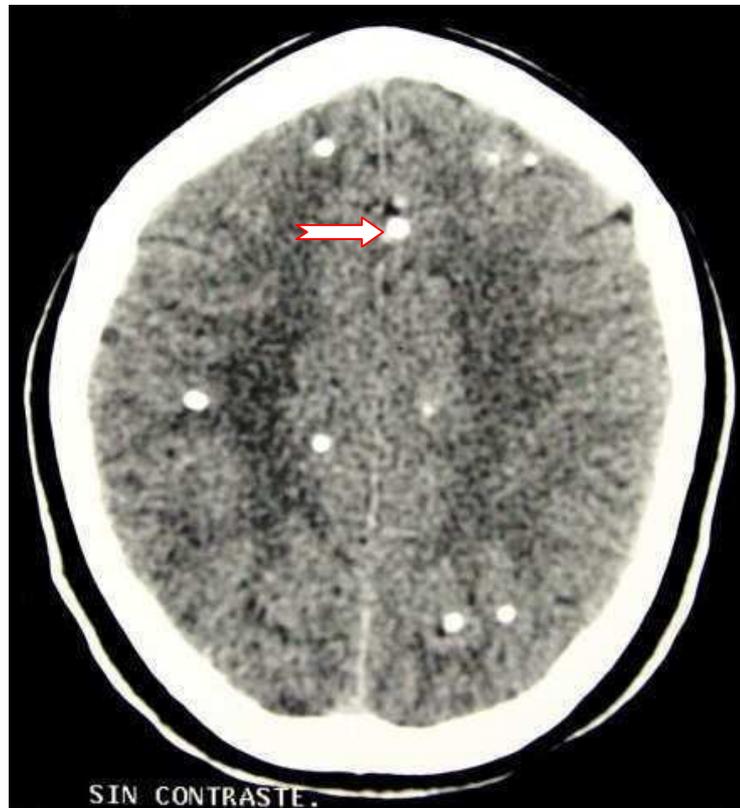
### **2.5.1 DIAGNÓSTICO DE NCC POR IMÁGENES**

En la actualidad, el diagnóstico radiológico de la NCC depende de la tomografía axial computarizada (TAC) y de la resonancia magnética (RM) que permiten visualizar la localización, el número y el estadio evolutivo de los parásitos. (Larralde, 2006). Esta herramienta ha permitido obtener información epidemiológica en condiciones de campo (García, 1997; García, 1999).

### **2.5.2 TOMOGRAFÍA AXIAL COMPUTARIZADA (TAC)**

La Tomografía Axial Computarizada (TAC) utiliza la emisión dirigida de rayos X sobre un cuerpo donde las diferencias de absorción dadas por cada tejido son interpretadas en una computadora y convertidas luego en imagen. La TAC representa un procedimiento no invasivo y tiene una alta sensibilidad y capacidad

para exponer los tejidos blandos intracraneales y el sistema ventricular (Baker *et al.*, 1974; Takayanagui, 1983). La TAC fue desarrollada por Hounsfield, y utilizada desde 1972 en Inglaterra, mostrando claras ventajas sobre los métodos ya existentes (Baker *et al.*, 1974). El uso de la TAC, modificó sustancialmente el panorama de la neuroradiología, convirtiéndose rápidamente en la prueba de elección para el diagnóstico, evolución y pronóstico de gran parte de la patología neurológica (Baker *et al.*, 1974; Takayanagui, 1983). Su uso en NCC fue reportado desde 1977 (Carbajal *et al.*, 1977) y constituye probablemente junto con el praziquantel como la primera quimioterapia específica exitosa. En el diagnóstico de NCC, se estima que la sensibilidad y especificidad de la TAC supera el 95% (Carbajal *et al.*, 1977; Nash, 1984). Para el diagnóstico de la neurocisticercosis la TAC considera la clínica y la epidemiología (Del Brutto *et al.*, 1996; Escalante, 1996d).

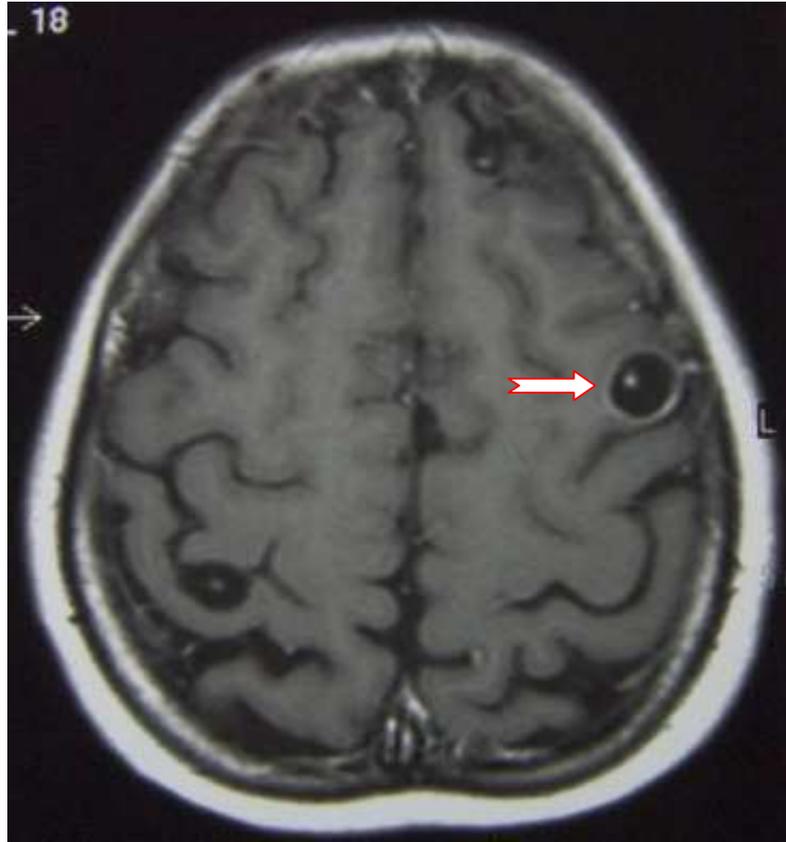


**Figura 4. Neurocisticercosis (con cisticercos calcificados).** La Tomografía Axial Computarizada (TAC), es un método no invasivo que permite obtener imágenes de quistes calcificados (flecha). Cortesía del Dr. Héctor Hugo García (Laboratorio de Cisticercosis-INCEN).

### **2.5.3 RESONANCIA MAGNÉTICA (RM)**

La Resonancia Magnética (RM) ha sido usada desde inicios de los años 80, es el estudio más sensible para el diagnóstico de las formas vesiculares y coloidales. Las principales ventajas de la RM sobre la TAC son: una mejor definición de la fosa posterior, de la base del cráneo y de los ventrículos, así como una mayor capacidad para precisar la localización subaracnoidea o parenquimatosa de los quistes localizados en la convexidad. Otra ventaja es que, contrariamente a la TAC, mediante este procedimiento el paciente no recibirá radiaciones.

Su problema radica en el diagnóstico de la forma calcificada que es difícil de discernir en este estudio a diferencia de lo que sucede en la tomografía (Do Amaral *et al.*, 2005; Larralde, 2006; Martínez *et al.*, 1989). Las calcificaciones se aprecian mejor en la TAC (Martínez *et al.*, 1989).



**Figura 5. Neurocisticercosis (con cisticercos viables).** La Resonancia magnética (RM), contrariamente a la TAC, el paciente no recibirá radiaciones. Permite obtener imágenes de quistes viables (parásitos vivos), (flecha). Cortesía del Dr. Héctor Hugo García (Laboratorio de Cisticercosis-INCEN).

## 2.4 TENIASIS Y NEUROCISTICERCOSIS (NCC)

Ser portador de una tenia aumenta la posibilidad de adquirir cisticercosis o NCC. (Pawlowski, 2002), sugirió que entre el 5% al 40% de portadores de *T. solium* desarrollaban cisticercosis. En diversos estudios, el examen de heces en la búsqueda de portadores de *Taenia* sp., reportaron porcentajes de 1% y 5% en pacientes con NCC (Arseni, 1957; Dixon, 1944; Grisolia, 1982; Loo, 1982; McCormick *et al.*, 1982; Schenone *et al.*, 1973; Shanley, 1980; Takayanagui, 1983).

Se encontró teniasis hasta en 16% de pacientes con NCC, incrementándose en aquellos pacientes con gran cantidad de quistes en el cerebro (Gilman *et al.*, 2000).

## 2.5 EPIDEMIOLOGÍA

La teniasis por *T. solium* es una zoonosis cuyas tasas de prevalencia varían de 0.5% a 1.5% en función de diversos factores socio-económicos y culturales (Allan *et al.*, 2003; Escalante *et al.*, 2001; García-Noval *et al.*, 1996; García, 1996; Martínez-Maya *et al.*, 2003; Rodríguez, 1996; Sarti, 1997; Schantz *et al.*, 2000; Schantz, 1989).

El comportamiento humano resulta fundamental para la persistencia de la enfermedad, ya que la contaminación con heces humanas de los terrenos posibilita la infección de los animales, y el hábito de ingerir carne cruda o poco cocinada con la larva cierra el ciclo permitiendo la infección humana por tenias adultas. La teniasis humana constituye un problema de salud pública que afecta a áreas endémicas (Flisser *et al.*, 1997; García, 1996; Nieves *et al.*, 2005).

Un estudio epidemiológico en Perú demostró, usando técnicas estándares, que no era posible probar la contaminación del ambiente con huevos de *T. solium* (Díaz *et al.*, 1992). La distribución geográfica del complejo teniasis-cisticercosis es amplia y abarca México, Guatemala, Honduras, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, Península Ibérica, Países Eslavos, África meridional, Sudeste Asiático, India y China. Presente, pero con transmisión esporádica, en Argentina, Chile, Costa Rica, Haití, Panamá, República Dominicana y Venezuela; la infección se ha incrementado en países industrializados, como en los Estados Unidos, debido a la

migración de portadores de *T. solium* desde zonas endémicas (Flisser *et al.*, 1997; García *et al.*, 2003; Nieves *et al.*, 2005).

## 2.6 PREVALENCIA DE TENIASIS

La prevalencia de teniasis en zonas endémicas es considerada baja, y en lugares con prevalencias mayores al 1 % son consideradas hiperendémicas a esta enfermedad (Náquira C., 1999b).

En un estudio realizado en trabajadoras del hogar en zonas residenciales de Lima, se reportó una prevalencia de teniasis para *T. solium* del 1,2% diagnosticadas por microscopía y coproantígeno (Huisa *et al.*, 2005). En otros reportes realizados en nueve poblaciones de distintas localidades en Perú durante los años 2000 al 2002, se encontró una prevalencia, del 0,39% de *Taenia* sp., evaluado solamente por microscopía (Marcos *et al.*, 2003).

En Latinoamérica, son muchos los lugares donde la infección por *T. solium* es endémica. García-Noval *et al.*, 1996, realizaron un estudio en El Jocote y Quesada, dos localidades en Guatemala, donde se recolectaron y analizaron también muestras de heces mediante microscopía y coproantígeno. Se obtuvieron prevalencias del 2,8% y del 1,0% en El Jocote y Quesada respectivamente. Esas cifras están dentro del intervalo usualmente informado en otros estudios latinoamericanos. En otro estudio realizado en Guatemala, se encontró una prevalencia de 2,7% en cuatro comunidades, donde 98% de las tenias correspondieron a *T. solium* (Allan *et al.*, 1996a).

Los estudios de teniasis realizados en México, provienen de publicaciones científicas y de estadísticas oficiales, donde la prevalencia de *T. solium* varían entre 0,2 a 3,4% (Sarti, 1997). En comunidades mexicanas se reportaron prevalencias de 1,2%, coincidiendo con variaciones entre 0,5% a 1%, determinado por microscopía y coproantígeno (Allan *et al.*, 1996a; Martínez-Maya *et al.*, 2003; Sarti *et al.*, 1992). Se mencionan reportes de prevalencia entre 0,5% y 6%, en donde no diferenciaron la especie (Martínez-Maya *et al.*, 2003; Sarti, 1989). En el mismo país, también se encontró que la prevalencia de teniasis disminuyó de 0,8% a 0,5% después de aplicar un programa de salud educacional de re-tratamiento (Martínez-Maya *et al.*, 2003; Sarti, 1997).

En México durante los años 1986 a 1990 se han notificado alrededor de

13,000 casos anuales de teniasis (Sarti, 1997). En nuestro estudio se han reportado 324 casos de teniasis durante los años 1997 al 2009, número bastante inferior a lo reportado en México.

En Ecuador los reportes de prevalencia de teniasis datan desde 1984 (Cruz *et al.*, 1990) encontrándose que ésta fluctúa entre 0,03 y 3,23%, y en 1990, estudios realizados en las provincias de Loja y El Oro, al sur de Ecuador, han reportado prevalencias de 1,6%, mencionándose también que a mayor edad, mayor es la probabilidad de ser un portador, siendo el sexo femenino (1,9%) el más predispuesto que el masculino (1,2%).

Si bien *T. solium* está ampliamente distribuida en los países de América Latina, el ciclo epidemiológico se presenta con más frecuencia en medios de bajo nivel socioeconómico, higiene inadecuada y condiciones sanitarias deficientes, o donde se emplean métodos primitivos de crianza de cerdo que permiten a los animales tener contacto con heces humanas (Pawlowski, 2006; Pawlowski *et al.*, 2005).

En la prevalencia de la teniasis el factor sociocultural juega un papel importante. En un estudio realizado en la India en comunidades agrícolas la prevalencia de teniasis por *T. solium* fue de 18,6% (172/924) donde los factores asociados a la teniasis en el análisis multivariado fueron: edad mayor de 15 años, expulsión en las heces de segmentos de *Taenia*, el consumo de cerdo y la deficiente higiene de manos (lavarse las manos con barro y agua después de defecar) (Prasad *et al.*, 2007).

La idea de que la prevalencia de teniasis intestinal es baja en la mayoría de países endémicos, en comparación a la prevalencia de cisticercosis, es debido a la manera de adquirir estas infecciones (De Kaminsky, 1991b; García-Noval *et al.*, 1996; Sarti *et al.*, 1992; Sarti *et al.*, 1994).

## **2.7 SÍNTOMAS**

Los síntomas de teniasis son en general trastornos intestinales asintomáticos, aunque puede aparecer malestar abdominal (meteorismo y plenitud intestinal), sensación de hambre, náuseas y diarrea. Es bastante frecuente detectar una eosinofilia moderada en sangre periférica, mayor al 13% (Bolívar Jiménez, 1976; García, 1996).

## 2.8 TRATAMIENTO

El tratamiento se realiza con niclosamida, polvo amarillento, no soluble en agua. Después de la ingestión de la droga, la molécula es pobremente absorbida por el organismo (Pawlowski, 1972). La Niclosamida (N-[2'-chloro-4'-nitrophenyl]-5-chlorosalicylamide) es un salicilanide halogenado, que fue patentado por Bayer AG en 1959 (Hecht, 1960). La acción antihelmíntica de la niclosamida no ha sido completamente definida, pero se cree que actúa a través de la inhibición de la fosforilación oxidativa o mediante la estimulación de la ATPasa, desprendiendo y eliminando al gusano de la pared intestinal, a veces fragmentado por la acción enzimática intestinal. Esta droga es activa frente a una gran variedad de cestodos intestinales del hombre considerando a *T. solium*, *T. saginata*, *Hymenolepis nana*, *Diphyllobothrium pacificum* (Baker *et al.*, 1974; Pearson, 1985).

Generalmente se ha considerado la eliminación del escólex después del tratamiento como un indicador muy específico del éxito del tratamiento (Gilman *et al.*, 2000). La evaluación de la eficacia del tratamiento por este antihelmíntico tiene algunos inconvenientes ya que supone la experiencia y disponibilidad de personal altamente entrenado en la búsqueda del escólex, lo cual no es siempre factible, así como de métodos diagnósticos que nos permitan confirmar mediante el seguimiento coprológico el éxito del tratamiento. Un estudio reciente en una serie de 68 pacientes teniásicos, muestra que la visualización del escólex pos-tratamiento en condiciones ideales se da en menos del 40%, y el 20% de estos pacientes eliminaron dos o más escólex (Jeri *et al.*, 2004). Así, la posibilidad de la existencia de más de una tenia implica que el hallazgo del escólex pos-tratamiento no siempre garantiza la eficacia del tratamiento.

Hay pacientes teniásicos que clínicamente presentan neurocisticercosis (NCC) y por su enfermedad necesitan ser tratados con albendazol. Este antihelmíntico a diferencia de la niclosamida no es muy eficaz en el tratamiento de la teniasis. El albendazol resulta más eficaz para los tratamientos de la NCC, causada por la infección de *T. solium* (García *et al.*, 2000). En un estudio realizado en China a portadores de *Taenia*, se les administro diferentes dosis de albendazol y lo que se observó fue que después de un seguimiento de 7 a 15 días los pacientes seguían expulsando proglótidos, y en donde el 79% de pacientes no se curó (Chung *et al.*, 1991).

El efecto antihelmíntico del albendazol se debe a la inhibición de la polimerización de la tubulina, lo que causa la interrupción del metabolismo en el helminto, disminución de energía, que inmoviliza y mata al gusano sensible, adicionalmente la acción de los jugos intestinales ayuda a la desintegración del gusano, siendo difícil encontrarlo en el tamizaje de las heces. En los casos donde se administre albendazol al paciente se recomienda que éste permanezca hospitalizado, bajo supervisión médica debido al riesgo de diseminar los huevos al entorno familiar y al medio ambiente. La costumbre de tomar hierbas antiparasitarias (paico, yerba buena, etc.) como parte de la dieta diaria, puede ocasionar la desparasitación antes de una intervención antihelmíntica. Inclusive se tuvo la hipótesis que después de ingerir licor durante las fiestas costumbristas haría que muchos gusanos sean eliminados. En un estudio realizado en Colombia, muestra que el uso de antiparasitarios comerciales o infusiones de plantas como: semilla de papaya (*Carica papaya*), limón (*Citrus limetta*), verbena (*Verbena officinalis*), paico (*Chenopodium anthelminthium*), hierbabuena (*Mentha sativa*), verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) y “botalombriz” (no identificada con nombre científico) son utilizados como antihelmínticos naturales. Otros utilizan una mezcla de ajo (*Allium sativum*), jugo de limón (*Citrus limon*), paico (*Chenopodium ambrosioides*) y bebida alcohólica llamada “viche” (fermentado de caña de azúcar). Otros relataron que no era necesario ningún antiparasitario pues “estos salen solos” (Agudelo-Flórez *et al.*, 2009).

Brevemente, el tratamiento de los pacientes con diagnóstico coproparasitológico positivo a huevos de *Taenia* sp., coproantígeno positivo (PP>40) y pacientes que eliminaron proglótidos de *Taenia* sp. se realiza de la siguiente manera: El paciente tendrá de 1 a 3 días de dieta blanda y líquida. El día del tratamiento y antes de administrar el antihelmíntico el paciente tomará purgante (polietilenglicol, Nulitely®), preparado según las indicaciones del producto, para eliminar restos de contenido intestinal. El paciente tomará 2 g. de niclosamida, previamente ésta será muy bien triturada utilizando un mortero para su mejor actividad. Se esperará 2 horas para que el paciente tome nuevamente el purgante (polietilenglicol, Nulitely®), preparado según las indicaciones del producto, lo que provocará al paciente diarrea con deposiciones líquidas que serán colectadas en envases de 1 litro. Se procederá a buscar en las muestras de heces la *Taenia*,

tanto los proglótidos inmaduros, maduros y grávidos, así como la presencia de escólex. La búsqueda del escólex es un proceso que requiere mucho esmero y cuidado, el escólex tiene un tamaño aproximado de 1x2 mm, generalmente sale unido a un segmento de gusano de 2 ó 3 cm. de largo, muy pocas veces sale unido a todo el gusano. La muestra de heces debe ser diluida en su envase original con la mayor cantidad de agua, luego debe ser colada en pequeñas porciones, cada porción colada debe ser revisada minuciosamente y lavada con agua hasta diferenciar lo que hay en el colador, se puede ayudar al colado usando una bagueta pero suavemente para no romper el escólex o proglótidos existentes, y así sucesivamente con toda la muestra hasta encontrar en lo posible el escólex (el colador debe ser de color fuerte y de poro no muy grande para observar mejor el gusano). Se colectaran muestras de heces postratamiento, colectadas a partir del tercer día, y analizadas mediante los métodos mencionados y confirmar la cura del paciente (Jeri *et al.*, 2004).

### **3. HIPÓTESIS**

El coproantígeno y el antígeno recombinante rES33 ayudan a diferenciar portadores de *T. solium* y *T. saginata*.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1 Objetivo general**

Evaluar los métodos existentes de diagnóstico para diferenciar portadores de *T. solium* y *T. saginata*.

#### **4.2 Objetivos específicos**

- Combinar los métodos para un mejor diagnóstico de teniasis.
- Determinar la distribución de la teniasis por edad y sexo.
- Evaluar la teniasis por *T. solium* en pacientes con neurocisticercosis (NCC).

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

#### 5.1.1 TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo, analítico, longitudinal.

#### 5.1.2 UNIVERSO

- Pacientes que eliminaron *Taenia* sp. postratamiento, y que tengan por lo menos una muestra de heces y suero.
- Pacientes portadores de *T. solium* con imagen a TAC/RM, que presenten diagnóstico de neurocisticercosis (NCC) procedentes de estudios clínicos de campo y que acuden al Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas.

#### 5.1.3 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

- Primera muestra de heces pretratamiento y suero a los 30 días, postratamiento.

#### 5.1.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA

- Pacientes que eliminaron *Taenia* sp. postratamiento, durante los años 1997 al 2009.

#### 5.1.5 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

- Se colectó la información de resultados pretratamiento por lectura microscópica a huevo de *Taenia* sp., así como los resultados de coproantígeno para *T. solium* y *T. saginata*. También se colectó la información del procesamiento de western blot para el antígeno recombinante rES33, tanto para *T. solium* y *T. saginata*.
- Se colectó la información de TAC/RM de los pacientes positivos a *T. solium*, con presencia de lesiones en el cerebro. La clasificación más usual de la NCC se basa en la viabilidad de los cisticercos y comprende a las formas inactivas, que son los parásitos muertos que se observan en forma de calcificaciones, formas transicionales o granulomatosas que son parásitos en proceso de degeneración y las formas activas que son los parásitos vivos o también denominados viables.

#### 5.1.6 UNIDAD DE ANÁLISIS

- Paciente que eliminó *Taenia* sp., postratamiento, y que tenga resultados de microscopia a huevos de *Taenia* sp., coproantígeno y western blot en suero para el antígeno recombinante rES33.

### **5.1.7 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Pacientes que hayan recibido tratamiento antiparasitario y hayan eliminado gusano.
- Pacientes que hayan eliminado gusano y tengan por lo menos una muestra de heces y suero en el Laboratorio de Cisticercosis.
- Pacientes portador de *T. solium* con imagen, por TAC y/o RM.

### **5.1.8 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Pacientes que hayan recibido tratamiento antiparasitario y no hayan eliminado gusano.

## **5.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO**

### **a) Recolección de Pacientes**

El estudio se realizó con la base de datos de pacientes sospechosos de ser teniásicos de la Unidad de Cisticercosis del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN). Desde 1997-2009, la recolección de datos fue realizada por el Grupo de Trabajo en Cisticercosis en Perú (CGWP) quienes ofrecieron tratamiento antihelmíntico, bajo supervisión médica, a todos los sospechosos de ser portador de *Taenia* sp. en los estudio realizados en zonas endémicas (Tumbes, Piura, Cajamarca, Ancash, Ayacucho), así como también datos provenientes de pacientes con sintomatología clínica a neurocisticercosis del INCN.

El mencionado estudio tuvo un consentimiento informado para padres, pacientes mayores de 12 años y pacientes de 5 a 12 años (texto a ser leído a los pacientes) que fue aprobado por el Comité Institucional de ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. (Anexo 1).

Estos tratamientos nos permitieron la toma y procesamiento de muestras de heces y sangre del paciente, con las técnicas diagnósticas disponibles en ese momento, de todos aquellos pacientes que eliminaron espécimen y tuvieron diagnóstico de especie. El diagnóstico de especie fue realizado por coloración de proglótidos grávidos y /o escólex (Anexo 2) y/o pruebas moleculares como el PCR (Anexo 3).

Para el estudio se incluyó solamente la primera muestra de heces pre tratamiento de un total de tres muestras proporcionadas por el paciente en forma voluntaria, con un resultado por microscopía, coproantígeno o un resultado por

serología al antígeno recombinante rES33. Las muestras de heces se colocaron en PBS-formolado al 5% a una dilución final 1:5 a temperatura ambiente, las que fueron guardadas hasta su procesamiento por microscopia y/o coproantígeno.

#### **b) Recolección de muestras de suero.**

Se colectaron 176 muestras de suero de pacientes teniásicos, y evaluados por el método de Western Blot con el antígeno recombinante rES33.

A los pacientes se les solicitó una muestra de sangre, la cual se obtuvo vía punción venosa, previa aceptación del paciente. De las muestras tomadas en los tubos se procedió a separar el suero y se guardó a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  en tubos plásticos de 1.5 ml hasta su procesamiento.

#### **c) Recolección de datos de teniásicos con TAC/RM**

Fueron incluidos 120 pacientes portadores de *T. solium* distribuidos en pacientes neurológicamente asintomáticos provenientes de zonas endémicas del Perú, así como pacientes con sintomatología clínica neurológica provenientes del INCN, y que tuvieron una imagen cerebral por Tomografía Axial Computarizada (TAC) o Resonancia magnética (RM).

### **5.3. ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE LAS MUESTRAS DE HECES POR LA TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN ESPONTÁNEA EN TUBO (TSET).**

Las muestras de heces fueron procesadas por el método de sedimentación espontánea en tubo y examinadas por microscopía de luz en la búsqueda de huevos de *Taenia* sp. Se tomó 10 ml de muestra de heces colectadas en PBS-formolado al 5%. Se vertió la mezcla en un tubo cónico de centrífuga de 50 ml de capacidad, filtrándola a través de gasa. Se completó el volumen del tubo con agua destilada y se tapó herméticamente. Se agitó y dejó reposar por 20 minutos como mínimo. Se repitió por dos veces más. Se tomó una alícuota del sedimento del fondo del tubo con ayuda de una pipeta. Se colocó en un portaobjetos una alícuota del sedimento y se le agregó 1 gota de lugol, luego se cubrió con una laminilla. Se observó a través del microscopio a 100X y 400X de aumentos (Tello, 2000).

#### 5.4 ANÁLISIS DE COPROANTÍGENO EN HECES

Las muestras de heces fueron procesadas para la determinación de coproantígenos en heces de individuos portadores de *Taenia* sp. mediante un ELISA de captura según Allan y *et al.*, 2003, y adaptada por el Laboratorio de Cisticercosis-INCN. (Figura 2). Las muestras de heces colectadas en PBS formolado al 5%, fueron centrifugadas a 3200 rpm por 10 minutos para obtener el sobrenadante. Se preparó una dilución 1:6000 del anticuerpo primario (RbATSIgG-8) en 10 ml de buffer de sensibilización (pH 8,0). Se dispensó 100 µl de esta mezcla en cada pozo de la placa (Inmulon 4<sup>®</sup>). Se colocó en las placas en agitación por 2 horas y luego se guardaron a 4 °C por toda la noche, selladas o tapadas. El día de procesamiento del coproantígeno, se lavó la placa con PBS-Tween 0,1% por 5 veces, y se secó sobre papel toalla. Se agregó 100 µl de PBS-Tween 0,1% a cada pozo y se dejó agitando por 30 min. a temperatura ambiente. Se lavó la placa con PBS-Tween 0,1%. Se agregó Suero Fetal Bovino Inactivado (SFBI) al sobrenadante de la muestra en proporción 1:1 (50 µl SFBI / 50 µl sobrenadante), cada muestra se procesó por duplicado. Se dejó agitando por 1 hora a temperatura ambiente. Se lavó la placa con PBS-Tween 0,1%. Se preparó una dilución 1:4000 del anticuerpo secundario (GATSAWIgG-POD-400), en una solución de SFBI y PBS-Tween 0,3%, dilución 1:10 (9 ml PBS-Tween 0,3%, 1 ml SFBI y 2,5 µl anticuerpo secundario). Se agregó 100 µl a los pocillos y se dejó incubando por una hora a temperatura ambiente en agitación. Se lavó la placa con PBS-Tween 0,1%. Se dejó la placa 5 minutos en exposición a temperatura ambiente, luego se agregó el substrato TMB Sure Blue (KPL) <sup>®</sup>, (100 µl por pozo), se colocó la placa en oscuridad por 30 minutos. La lectura de las placas se realizó a una longitud de onda de 650 nm. Cada placa tuvo un control positivo fuerte, de muestras de pacientes teniásicos, un control positivo intermedio, 6 controles negativos distribuidos en la placa según la plantilla de incubación.

Los resultados se evaluaron usando el criterio PP (Porcentaje de Positividad), de cada muestra (promedio del valor de OD de cada muestra entre el valor del control positivo fuerte), para esta evaluación se usó un *cut off* obtenido por curva ROC (>40). Por lo tanto un resultado es positivo si es mayor que el *cut off* (>40), de lo contrario es negativo (<40).

## 5.5 ANÁLISIS DEL WESTERN BLOT

Las muestras de suero de individuos portadores de *T. solium* y *T. saginata* fueron procesadas para el análisis mediante Western Blot con el antígeno recombinante rES33, en la Unidad de Cisticercosis-INCN (Jiménez *et al.*, 2004; Levine *et al.*, 2007; Tsang *et al.*, 1989).

**5.5.1 ELECTROFORESIS:** El antígeno recombinante rES33 fue procesado en geles SDS-PAGE en gradiente 5-22,5%. Previamente el antígeno recombinante rES33 fue tratado con SDS 1%, azul de bromofenol 0,1%, Tris HCl 0,01 M, pH 8, y calentado a 65 °C por 15 minutos. La concentración de antígeno fue de 0,1 µg de proteína/mm de gel. En el pocillo del extremo de la cámara se colocaron 3 µl del marcador de peso molecular o estándar. El amperaje utilizado fue de 20 a 25 mA por gel para la resolución de las proteínas en 50 minutos (Tsang *et al.*, 1989).

**5.5.2 TRANSFERENCIA:** Consistió en transferir el antígeno del gel SDS-PAGE hacia la membrana de nitrocelulosa, por medio de la corriente eléctrica. El voltaje máximo fue de 200 V y 2A. Todo este sistema de transferencia se llevó a cabo por dos horas a temperatura controlada menor a 35°C mediante el paso constante de agua fría. Las membranas de nitrocelulosa se cortaron en tiras de 3 mm y se congelaron en bolsas a -20°C hasta el momento de ser utilizadas (Tsang *et al.*, 1989).

**5.5.3 BLOT:** Las membranas de nitrocelulosa con el antígeno para teniasis, fueron enfrentadas con sueros individuales de pacientes portadores, a la dilución 1:50. Las placas se incubaron por toda la noche a 4°C. Después de transcurrida la incubación se procedió a lavar las tiras con PBS-Tween 20 al 0,3% caliente a 40°C tres veces, por 3 minutos cada uno. Luego se agregó 500 µl del conjugado anti Ig G humano marcado con peroxidasa, a la dilución 1:12000, diluido en PBS-Tween 20 al 0,3% y se incubó a temperatura ambiente por dos horas. Se lavó con PBS-Tween 20 al 0,3% frío por 3 veces y luego PBS a temperatura ambiente por 2 veces. Se agregó 500 µl de cromógeno 3,3'-diaminobencidina, más peróxido de hidrógeno a cada canaleta por 10 minutos. Una vez que se observa la banda diagnóstica se procede a la lectura respectiva (Tsang *et al.*, 1989).

## **5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para la microscopía, coproantígeno, Western blot, la información de la TAC/RM, edad y sexo, los datos se ingresaron a una planilla electrónica Excel XP® comercial (Microsoft Corp). Seguidamente, la información codificada se tradujo al formato empleado por el programa SPSS versión 16.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN LA DETECCIÓN DE PORTADORES DE *Taenia* sp.

Fueron 324 pacientes con tratamiento inicial que eliminaron *Taenia* sp. donde 299 pacientes eliminaron *T. solium* y 25 pacientes eliminaron *T. saginata*.

Para 299 muestras de heces la microscopía fue positiva en 86% de los casos (259/299). Para 151 muestras de heces el coproantígeno fue positivo en el 95% (144/151) de los casos. Para 160 muestras de suero el antígeno recombinante fue positivo en el 99% (158/160) de los casos (Tabla N° 1).

Para los portadores de *T. saginata* el análisis fue también con las tres pruebas mencionadas. Para 25 muestras de heces la microscopía fue positiva en el 100% de los casos. Tanto el coproantígeno y el recombinante no fueron positivos para la especie.

A diferencia de los portadores de *T. solium*, la eliminación espontánea de proglótidos fue observada mayormente en pacientes con *T. saginata*.

**Tabla N° 1. Evaluación de la microscopía, coproantígeno y rES33 en pacientes que eliminaron *T. solium* y *T. saginata*.** Para los portadores de *T. solium*, el coproantígeno y antígeno recombinante rES33, presentaron mayor precisión en el diagnóstico de especie a diferencia de los casos de *T. saginata*

**Portadores de *T. solium*: 299**

	<b>MICROSCOPIA</b>	<b>COPRO Ag</b>	<b>rES 33</b>
<b>POSITIVO</b>	259 (86%)	144 (95%)	158(99%)
<b>NEGATIVO</b>	40 (14%)	7 (5%)	2 (1%)
<b>TOTAL</b>	299 (100%)	151 (100%)	160 (100%)

**Portadores de *T. saginata*: 25**

	<b>MICROSCOPIA</b>	<b>COPRO Ag</b>	<b>rES 33</b>
POSITIVO	25 (100%)	0 (0%)	0(0%)
NEGATIVO	0 (0%)	12 (100%)	16 (100%)
TOTAL	25 (100%)	12 (100%)	16 (100%)

## 6.2 COMBINACIÓN DE LOS TRES MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN LA DETECCIÓN DE PORTADORES DE *T. solium*.

Nos atrevimos a buscar la capacidad de detección de la combinación de estas pruebas. La microscopía y coproantígeno dan un diagnóstico de 70.8%; microscopía y recombinante 86.9%, mientras que el coproantígeno y recombinante 95.8% (Tabla N° 2).

**Tabla N° 2. Combinación de la microscopía, coproantígeno y rES33 en pacientes que eliminaron *T. solium*.** La combinación de antígeno recombinante rES33 y coproantígeno tienen la mejor tasa de detección de pacientes con *Taenia* (95.8%), y la mejor especificidad en la determinación de especie (*T. solium*).

COMBINACION DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	DIAGNÓSTICO DE <i>T. solium</i>
*MICROSCOPIA + COPRO Ag	107/151 (70.8%)
**MICROSCOPIA + rES33	139/160 (86.9%)
***COPRO Ag + rES33	91/95 (95.8%)

### **6.3 EVALUACIÓN DE TRES MUESTRAS CON LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN LA DETECCIÓN DE PORTADORES DE *T. solium* y *T. saginata*.**

En el seguimiento coproparasitológico, el coproantígeno puede detectar portadores de *T. solium* con una primera muestra positiva (PP > a 40). En el caso de tener una primera muestra de heces negativa, (PP < a 40) y la segunda y tercera muestras positivas, cuyos valores de coproantígeno aumenten (PP > a 40), también podríamos afirmar que estamos con un paciente portador a *T. solium* (Tabla No 3).

Hay que tener presente que los niveles de coproantígeno pueden aumentar si persiste el gusano en el intestino, además podemos afirmar que los niveles de coproantígeno son independientes de la producción de huevos como observamos en la Tabla No 3.

De acuerdo al análisis combinado de los resultados de microscopía y/o coproantígeno, tenemos que un resultado de microscopía de huevo positivo y coproantígeno positivo con PP > a 40, confirmaría un portador de *T. solium*; y una microscopía negativa a huevo y coproantígeno positivo en cuyo seguimiento los valores de PP siguieron aumentando, también sería portador de *T. solium*.

En nuestra experiencia existen algunos coproantígeno positivos cercanos al *borde line* para *T. saginata*, que en el seguimiento se convierten en negativos (Tabla N° 4). Con un coproantígeno negativo y microscopía positivo a huevo de *Taenia* sp., estaríamos con un paciente portador de *T. saginata*, siempre que el coproantígeno se mantenga en sus niveles bajos en los valores de PP (Tabla N° 4).

**Tabla N° 3: Evaluación de tres muestras de heces por microscopía y/o coproantígeno y rES33 en pacientes potadores de *T. solium*.** El seguimiento de portadores teniásicos mediante el análisis de tres muestras seriadas mejora aún más la detección de portadores de *T. solium*, superando a la microscopía de huevos de *Taenia* sp. El antígeno recombinante confirma al portador de *T. solium*, en el momento de muestreo.

Codigo_paciente	N°muestra_heces	Huevo <i>Taenia</i> sp.	CoAg(PP)	CoAg	rES33	Diagnóstico_final
408	1	+	11,445	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	24,589	-		
	3	+	84,193	+		
600	1	+	31,887	-	+	<i>T. solium</i>
	2	-	59,971	+		
	3	-	78,589	+		
703	1	+	25,906	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	41,397	+		
	3	+	77,5	+		
665	1	+	3,806	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	54,865	+		
	3	+	49,518	+		
428	1	+	91,982	+	+	<i>T. solium</i>
	2	+	111,438	+		
	3	+	68,542	+		
427	1	+	11,499	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	105,676	+		
	3	+	77,361	+		
758	1	+	16,432	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	16,432	-		
	3	+	81,836	+		
335	1	-	24,662	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	30,636	-		
	3	+	45,414	+		
309	1	+	38,543	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	66,199	+		
	3	+	67,937	+		

Contin...

Contin...

Codigo_paciente	N° muestra_heces	Huevo <i>Taenia sp.</i>	CoAg(PP)	CoAg	rES33	Diagnóstico_final
310	1	+	24,256	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	98,112	+		
	3	+	102,757	+		
451	1	+	26,432	-	+	<i>T. solium</i>
	2	-	3,799	-		
	3	+	65,817	+		
821	1	+	27,046	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	22,938	-		
	3	+	46,835	+		
816	1	+	27,715	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	11,684	-		
	3	+	51,262	+		
341	1	+	34,254	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	55,345	+		
	3	+	63,823	+		
425	1	-	24	-	+	<i>T. solium</i>
	2	-	50,838	+		
	3	+	47,654	+		
429	1	+	25,688	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	124,389	+		
	3	+	137,712	+		
431	1	-	23	-	+	<i>T. solium</i>
	2	-	66,654	+		
	3	+	67,297	+		
498	1	+	22,191	-	+	<i>T. solium</i>
	2	+	123,21	+		
	3	+	76,223	+		

**Tabla N° 4: Evaluación de tres muestras de heces por microscopía y/o coproantígeno y rES33 en pacientes potadores de *T. saginata*.** El seguimiento de portadores teniásicos mediante el análisis de tres muestras seriadas, para portadores de *T. saginata*, sólo podría darse por microscopía de huevos de *Taenia* sp., teniendo en cuenta la gran cantidad de huevos que elimina la *T. saginata* o en los casos de eliminación espontánea del gusano. El coproantígeno así como el antígeno recombinante no detectan al portador de *T. saginata*.

Codigo_paciente	N°muestra_heces	Huevo <i>Taenia</i> sp.	CoAg(PP)	CoAg	rES33	Diagnóstico_final
827	1	+	3,132	-	-	<i>T. saginata</i>
	2	-	7,302	-		
	3	-	4,869	-		
325	1	+	2,934	-	-	<i>T. saginata</i>
	2	+	4,09	-		
	3	-	12,596	-		
567	1	+	8,392	-	-	<i>T. saginata</i>
	2	+	5,019	-		
	3	+	4,188	-		
571	1	+	2,015	-	-	<i>T. saginata</i>
	2	-	1,363	-		
	3	+	1,628	-		
497	1	+	15,342	-	-	<i>T. saginata</i>
	2	-	8,846	-		
	3	-	5,592	-		
360	1	+	9,992	-	-	<i>T. saginata</i>
	2	-	3,331	-		
	3	-	2,178	-		

#### 6.4 DISTRIBUCIÓN DE LA TENIASIS POR EDAD Y SEXO

Tanto los pacientes de estudios de campo como los pacientes clínicos fueron captados sin tener en cuenta el sexo de las personas por lo que asumimos que los datos aquí presentados son representativos.

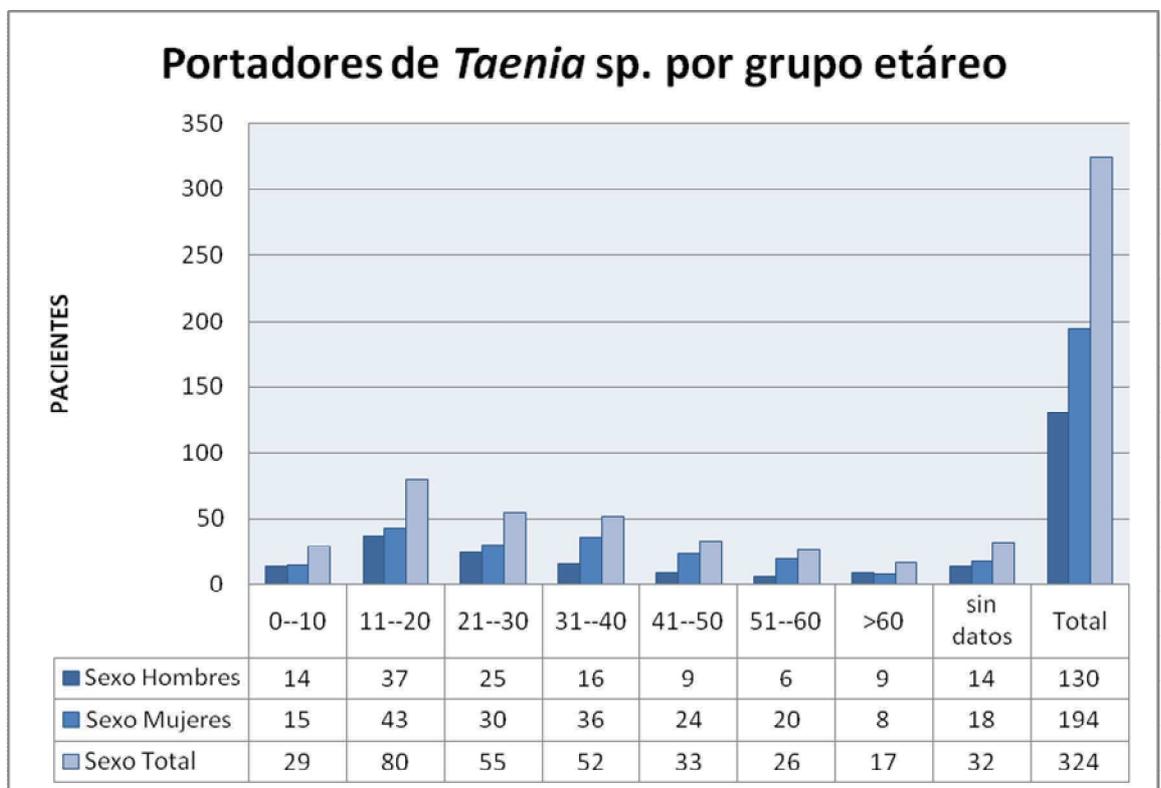
Los portadores de *Taenia* fueron separados por sexo, los casos de teniasis por *T. solium* en mujeres fue de 60% (178/299) y 40% (121/299) para los hombres. De los pacientes que eliminaron *T. saginata*, 64% (16/25) fueron sexo femenino y 36% (9/25) fueron sexo masculino (Tabla N° 5).

**Tabla N° 5: Distribución de los casos de Teniasis por sexo** Las mujeres constituyen el grupo con mayor riesgo de adquirir teniasis (Tabla 5). Una posibilidad podría ser a que están más expuestas al parásito por las prácticas sociales que realizan, como la manipulación de alimentos, e inclusive a factores inmunológicos.

<b>SEXO</b>	<b><i>T. solium</i>*</b>	<b><i>T. saginata</i>*</b>	<b>TOTAL</b>
MUJERES	178(60%)	16(64%)	194
HOMBRES	121(40%)	9(36%)	130
<b>TOTAL</b>	<b>299(100%)</b>	<b>25 (100%)</b>	<b>324</b>

El grupo etáreo más afectado estuvo constituido por pacientes entre 11-20 años, seguido de 21-30 años y 31-40 años. Hubo 32 pacientes (14 hombres y 18 mujeres) que no tuvieron datos de edad (Tabla N° 6).

**Tabla N° 6: Distribución de los casos de Teniasis por grupo etáreo.** El grupo etáreo más afectado con teniasis lo constituye la población más joven (11-20 años), decayendo a mayor edad



## 6.6 TENIASIS Y NEUROCISTICERCOSIS (NCC)

La evaluación del riesgo de adquirir neurocisticercosis en portadores de *T. solium* se realizó en una población de 120 personas, todos estos pacientes tuvieron diagnóstico de imagen por TAC o RM. El rango de edad de los pacientes estuvo entre 9 a 66 años.

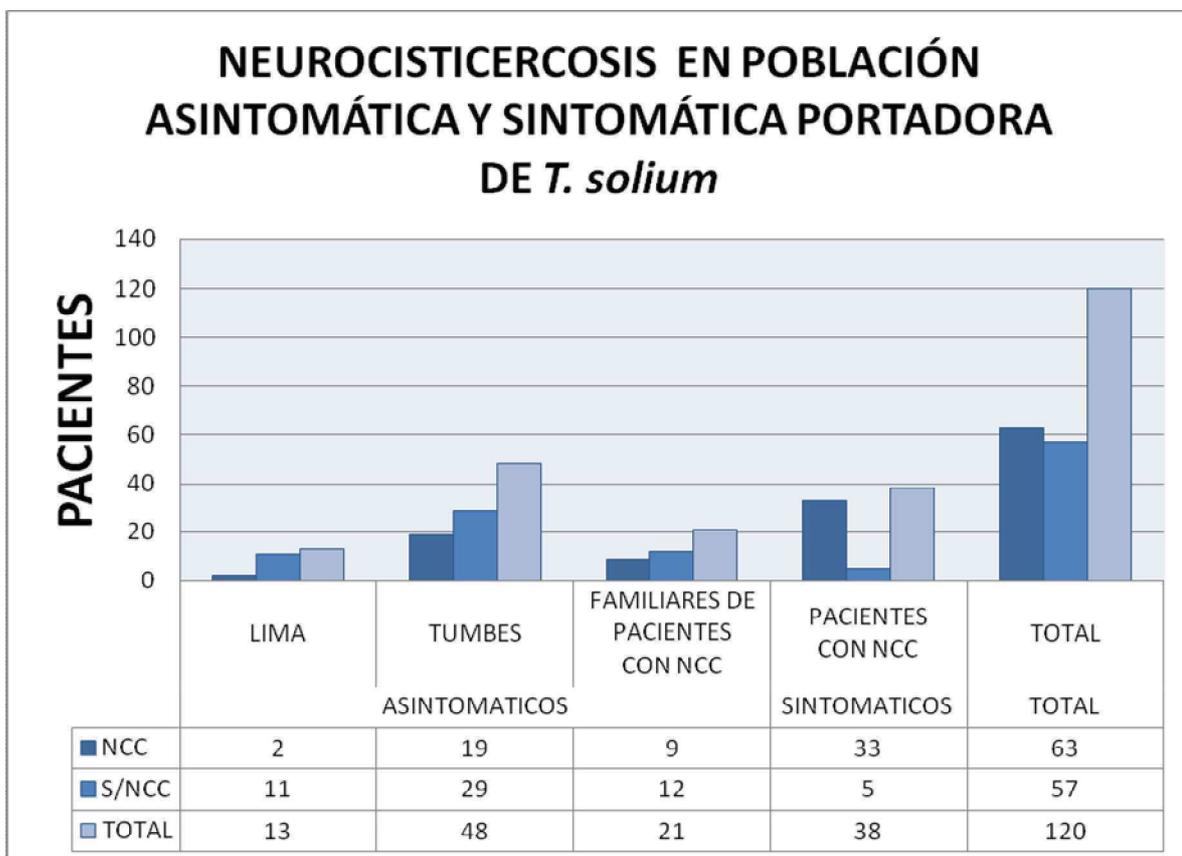
La población teniásica asintomática fue procedente de estudios de campo y estuvo constituida por 68.3% (82/120) de la población, donde el 10,8% (13/120) fue de Lima, el 40% (48/120) de Tumbes, y el 17,5% (21/120) fueron familiares de pacientes con NCC.

La población teniásica sintomática ó clínica estuvo constituida por el 31,7% (38/120) de pacientes.

De un total de 120 pacientes portadores de *T. solium* confirmada el 48% (57/120) pacientes no presentaron lesiones a NCC; mientras que el 52% (63/120) muestran mayor riesgo de adquirir NCC. El 87% (33/38) de pacientes presentó NCC sintomática (Tabla N° 7).

El 33.3% (21/63) fueron de sexo masculino (edad promedio de 32 años) y 66.7% (42/63) de sexo femenino (edad promedio de 38 años).

**Tabla N° 7: Neurocisticercosis en portadores de *T. solium* por lugar de procedencia.** De los 120 pacientes portadores de *T. solium* el 52% (63/120) presentó NCC, mientras que el 48% (57/120) no presentó NCC. De los pacientes que presentaron NCC, la sintomatología se presentó en el 87% (33/38) de los casos



## **6.7 NEUROCISTICERCOSIS (NCC) EN POBLACIÓN SEGÚN PROCEDENCIA**

Tenemos que el 52% (63/120) pacientes se observó lesiones compatibles a NCC con quistes viables (parásitos vivos) y calcificaciones (parásitos muertos).

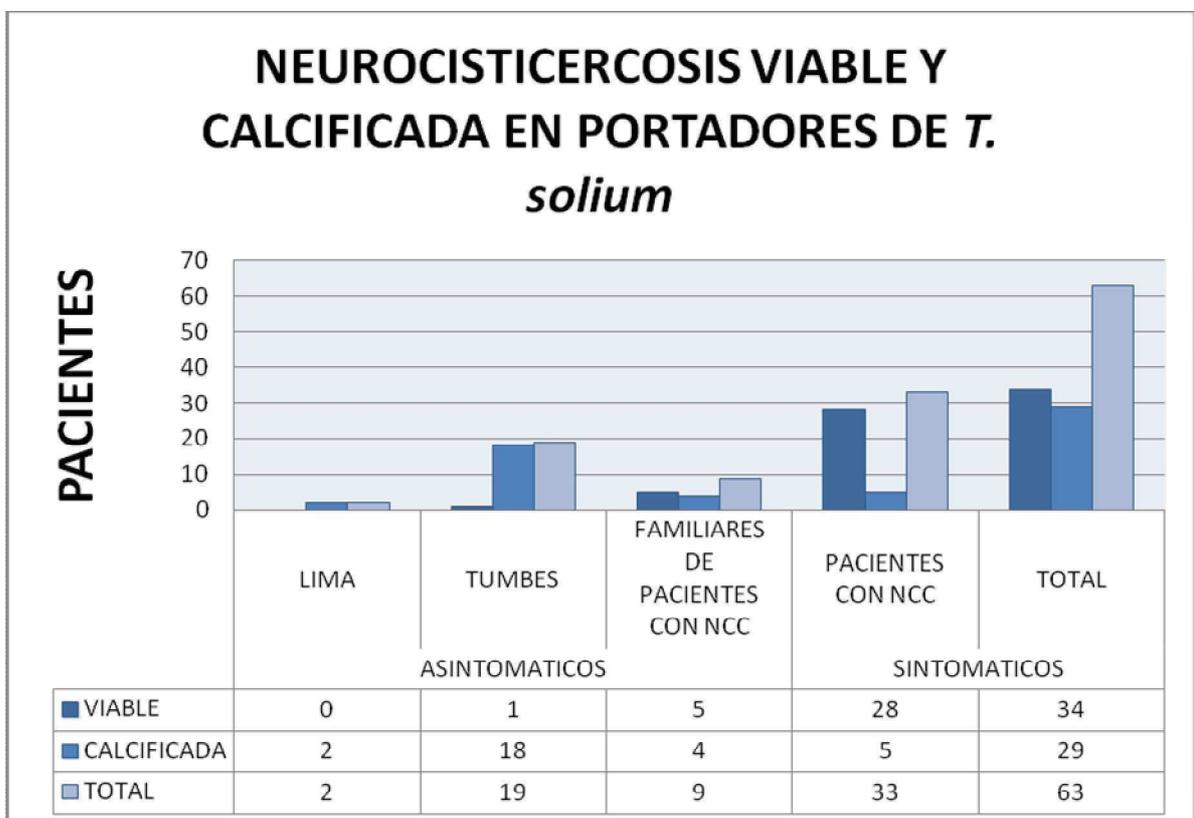
En la población de Lima, solamente 2 pacientes tuvieron NCC calcificada. Esta población correspondió a un muestreo en empleadas domésticas de zonas residenciales de Lima.

En el caso de pacientes de Tumbes, encontramos que 19 pacientes presentaban NCC, de los cuales 95% (18/19) correspondieron a NCC calcificada y 5% (1/19) con NCC viable.

El grupo de familiares de pacientes asintomáticos, encontramos 9 pacientes con NCC, de los cuales 44%(4/9) pacientes presentaban NCC calcificada, 56% (5/9) NCC con quistes viables.

Con respecto al grupo de pacientes clínicos o sintomáticos, 33 pacientes presentaron NCC, donde el 85% (28/33) de ellos presentó NCC viable y el 15% (5/33) pacientes NCC calcificada. (Tabla N° 8).

**Tabla N° 8: Neurocisticercosis (cisticercos viables) vs. Neurocisticercosis (cisticercos calcificados) en portadores de *T. solium*.** La NCC con formas viables o parásitos vivos, fue encontrada solamente en pacientes sintomáticos en un 85% (28/33) y un 56% (5/9) en familiares de pacientes con NCC. El riesgo de NCC en portadores de *T. solium* es bajo en áreas no endémicas (Lima). La NCC viable fue encontrada en pacientes sintomáticos y familiares, así como un paciente asintomático



## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 DIAGNÓSTICO DE TENIASIS POR MICROSCOPIA

El examen microscópico directo es el método que se utiliza comúnmente en los laboratorios para el diagnóstico de teniasis. Con la técnica de sedimentación espontánea en tubo el diagnóstico directo, tanto de protozoos como de huevos de helmintos, convierte a esta técnica en una herramienta importante, siendo un método de concentración de alto rendimiento, debido a su simplicidad técnica, bajo costo y alta sensibilidad, constituyéndose en una alternativa aplicable en nuestro medio y centros de salud. Esta forma de análisis fue utilizada durante el periodo de 1997 hasta 2009 por nuestro laboratorio.

La microscopía para el diagnóstico de teniasis sigue siendo la técnica más usada en investigación, aplicada a estudios de campo donde se reportan sensibilidades entre 38%, 50% y 78%, (Allan *et al.*, 1996b; Schantz, 1989); en nuestro estudio, para la población analizada, la positividad de la microscopía fue de 86%, esto debido a la experiencia adquirida en la detección del huevo de *Taenia* sp.

Mediante la técnica de coloración de Ziehl-Neelsen en ocasiones puede distinguir plenamente los huevos maduros de *T. solium* de *T. saginata*, pero esta diferenciación no es muy sensible ni específica (Jiménez *et al.*, 2010).

A pesar que la microscopía sigue siendo la metodología más utilizada en los laboratorios de referencia, para el diagnóstico de teniasis, es poco sensible aún en manos expertas, llegando a una sensibilidad de hasta el 78% (Pawlowski, 1972); la desventaja es que mediante la observación microscópica no se puede determinar la especie de *Taenia* sp. debido a la similitud morfológica de los huevos y la variabilidad en la expulsión de los mismos por parte del parásito (Schantz, 1989).

En el presente estudio realizamos las medidas morfométricas de 293 huevos de *Taenia* sp., considerando el diámetro mayor y diámetro menor. Las muestras procedieron de pacientes cuyas localidades fueron Ancash, Ayacucho, Puno Cajamarca, Piura, y Tumbes. En promedio cada muestra de heces tuvo un lectura de 4.3 huevos en 40  $\mu$ l de sedimento. Nosotros encontramos que existen diferencias significativas a nivel del diámetro mayor, diámetro menor y el ratio entre *T. solium* y *T. saginata*, aún luego de ajustar por la zona geográfica. El mejor modelo de predicción es en base al "ratio". Los huevos de *T. saginata* de Piura son

significativamente más grandes que los huevos de *T. saginata* de Tumbes. Del análisis se demuestra que hay 3 grupos geográficos que se asocian por tener huevos de *Taenia* de similares tamaños. El primer grupo es Piura-Tumbes (aquí los huevos son más pequeños). Luego el grupo de Cajamarca-Ayacucho-Puno, que tiene huevos de *Taenia* significativamente más grandes, y por último el grupo de Ancash que tiene los huevos de *Taenia* más grandes que todos. Con estos resultados preliminares podríamos dar un diagnóstico por morfometría de los huevos de *Taenia* sp., contando simplemente con un ocular con medida en micras y dar un diagnóstico de especie.

En un estudio realizado en Honduras, utilizaron los métodos de Kato katz, la combinación de Kato katz y cinta adhesiva y la historia clínica de expulsión de gusano, como métodos diagnósticos en individuos portadores de *T. solium* y *T. saginata*. Estos métodos no dieron buenos resultados por su baja sensibilidad y la dificultad en el seguimiento de los pacientes, por lo que es necesario contar con mejores técnicas de diagnóstico y más fiables (De Kaminsky, 1991a).

La eliminación espontánea de proglótidos esta generalmente referido a *T. saginata*, debido a la movilidad y por el gran tamaño que puede alcanzar en el intestino humano; con menor frecuencia por *T. solium* (Pawlowski, 1972). La eliminación espontánea por *T. saginata* es reportada en 21% según Pawlowski *et al.*, 1972; así mismo se ha reportado pacientes que eliminaban proglótidos por más de dos semanas y hasta un 31% de pacientes que eliminaban proglótidos por más de tres años sin ninguna sintomatología. Según Pawlowski *et al* 1972, hay una mayor frecuencia de teniasis por *T. saginata* en mujeres que en hombres (79,3% vs. 74,9%). Interesantemente nosotros encontramos en nuestro medio un 75% (18/24) para mujeres, y 25% (6/24) para hombres. El grupo etéreo más afectado fue de 28 años (9-80 años). Según Terashima, Álvarez, 2000, en el Perú, *T. saginata* ha ido decreciendo entre los céstodos grandes; en un estudio hasta el año 1975 se obtuvo un 41.32% de pacientes con *T saginata* (Lumbreras *et al.*, 1975); hasta el año 1986, se obtuvo un 25.32% (Lumbreras *et al.*, 1995) y en 5 años de la última década llegó a un 5.94% (Terashima, 2000) de pacientes positivos a este parásito.

## 7.2 DIAGNÓSTICO DE TENIASIS POR COPROANTÍGENO

La aplicación de modernas técnicas de inmunodiagnóstico ha mejorado la detección de las infecciones por cestodos. Un enfoque particularmente prometedor es la detección de antígenos específicos del parásito en las heces (coproantígeno). Este enfoque se ha aplicado a especies de género *Taenia* y ha crecido cada vez más su utilización en la detección de portadores.

A partir del año 2004 nosotros empezamos a utilizar junto con la microscopía de luz, la técnica de coproantígeno, la cual fue estandarizada en el Laboratorio de Cisticercosis del INCN. La estandarización del método nos permitió diferenciar aquellos pacientes portadores de *T. solium* de los portadores de *T. saginata*, a diferencia del método original propuesto por Allan *et al.*, en 1996 donde el diagnóstico era hasta género. La especificidad de la prueba fue de 100% y el 95% de sensibilidad.

Antes del coproantígeno, tanto la microscopía para la detección de huevos de la *Taenia* sp., o la recuperación y la identificación de proglótidos eran los únicos medios para diagnosticar esta infección intestinal. La microscopía carecía de sensibilidad, porque la detección de huevos en las muestras dependía de la expulsión de huevos por el parásito, y a la manera intermitente de éstos durante la infección. Por otra parte, la identificación de la *Taenia* depende mucho de la recuperación de proglótidos no degradados, que no siempre era posible.

El antígeno del parásito puede detectarse en las heces semanas antes de volverse infectivo, considerando que los niveles de coproantígeno son independientes de la producción de huevos, como se demuestra en el seguimiento copoparasitológico (Tabla N°3). Aquí observamos que un coproantígeno positivo indicaría que hay una infección actual, que la *Taenia* está aún en el intestino del paciente. Al expulsar el gusano post tratamiento los niveles de coproantígeno en el seguimiento, disminuyen hasta convertirse en negativo.

El método del coproantígeno se convierte en una herramienta diagnóstica muy importante y de gran utilidad en el seguimiento coprológico. Por lo tanto, estos resultados nos orientarían a tomar decisiones con respecto a un paciente sospechoso de teniasis y a un posterior tratamiento.

Hubieron pacientes que fueron diagnosticados por coproantígeno, sin la eliminación de huevos, en estos casos eliminaron post tratamiento proglótidos

inmaduros o gusanos cuyo tamaño promedio fue de 30 cm. El PCR resultó importante en el diagnóstico de especie (Mayta *et al.*, 2000).

Con el uso del coproantígeno, se ha mejorado la detección de portadores, hasta 2,6 veces más portadores de *T. solium* que el examen microscópico aún con una sola muestra (Allan *et al.*, 1996a). De esta forma surgen nuevos reportes sobre prevalencia de teniasis en poblaciones endémicas, experimentando un incremento en el número de casos (Allan *et al.*, 1996a) y contribuyendo a una mejor comprensión de la transmisión y a la vigilancia de este importante agente zoonótico (Allan, 2006).

### **7.3 DIAGNÓSTICO DE TENIASIS POR SEROLOGÍA**

Se han desarrollado diversas técnicas para la detección de anticuerpos en sueros de individuos con teniasis, la mayoría con pobre sensibilidad y especificidad. Sin embargo, Wilkins *et al.*, en 1999, estandarizó un ensayo de detección de anticuerpos mediante Western blot, utilizando un antígeno de excreción /secreción de *T. solium*, con el que lograron obtener 95% de sensibilidad y 100% de especificidad en la identificación de portadores teniásicos. Dicho ensayo logró detectar teniásicos en Guatemala, Perú e Indonesia (Wilkins *et al.*, 1999).

Mediante proteómica se ha identificado el antígeno TSES33 (antígeno excretorio -secretorio de *T. solium*) (Levine *et al.*, 2004) el cual hemos utilizado en el presente estudio en su forma recombinante rES33 (antígeno recombinante excretorio secretorio de *T. solium*). El Western Blot realizado a los sueros de los pacientes que eliminaron *T. solium* confirmó en el 99% (158/160) de los casos la presencia de anticuerpos contra el parásito y una especificidad de 100% (Tabla N° 1). Los sueros de pacientes que eliminaron *T. saginata* fueron negativos al rES33, resultados que concuerdan con lo reportado por Levine *et al.*, 2007.

Estos autores cuando determinaron la especificidad de la prueba, sólo utilizaron sueros de pacientes de áreas no endémicas como verdaderos negativos, porque con sueros de pacientes de áreas endémicas siempre hay la posibilidad de estar infectados con teniasis y cisticercosis (Levine *et al.*, 2004).

Las pruebas serológicas, con un resultado positivo al rES33, pueden indicar infección pasada o actual por exposición al parásito. Un paciente puede seguir siendo positivo serológicamente, aunque su tenia se haya eliminado. La longevidad de los anticuerpos contra rES33 será la clave en la respuesta a esta interrogante.

#### **7.4 TENIASIS POR EDAD Y SEXO**

En nuestro estudio el grupo etario de mayor prevalencia fueron entre 11 a 20 años con un 27% (80/292); la población femenina fue la más afectada con un 60% (178/299). El ser más joven predispone a adquirir teniasis. A mayor edad el riesgo disminuye (Tabla N° 6). Estudios realizados en México informan que las prevalencias más altas para *Taenia* se presentaron en el grupo etáreo de 5 a 14 años (35,3%), seguido por el de 1 a 4 años de edad, sin diferencias significativas por sexo; en cambio los estudios epidemiológicos informaron que el parásito adulto se presentó en todas las edades y que alcanzó un pico en grupos de 16 a 35 años (edad económicamente productiva); así mismo, que las personas de sexo femenino fueron las más frecuentes en presentar el parásito (Sarti, 1997).

García-Noval *et al.*, 1996, en un estudio realizado en Guatemala, encontró que personas cuyas edades fluctuaban entre 30-39 años fueron la de mayor riesgo de infección siendo también las mujeres las de mayor predisposición a adquirir la enfermedad, indicando que una posibilidad podría ser a que están más expuestas al parásito por las prácticas sociales que realizan, como manipulación de alimentos o a factores del medio ambiente, e inclusive a factores inmunológicos.

En nuestro estudio las mujeres constituyeron la población con mayor participación, esto se atribuye a que son más accesibles a colaborar y también a que fueron más fácilmente ubicadas en sus hogares, a diferencia de los hombres los cuales estaban en sus centros de trabajo en el momento de realizar las encuestas así como el recojo de muestras de heces. La importancia de realizar este tipo de trabajo radica en que la población entre 20-45 años, corresponden a grupos económicamente productivos para la sociedad y son justamente los más expuestos a la infección.

#### **7.5 TENIASIS Y NEUROCISTICERCOSIS**

La cisticercosis es la parasitosis del sistema nervioso central (SNC) más frecuente en nuestro medio, la cual causa una variada sintomatología. La neurocisticercosis (NCC) puede adoptar distintas formas según la localización, el número de parásitos, el estado biológico del parásito, el grado y tipo de inflamación del tejido del huésped y las estructuras neurales afectadas. Por todo esto es de

mucha importancia evaluar diferentes pruebas diagnósticas tanto parasitológicas, inmunológicas como imagenológicas.

La Tomografía Axial Computarizada (TAC) se ubica pues como la prueba imagenológica de elección (teniendo en cuenta el tipo y localización de la lesión), la cual asociada al Western Blot (prueba inmunológica de elección para cisticercosis) brindan un diagnóstico confirmatorio de neurocisticercosis (Grisolia, 1982; Loo, 1982). La TAC (Mervis, 1980) y más recientemente la Resonancia Magnética (RM) (Suss *et al.*, 1986) ha permitido conocer las diferencias, y las formas más frecuentes de neurocisticercosis (NCC).

El diagnóstico de la neurocisticercosis es generalmente imposible de realizar considerando únicamente los criterios clínicos (dolor de cabeza, convulsiones), aunque ciertos síntomas en zonas endémicas son orientadores, en tal sentido, debemos considerar a personas asintomáticas y sintomáticas.

El periodo entre la infección inicial y la aparición de los síntomas es muy variable y va de algunos meses a muchos años. En un estudio de 450 casos realizado entre soldados británicos en la India, el tiempo promedio fue de 4.8 años (Dixon, 1961).

Los estudios epidemiológicos han señalado al individuo portador de *T. solium* intestinal como el principal factor de riesgo para adquirir NCC (Flisser *et al.*, 1997; Sarti, 1988; Schantz *et al.*, 1992).

Nosotros encontramos en población asintomáticos a NCC de Lima (empleadas del hogar) y portadoras de *T. solium*, un 15.4% (2/13) pacientes con NCC calcificada y 11 pacientes con TAC normal. El tiempo de residencia en Lima de todos estos pacientes fue variable. Los hábitos higiénicos y el acceso a servicios de agua potable, podría ser determinante en este grupo para no adquirir en su mayoría NCC sintomática. Dentro de los roles que cumple la empleada del hogar teniásica, está la preparación de los alimentos, lo que la convierte en foco de propagación de huevos de *Taenia*. La necesidad de poder realizar en forma confidencial exámenes de rutina parasitológicos y serológicos en este grupo de trabajadores es de prioridad, pues la mayoría provienen de áreas endémicas; los exámenes mencionados contribuirían a la detección de portadores de tenia y así interrumpir el ciclo biológico del parásito.

La importancia de los portadores de *T. solium* sobresale en el caso de las familias de judíos ortodoxos de Nueva York, estas personas no comen carne de

cerdo, sin embargo, su personal de servicio era latinoamericana y portador del parásito adulto, en ellos se detectaron cuatro casos de neurocisticercosis y otros siete individuos seropositivos (Schantz *et al.*, 1992).

En Kuwait, donde antes no existía esta parasitosis, algunos de sus habitantes han viajado a países endémicos y, al volver, han traído consigo la teniasis y están generando casos de neurocisticercosis (Hira *et al.*, 2004).

Un estudio de 31 familias de pacientes con neurocisticercosis en México, mostró que 2% fue positivo al ELISA para coproantígeno, 14% tenía antecedentes familiares de teniasis y 10% tenía antecedentes de la enfermedad (López-Cepeda *et al.*, 2001).

En nuestro estudio encontramos que la población teniásica asintomática de Tumbes, de los 19 pacientes con TAC positiva, el 95% (18/19) tuvieron NCC calcificada y un paciente con NCC viable. Los portadores asintomáticos de zonas endémicas tuvieron con mayor frecuencia calcificaciones cerebrales que el resto de la población que viven en la misma zona, probablemente por la migración a zonas no endémicas (tal vez debido a la mejora de las condiciones sanitarias). De igual forma el grupo asintomático, denominado familiares de pacientes con NCC, de un total de 21 pacientes con TAC positiva, el 43% (9/21) de ellos tuvieron NCC, de estos el 24% (5/21) pacientes resultaron con NCC viable y 19% (4/21) con calcificaciones.

La propagación de la NCC entre los familiares, nuevamente recae en el portador del gusano, en este caso la persona encargada de preparar los alimentos, que ignora tener una *Taenia*, y definitivamente a los malos hábitos higiénicos del portador.

Diferentes estudios epidemiológicos efectuados en zonas rurales de países endémicos con base en estudios de TAC mostraron que, en la gran mayoría de los casos, el parásito se calcifica sin producir síntoma alguno tal como se observa en nuestro estudio. La exposición al huevo de *T. solium* va a crear inmunidad en el paciente, no dejando instalar nuevos cisticercos en el hospedero, o en todo caso, si se logran instalar las formas larvales, posteriormente se mueran o calcifiquen por acción de la respuesta inmune.

Las condiciones de insalubridad en campo es un factor de riesgo para la propagación de cisticercosis, en aquellas personas portadoras del gusano y susceptibles a la infección (López-Cepeda *et al.*, 2001).

En nuestro estudio el número de casos sintomáticos con NCC fue mayor en la población neurológica (dolor de cabeza y convulsiones como síntomas principales), que acudió al INCN. Como se esperaba, los portadores que tuvieron síntomas neurológicos con mayor frecuencia y compromiso del SNC albergaron parásitos vivos en una proporción significativa de los casos. Así tenemos, que de 38 pacientes con TAC, el 87% (33/38) de ellos tuvieron NCC, de estos el 85% (28/33) presentaron quistes viables o parásitos vivos y 15% (5/33) presentaron calcificaciones o parásitos muertos. También encontramos que el sexo femenino tiene una mayor porcentaje de adquirir NCC (66.7%) y que la edad promedio fue de 38 años, diferencias significativas con respecto al sexo masculino.

El perfil epidemiológico de pacientes con NCC diagnosticados por TAC en Curitiba, Brasil, tuvo como resultados que el 9,02% de casos fueron positivos a NCC, donde el 96,7% presentaron la forma calcificada y el 3,2% presentaron quistes granulomatosos. La prevalencia de casos de NCC fue mayor entre 51 e 60 años. No hubo diferencia significativa para el sexo, a diferencia de lo reportado en nuestro estudio (Grazziotin A *et al.*, 2010).

(Flisser *et al.*, 1997; Gilman *et al.*, 2000), indican que hay una asociación clara entre la presencia de portadores de tenia con la severidad de la neurocisticercosis, ya que, aparentemente, la mayor parte de las infecciones masivas cerebrales resultan de una fuente de infección constante en pacientes que tienen el parásito adulto en su intestino. Por lo tanto, considerar la percepción de que la tenia es un huésped silencioso que no causa daño al ser humano, es errónea, ya que los portadores de *Taenia* deben visualizarse como fuentes potenciales de contagio a ellos mismos y a aquellos que viven en el ambiente cercano (Flisser, 1987; Gilman *et al.*, 2000).

Finalmente, el riesgo de NCC en portadores de *Taenia* es bajo en áreas no endémicas (mejora de condiciones higiénicas), mientras que NCC viable fue encontrada solamente en pacientes sintomáticos y familiares.

## 8. CONCLUSIONES

1. La microscopía, hecha por métodos específicos como concentración de huevos, sigue siendo la prueba de mayor disponibilidad en los laboratorios, pero no diferencia huevos de *T. solium* y *T. saginata*.
2. El coproantígeno se convierte en una importante herramienta diagnóstica con mayor precisión en la detección de portadores de *T. solium*.
3. El antígeno recombinante rES33 y coproantígeno dan las mejores tasas de detección de casos, pero es necesario conocer el valor predictivo negativo para ver su utilidad real en campo.
4. A diferencia de la microscopía, el antígeno recombinante rES33 y coproantígeno, nos permiten diferenciar especie.
5. Al igual que otros estudios realizados en Latinoamérica, en los pobladores del Perú, las mujeres son mayormente portadoras de teniasis.
6. El grupo etéreo mayormente afectado ha sido entre 11-20 años, afectando a la población económicamente productiva.
7. El riesgo de NCC en portadores de *T. solium* es bajo en áreas no endémicas.
8. La NCC viable o parásitos vivos fue encontrada solamente en pacientes sintomáticos y en sus familiares más cercanos.

## 9. RECOMENDACIONES

1. Capacitar al personal de laboratorio en la identificación de huevos de *Taenia* sp.
2. Difundir el coproantígeno como método diagnóstico, que pueda ser aplicado en condiciones de campo (coproantígeno artesanal).
3. Evaluar mediante el seguimiento con coproantígeno a los pacientes que recibieron tratamiento antihelmíntico para confirmar curación.
4. Aplicar el recombinante rES33 y coproantígeno en población endémica y estimar la verdadera prevalencia de teniasis.
5. Evaluar la persistencia de anticuerpos anti-rES33 en pacientes teniásicos ya curados.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUDELO-FLÓREZ, P.; RESTREPO, N.; PALACIO, L. G. (2009). Conocimiento y Prácticas sobre Teniasis-cisticercosis en una Comunidad Colombiana. *Rev. Salud pública*, **11 (2)**, 191-199.
- ALLAN, J.; CRAIG, P. S. (2006). Coproantigens in taeniasis and echinococcosis. *Parasitol Int*, **55 Suppl**, S75-80.
- ALLAN, J. C.; AVILA, G.; GARCIA -NOVAL, J.; FLISSER, A.; CRAIG, P. S. (1990). Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen detection. *Parasitology*, **101(3)**, 473-477.
- ALLAN, J. C. ; MENCOS, F. ; GARCIA-NOVAL, J. ; SARTI, E. ; FLISSER, A. ; WANG, Y. ; LIU, D. ; CRAIG, P. S. (1993). Dipstick dot ELISA for the detection of *Taenia* coproantigens in humans. *Parasitology*, **107 (1)**, 79-85.
- ALLAN, J. C.; VELASQUEZ-TOHOM, M.; GARCIA-NOVAL, J.; TORRES-ALVAREZ, R. ; YURRITA, P. ; FLETES, C. ; DE MATA, F. ; SOTO DE ALFARO, H. ; CRAIG, P. S. (1996a). Epidemiology of intestinal taeniasis in four rural Guatemalan communities. *Ann Trop Med Parasitol*, **90(2)**, 157-165.
- ALLAN, J. C.; VELASQUEZ-TOHOM, M.; TORRES-ALVAREZ, R.; YURRITA, P.; FLETES, C.; GARCIA-NOVAL, J. (1996b). Field trial of the coproantigen-based diagnosis of *Taenia solium* taeniasis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg*, **54(4)**, 352-356.
- ALLAN, J. C.; WILKINS, P. P.; TSANG, V. C.; CRAIG, P. S. (2003). Immunodiagnostic tools for taeniasis. *Acta Trop*, **87**, 87-93.
- ALUJA, S. A.; CARRILLO-MEZO, R.; CHAVARRÍA, A.; ESCOBAR, A. ; FLISSER, A. ; FLEURY, A. ; FRAGOSO, G. ; LACLETTE, P. J. ; LARRALDE, C. ; SCIUTTO, E. ; SOTELO, J. ; VARGAS-PARADA, L. ; WILLMS, K. (2006). Cisticercosis : guía para profesionales de la salud 245.
- ARSENI, C.; SAMITCA, D.C. (1957). Cysticercosis of the brain. *Br Med J*, **13**, 494-497.
- BAKER, H.; CAMPBELL, K.; HOUSER, W.; REESE, D.; SHEEDY, P.; HOLMAN, C. (1974). Computed assisted tomography of the head. An early evaluation. *Mayo Clin Proc*, **49**, 17-20.
- BOLÍVAR JIMÉNEZ, S. (1976). La cisticercosis por *C. cellulosae* como zoonosis. *Boletín de la Oficina Sanitaria panamericana*, 403-411.
- BOTERO, D.; RESTREPO, M., (2003). *Parasitosis Humana*, Cuarta edn. Editorial CIB, Medellín Colombia.
- CADIGAN, F.; SANTON, J. S.; TANTICHAROENYUS, P.; CHAICUMPA, V. (1967). The Lar gibbon as definitive and intermediate host of *Taenia solium*. *J Parasitol*, **53**, 844.
- CARBAJAL, J. R.; PALACIOS, E.; AZAR-KIA, B.; CHURCHILL, R. (1977). Radiology of cysticercosis of the central nervous system including computed tomography. *Radiology*, **125**, 127-131.
- CHUNG, W. C.; FAN, P. C.; LIN, C. Y.; WU, C. C. (1991). Poor efficacy of albendazole for the treatment of human taeniasis. *Int J Parasitol*, **21**, 269-270.
- CORREA, D. (1991). Teniasis y cisticercosis por *Taenia solium*. In *Publicación técnica del INDRE*, Vol. 4 pp. 1-45.
- COX, F. (2002). History of human parasitology. *Clin Microbiol Rev*, **15**, 595-612.
- CRUZ, M.; DAVIS, A.; DIXON, H.; PAWLOWSKI, Z. S.; PROANO, J. (1990). Estudios operativos sobre control de la teniasis /cisticercosis por *Taenia*

- solium* en el Ecuador. *Bol of Sanit Panam*, **108(2)**, 113-122.
- DÁVILA, D.; NÚÑEZ, J.; SANDOVAL, L.; VEGA, E.; LARREA, P. (2002). Valoración diagnóstica de la tomografía axial computarizada versus Western Blot en Neurocisticercosis. *Revista Peruana de Neurología* **8**, 5-10.
- DE KAMINSKY, R. G. (1991a). Albendazole treatment in human taeniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **85**, 648-650.
- DE KAMINSKY, R. G. (1991b). Taeniasis-cysticercosis in Honduras. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **85(4)**, 531-534.
- DEL BRUTTO, O. H.; WADIA, N. H.; DUMAS, M.; CRUZ, M.; TSANG, V. C.; SCHANTZ, P. M. (1996). Proposal of diagnostic criteria for human cysticercosis and neurocysticercosis. *J Neurol Sci*, **142**, 1-6.
- DÍAZ, F.; GARCÍA, H. H.; GILMAN, R. H.; GONZÁLEZ, A. E.; CASTRO, M.; TSANG, V. C.; PILCHER, J. B.; VÁSQUEZ, L. E.; LESCANO, M.; CARCAMO, C. (1992). Epidemiology of taeniasis and cysticercosis in a Peruvian village. The Cysticercosis Working Group in Peru. *Am J Epidemiol*, **135**, 875-882.
- DIXON, H.; LIPSCOMB, F. (1961). Cysticercosis: An Analysis and Follow-up of 450 Cases. *Medical research council. special Report Series*, 1-57.
- DIXON, H. B. F.; HARGREAVES, W.H. (1944). Cysticercosis (*Taenia solium*): a further ten years' clinical study, covering 284 cases. *Quart J Med*, **13**, 107-121.
- DO AMARAL, L. L.; FERREIRA, R. M.; DA ROCHA, A. J. ; FERREIRA, N. P. (2005). Neurocysticercosis: evaluation with advanced magnetic resonance techniques and atypical forms. *Top Magn Reson Imaging*, **16**, 127-144.
- EOM, K. S.; RIM, H. J. (1992). Natural infections of Asian *Taenia saginata* metacestodes in the livers of Korean domestic pigs. *Kisaengchunghak Chapchi*, **30**, 15-20.
- EOM, K. S.; RIM, H.J. (1993). Morphologic descriptions of *Taenia asiática* sp. n. *The Korean J Parasitology*, **31(1)**, 1-6.
- ESCALANTE, H.; OBED, H. C.; KELLY, D. A. (2001). La Inmunocromatografía para el diagnóstico de la infección por *Taenia solium* en *Mesocricetus auratus* mediante la detección de coproantígenos. *Rev Med Exp*, **18**, 3-4.
- ESCALANTE, S. (1973a). Cisticercosis. I. Epidemiología y clínica Consideraciones anatómicas. II. Cisticercosis Porcina. *Tesis Doctoral, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima*
- ESCALANTE, S. (1977b). [Epidemiology of cysticercosis in Peru]. *Rev Neuropsiquiatr*, **40**, 29-39.
- ESCALANTE, S. (1977c). Epidemiología de la Cisticercosis en el Perú. *Rev Neuropsiq (Perú)* **40**, 29-39.
- ESCALANTE, S. (1996d). *Clinica de la Neurocisticercosis*, Editorial Universo edn. En: García HH, Madinez SM (Eds.) *Teniasis/Cisticercosis por T solium*. Lima.
- FAN, P. (1988). Taiwan *Taenia* and taeniasis. *Parasitol Today*, **69**, 86-88.
- FERRER, E. (2006). Teniasis/Cisticercosis: Avances en diagnóstico inmunológico y molecular. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, **46(1)**, 1-13.
- FLISSER, A. (1987). Relación huésped-parásito en la cisticercosis humana y porcina. *Gaceta Médica de México* **123**, 157-164.
- FLISSER, A.; MADRAZO, I.; DELGADO, H. (1997). *Cisticercosis Humana*, 1 edn. El Manual Moderno, México.
- FUENTES, I.; GUTIÉRREZ, M.; GÁRATE, T. (2010). Diagnóstico de las parasitosis

- intestinales mediante detección de coproantígenos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, **28 (Supl 1)**, 33-39.
- GALÁN-PUCHADES, M. T.; FUENTES, M.V. (2000). Human cysticercosis and larval tropism of *Taenia asiática*. *Parasitol Today*, **16**, 174.
- GARCÍA-ALBEA, E. (1991). Cisticercosis Cerebral. Aportaciones al conocimiento de una enfermedad endémica en España e Hispanoamérica. pp. 21-51. Ed. Arán, Madrid.
- GARCÍA-NOVAL, J.; ALLAN, J. C.; FLETES, C.; MORENO, E.; DEMATA, F.; TORRES-ALVAREZ, R.; SOTO DE ALFARO, H.; YURRITA, P.; HIGUEROS-MORALES, H.; MENCOS. F.; CRAIG, P. S. (1996). Epidemiology of Taeniasis and cysticercosis in two rural Guatemalan communities. *Am J Trop Med Hyg*, **55**, 282-289.
- GARCIA, H. H.; GILMAN, R.; MARTINEZ, M.; TSANG, V. C.; PILCHER, J. B.; HERRERA, G.; DIAZ, F.; ALVARADO, M.; MIRANDA, E. (1993). Cysticercosis as a major cause of epilepsy in Peru. The Cysticercosis Working Group in Peru (CWG). *Lancet*, **341**, 197-200.
- GARCÍA, H. H.; GILMAN, R.H.; CATACORA, M.; VERASTEGUI, M.; GONZALES, A.E.; TSANG, V.C.W.; THE CYSTICERCOSIS WORKING GROUP IN PERU. (1997). Serological evolution of neurocysticercosis patients after antiparasitic therapy. *J Infect Dis* **175**, 486-489.
- GARCÍA, H. H.; GONZÁLEZ, A. E.; EVANS, C. A. W.; GILMAN, R. H. ; TSANG, V.C.W.; THE CYSTICERCOSIS WORKING GROUP IN PERU. (2003). *Taenia solium* cysticercosis. *Lancet*, **362**, 547-556.
- GARCÍA, H. H.; GONZÁLEZ, A. E.; MARTÍNEZ, S. M.; GILMAN, R. H. (2001). Teniasis / cisticercosis por *Taenia solium* un serio problema de Salud Pública en el Perú. In Lima. *Oficina General de Epidemiología. Serie informes técnicos de investigación Epidemiológica N° 025. Ministerio de Salud del Perú* pp. 1- 92.
- GARCÍA, H. H.; MARTÍNEZ, S.M. (1996). *Teniasis/cysticercosis por Taenia solium*, 1 edn. Ed. Universo, Lima.
- GARCÍA, H. H.; MARTÍNEZ, S.M. (1999). *Taenia solium taeniasis/cysticercosis*, Second edn. Ed. Universo, Lima.
- GARCIA, H. H.; PARKHOUSE, R. M.; GILMAN, R. H.; MONTENEGRO, T.; BERNAL, T.; MARTINEZ, S. M.; GONZALEZ, A. E.; TSANG, V. C.; HARRISON, L. J. (2000). Serum antigen detection in the diagnosis, treatment, and follow-up of neurocysticercosis patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **94**, 673-676.
- GILMAN, R. H.; DEL BRUTTO, O. H.; GARCÍA, H. H.; MARTÍNEZ, M. (2000). Prevalence of taeniosis among patients with neurocysticercosis is related to severity of infection. The Cysticercosis Working Group in Peru. *Neurology*, **55**, 1062.
- GONZALEZ, A. E.; LOPEZ-URBINA, T.; TSANG, B. Y.; GAVIDIA, C. M.; GARCIA, H. H.; SILVA, M. E.; RAMOS, D. D.; MANZANEDO, R.; SANCHEZ-HIDALGO, L.; GILMAN, R. H.; TSANG, V. C. (2005). Short report: secondary transmission in porcine cysticercosis: description and their potential implications for control sustainability. *Am J Trop Med Hyg*, **73**, 501-503.
- GONZÁLEZ, L. M.; MONTERO, E.; HARRISON, L. J.; PARKHOUSE, R. M.; GARATE, T. (2000). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* infection by PCR. *J Clin Microbiol*, **38**, 737-744.
- GRAZZIOTIN, A.; FONTALVO, M.; FEIJÓ SANTOS, M.; MONEGO, F.;

- GRAZZIOTIN, A.; ZANINI KOLINSKI, V.; BORDIGNON, R.; BIONDO, A. A.; (2010). Epidemiologic pattern of patients with neurocysticercosis diagnosed by computed tomography in Curitiba, Brazil *Arq Neuropsiquiatr*, **68(2)**, 269-272.
- GRISOLIA, J. S.; WIEDERHOLT, W.C. (1982). CNS cysticercosis. *Arch Neurol*, **39**, 540-544.
- GUEZALA, M.; RODRÍGUEZ, S.; ZAMORA, H.; GARCÍA, H.; GONZÁLEZ, A.; TEMBO, A.; ALLAN, J.; CRAIG, P. (2009). Development of a Species-Specific Coproantigen ELISA for Human *Taenia solium* Taeniasis *Am. J. Trop. Med. Hyg*, **81(3)**, 433-437.
- HECHT, G.; GLOXHUBER, C. (1960). [Experimental studies on N-(2'-chloro-4'-nitrophenyl)-5-chlorosalicylamide, a new teniacide. 2. Toxicological studies.]. *Arzneimittelforschung*, **10**, 884-885.
- HIRA, P. R. I.; FRANCIS, N. A.; ABDELLA, R.; GUPTA, F.; M. , AI-ALI, S.; GROVER, N.; KHALID, S.; ABDEEN, J.; IQBAL, M.; WILSON ; TSANG, V. C. W. (2004). Cysticercosis: imported and autochthonous infections in Kuwait. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **98(4)**, 233-239.
- HOBERG, E. P. (2002). *Taenia* tapeworms: their biology, evolution and socioeconomic significance. *Microbes Infect*, **4**, 859-866.
- HUISA, B. N.; MENACHO, L. A.; RODRIGUEZ, S.; BUSTOS, J. A.; GILMAN, R. H.; TSANG, V. C.; GONZALEZ, A. E.; GARCIA, H. H. (2005). Taeniasis and cysticercosis in housemaids working in affluent neighborhoods in Lima, Peru. *Am J Trop Med Hyg*, **73**, 496-500.
- JERI, C.; GILMAN, R. H.; LESCANO, A. G.; MAYTA, H.; RAMIREZ, M. E.; GONZÁLEZ, A. E.; NAZERALI, R.; GARCÍA, H. H. (2004). Species identification after treatment for human taeniasis. *Lancet*, **363**, 949-950.
- JIMÉNEZ, J.; LEVINE, M. Z.; RODRÍGUEZ, S.; GARCÍA, H. H.; GONZÁLEZ, A. E.; GILMAN, R. H.; TSANG, V. C. W.; FOR THE CYSTICERCOSIS WORKING GROUP IN PERU (2004). Evaluation of an Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay using the recombinant antigen rES33 for stage-specific serological diagnosis of teniasis due to *Taenia solium* In *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 71(4) pp. 42. Miami-USA.
- JIMENEZ, J. A ; RODRIGUEZ, S.; MOYANO, L. M.; CASTILLO, Y.; GARCIA, H. H. (2010). Differentiating *Taenia* eggs found in human stools: does Ziehl-Neelsen staining help? *Trop Med Int Health*.
- LACLETTE, J. P.; ORNELAS, Y.; MERCHANT, M.T.; AL., E. (1982). Ultrastructure of the Surrounding Envelopes of *Taenia solium* Eggs. In *Cysticercosis: Present state of Knowledge and perspectives* (ed. A, F.), pp. 611. Academic Press, New York.
- LARRALDE, C.; DE ALUJA, A. (2006). *Cisticercosis Guía para Profesionales de la Salud*, Primera edn., México.
- LAU CHONG, C.; SAMALVIDES, C. ; TERASHIMA, A. (2005). Evaluación de técnicas parasitológicas en el diagnóstico de estrogiloidiasis por *Strongyloides stercoralis*. *Rev Med Hered*, **16(1)**.
- LEVINE, M. Z.; CALDERÓN, J. C.; WILKINS, P. P.; LANE, W. S.; ASARA, J. M.; HANCOCK, K.; GONZÁLEZ, A. E.; GARCÍA, H. H.; GILMAN, R. H.; TSANG, V. C. (2004). Characterization, cloning, and expression of two diagnostic antigens for *Taenia solium* tapeworm infection. *J Parasitol*, **90**, 631-638.

- LEVINE, M. Z.; LEWIS, M. M.; RODRIQUEZ, S.; JIMENEZ, J. A.; KHAN, A.; LIN, S.; GARCIA, H. H.; GONZALES, A. E.; GILMAN, R. H.; TSANG, V. C. W. (2007). Development of an Enzyme-Linked Immunoelctronfer Blot (EITB) assay using two Baculovirus expressed recombinant antigens for diagnosis of *Taenia solium* Taeniasis. *J. Parasitol*, **93**(2) 409–417.
- LOO, L.; BRAUDE, A. (1982). Cerebral cysticercosis in San Diego. A report of 23 cases and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)*, **61**, 341-359.
- LÓPEZ-CEPEDA, L.; PROAÑO, J.; AMBROSIO, J.; ÁVILA-RAMÍREZ, G.; FLISSER, A. (2001). Estudio de individuos con teniosis y su asociación con enfermos con neurocisticercosis. *Rev Fac Med UNAM*, **4**(4), 164-167.
- LUMBRERAS, H.; ALVAREZ, H ; TELLO, R.; TERASHIMA, A. (1975). Sobre valores reales de infestación entre Céstodos grandes del hombre: *T. saginata*, *T. solium*, *D. pacificum*, a propósito de 274 pacientes. In *Libro de Res. II Jorn. Per. Microb. y Par:* pp. 14-15 Trujillo
- LUMBRERAS, H.; TERASHIMA, A.; ALVAREZ, H.; TELLO, R. (1995). Practice of Infectious Diseases. In *Lib Res IV J.C. UPCH 8-9 IX 86. 10* (ed. Mandel, D. a. B.), pp. 2544-2548. Churchill Livingston N. York
- MAASS, M.; DELGADO, E.; KNOBLOCH, J. (1991). Detection of *Taenia solium* antigens in merthiolate form preserved stool samples. *Trop Med Parasitol.*, **42**, 112-114.
- MACO, V.; MARCOS, L.; TERASHIMA, A.; SAMALVIDES, F.; MIRANDA, E.; ESPINOZA, J.; GOTUZZO, E. (2002). Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola hepática*. *Rev Med Hered* **13**(2), 49-57.
- MARAVILLA, P.; AVILA, G.; CABRERA, V.; AGUILAR, L.; FLISSER, A. (1998). Comparative development of *Taenia solium* in experimental models. *J Parasitol*, **84**, 882-886.
- MARCOS, L.; MACO, V.; TERASHIMA, A.; SAMALVIDES, F.; TELLO, R.; GOTUZZO, E. (2003). Altas tasas de infección de parasitosis intestinal en diferentes regiones del Perú y la necesidad de implementación de programas de control y prevención: Un Problema de Salud Pública en Zonas Rurales. In *Jornadas Científicas. Abstracto 01. UPCH.*
- MARTÍNEZ-MAYA, J. J.; DE ALUJA, A. S.; AVILA-RAMIREZ, G.; AGUILAR-VEGA, L.; PLANCARTE-CRESPO, A.; JARAMILLO-ARANGO, C. J. (2003). [Taeniasis and detection of antibodies against cysticercus among inhabitants of a rural community in Guerrero State, Mexico.]. *Salud Publica Mex*, **45**, 84-89.
- MARTÍNEZ, H. R.; RANGEL-GUERRA, R.; ELIZONDO, G.; GONZALEZ, J.; TODD, L. E.; ANCER, J.; PRAKASH, S. S. (1989). MR imaging in neurocysticercosis: a study of 56 cases. *AJNR Am J Neuroradiol*, **10**, 1011-1019.
- MAYTA, H.; TALLEY, A.; GILMAN, R. H.; JIMÉNEZ, J.; VERÁSTEGUI, M.; RUIZ, M.; GARCÍA, H. H.; GONZÁLEZ, A. E. (2000). Differentiating *Taenia solium* and *Taenia saginata* infections by simple hematoxylin-eosin staining and PCR-restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol*, **38**, 133-137.
- MCCORMICK, G. F.; ZEE, C. S.; HEIDEN, J. (1982). Cysticercosis cerebri. Review of 127 cases. *Arch Neurol*, **39**, 534-539.
- MEHLHORN, H.; PIEKARSKI, G. (1993). *Fundamentos de parasitología*, Ed Acribia, Zaragoza-España.
- MERVIS, B.; LOTZ, J. W. (1980). Computed tomography (CT) in parenchymatous

- cerebral cysticercosis. *Clin Radiol*, **31**, 521-528.
- MEZA-LUCAS, A.; AGUILAR REBOLLEDO, F. (2002). Teniasis humana por *Taenia solium*. *Rev Mex Patol Clin*, **49(2)**, 92-99.
- NÁQUIRA C. (1999a). *Taenia solium*: biological cycle and characteristics. In *Taenia solium taeniasis/cysticercosis* (eds. Garcia, H. H. & Martinez, S. M.), pp. 7-14. Ed. Universo, Lima.
- NÁQUIRA C. (1999b). Biological cycle and characteristics in Taeniasis/Cisticercosis by *Taenia solium*. In *Taenia solium*, Vol. Section 1 (ed. H.H.García/S.M. Martínez), Editorial Universo, Lima.
- NÁQUIRA C. (2005). Nomenclatura de la Infecciones Parasitarias. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*, **22(2)**, 150.
- NASH, T. E.; NEVA, F.A. (1984). Recent advances in the diagnosis and treatment of cerebral cysticercosis. *N Engl J Med*, **311**, 1492-1496.
- NIEVES, O. M.; GUNA-SERRANO, M. N.; PÉREZ, J. L.; GIMENO-CARDONA, S. C. (2005). Diagnóstico de la teniasis intestinal. *Programa de Control de Calidad, SEIMC. Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario y Facultad de Medicina, Valencia. España*, 1- 9.
- OPS (1993). Epidemiología y control de la Teniasis/Cisticercosis. *OPS/OMS, Versión 2.0*.
- PAJUELO-CAMACHO, G.; LUJÁN-ROCA, D.; PAREDES-PÉREZ, B.; TELLO-CASANOVA, R. (2006). Aplicación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico de parásitos intestinales. *Rev Biomed*, **17**, 96-101.
- PAWLOWSKI, Z. S. (2002). *Taenia solium: Basic Biology and Transmission*, En: Singh G. and Prabhakar S. *Taenia solium Cysticercosis* edn. Ed G. Singh and S. Prabhakar. CAB International, New York.
- PAWLOWSKI, Z. S. (2006). Role of chemotherapy of taeniasis in prevention of neurocysticercosis. *Parasitol Int*, **55**, 105-109.
- PAWLOWSKI, Z. S., ALLAN, J. and SARTI, E. (2005). Control of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis: From research towards implementation. *International Journal for Parasitology*, **35**, 1221-1232.
- PAWLOWSKI, Z. S., SCHULTZ, M.G. (1972). Taeniasis and cysticercosis (*Taenia saginata*). *Adv Parasitol*, **10**, 269-343.
- PEARSON, R. D.; HEWLETT, E.L. (1985). Niclosamide Therapy for Tapeworm Infections. *Annals of Internal Medicine*, **102(4)**, 550-551.
- PRASAD, K. N.; PRASAD, A.; GUPTA, R. K.; PANDEY, C. M.; SINGH, U. (2007). Prevalence and associated risk factors of *Taenia solium* taeniasis in a rural pig farming community of north India. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2007 **101(12)**, 1241-1247.
- RODRÍGUEZ, D. J. (1996). Norma oficial Mexicana, NOM-021-SSA2-1994, para la vigilancia, prevención y control del complejo teniosis/cisticercosis en el primer nivel de atención médica. In *Diario Oficial de la Federación Mexicana*.
- RODRÍGUEZ, R. (2001). Diferenciación de *Taenia saginata* y *Taenia solium* y Prevalencia de *Cysticercus bovis* en el Norte del Ecuador. In *Prince Leopoldo. Institute of Tropical Medicine, Dep of Veterinay Medicine. Belgium*.
- SARTI, E. (1989). Epidemiología de la Teniosis/Cisticercosis. pp. 233-232. Limusa, Noriega. En: Flisser A, Malagón F, México DF.
- SARTI, E. (1997). [Taeniasis and cysticercosis due to *Taenia solium*]. *Salud Pública Mex*, **39**, 225-231.

- SARTI, E.; SCHANTZ, P. M.; PLANCARTE, A.; WILSON, M.; GUTIERREZ, I. O.; LOPEZ, A. S.; ROBERTS, J.; FLISSER, A. (1992). Prevalence and risk factors for *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos, México. *Am J Trop Med Hyg*, **46(6)**, 677-685.
- SARTI, E.; SCHANTZ, P. M.; PLANCARTE, A.; WILSON, M.; GUTIERREZ, O. I.; AGUILERA, J.; ROBERTS, J.; FLISSER, A. (1994). Epidemiological investigation of *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in a rural village of Michoacan state, México. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **88(1)**, 49-52.
- SARTI, E.; SCHANTZ, P.M.; LARA-AGUILERA, R.; GOMEZ-DANTES, H.; FLISSER, A. (1988). *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in a Mexican village. *Trop Med Parasitol*, **39**, 194-198.
- SCHANTZ, P., M.; TANOWITZ, H.; WITTNER, M. (2000). Cestode Infections. In: Strickland G. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. pp. 851-861. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- SCHANTZ, P. M.; MOORE, A. C.; MUNOZ, J. L.; HARTMAN, B. J.; SCHAEFER, J. A.; ARON, A. M.; PERSAUD, D.; SARTI, E.; WILSON, M.; FLISSER, A. (1992). Neurocysticercosis in an Orthodox Jewish community in New York City. *N Engl J Med*, **327**, 692-695.
- SCHANTZ, P. M.; SARTI-GUTIERREZ, E. (1989). Diagnostic methods and epidemiologic surveillance of *Taenia solium* infection. *Acta Leiden*, **57**, 153-163.
- SCHENONE, H.; RAMÍREZ, R.; ROJAS, A. (1973). Aspectos epidemiológicos de la neurocisticercosis en América Latina. *Bol Chile Parasit*, **28**, 61-72.
- SHANLEY, J. D.; JORDAN, M.C. (1980). Clinical aspects of CNS cysticercosis. *Arch Intern Med*, **140**, 1309-1313.
- SILVERMAN, P. H. (1954). Studies on the biology of some tapeworms of the genus *Taenia*. I. Factors affecting hatching and activation of taenid ova, and some criteria of their viability. *Ann Trop Med Parasitol*, **48**, 207-215.
- SOTELO, J.; GUERRERO, V.; RUBIO, F. (1985). Neurocysticercosis: a new classification based on active and inactive forms. A study of 753 cases. *Arch Intern Med*, **145**, 442-445.
- SUSS, R. A.; MARAVILLA, K. R.; THOMPSON, J. (1986). MR imaging of intracranial cysticercosis: comparison with CT and anatomopathologic features. *AJNR Am J Neuroradiol*, **7**, 235-242.
- TAKAYANAGUI, O. M.; JARDIM, E. (1983). [Clinical aspects of neurocysticercosis: analysis of 500 cases]. *Arq Neuropsiquiatr*, **41**, 50-63.
- TELLO, R.; CANALES, M. (2000). Técnicas de diagnóstico de enfermedades causadas por enteroparásitos. *Diagnóstico, Perú*, **39**, 197-198.
- TERASHIMA, A.; ALVAREZ H. (2000). Teniasis por *T. saginata*. *Diagnóstico*, **39:4**.
- TOWBIN, H.; STAHELIN, T.; G., J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyarylamide gels to nitrocellulose sheet: Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 4350-4354.
- TSANG, V. C. (1987). The Enzyme-Linked Inmunoelctrotransfer Blot (Western-Blot): Technical considerations. In *Reprint from integration and control of metabolic processes*. pp. 489-500.
- TSANG, V. C.; BERS, G. E.; HANKOCK, K. (1985). Enzyme-linked Inmunoelctrotransfer Blot (EITB). In *Ngo and Lenhoff, Enzyme-mediated Inmunoassay, Plenum, New York. USA*, 389-414.
- TSANG, V. C.; BOYER, A. E.; CHOU-PONG, P. (1991). Enzyme-linked Inmunoelctrotransfer Blot Technique. (Western-Blot) for Human

- Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Antibodies. Immunology. In *Series No 15. Procedural Guide* pp. 41. 2da Ed. CDC.
- TSANG, V. C.; BRAND, J. A.; BOYER, A. E. (1989). An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis*, **159**, 50-59.
- TSANG, V. C.; PERALTA, J. M.; SIMONS, A. R. (1983). Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot techniques (EITB) for studying the specificities of antigens and antibodies separated by gel electrophoresis. *Methods Enzymol*, **92**, 377-391.
- UBEIRA, F.; MUIÑO, L.; VALERO, A.; PERIAGO, M.; PÉREZ-CRESPO, I.; MEZO, M. E. A. (2009). MM3- ELISA detection of *Fasciola hepatica* coproantigens in preserved human stool samples. *Am J Trop Med Hyg*, **81**, 156-162.
- VALERO, M.; UBEIRA, F.; KHOUBBANE, M.; ARTIGAS, P.; MUIÑO, L.; MEZO, M. E. A. (2009). MM-3 ELISA evaluation of coproantigen release and serum antibody production in sheep experimentally infected with *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *Vet Parasitol.*, **159**, 77-81.
- WHITE, A. C., JR. (1997). *Neurocysticercosis: a major cause of neurological disease worldwide*.
- WILKINS, P. P.; ALLAN, J. C.; VERÁSTEGUI, M.; ACOSTA, M.; EASON, A. G.; GARCÍA, H. H.; GONZÁLEZ, A. E.; GILMAN, R. H.; TSANG, V. C. (1999). Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* taeniasis. *Am J Trop Med Hyg*, **60**, 199-204.
- YÁBAR, C. A. (2003). Manual de Procedimiento de Electroforesis para Proteínas y ADN. In *Serie de Normas Técnicas N°38. Instituto Nacional de Salud. Lima*.
- YOSHINO, K. (1933). Studies on the post-embryonal development of *Taenia solium*: III. On the development of *Cysticercus cellulosae* within the definitive intermediate host. *J Med Assoc Formosa*, **32**, 166-169.

## ANEXOS

### ANEXO 1

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO N°1

**INSTITUCIÓN:** Universidad Peruana Cayetano Heredia. Instituto de Ciencias Neurológicas

**INVESTIGADOR:** Héctor H. García, Juan Jiménez, Javier A. Bustos

**PROYECTO “Determinación de la eficacia de la Niclosamida en el Tratamiento de teniasis por T. solium”**

#### Padres

El resultado del examen de heces de su hijo/a es positivo a teniasis, esto significa que su hijo/a tiene un gusano llamado “solitaria”. El mejor tratamiento actual para este parásito implica el uso de Niclosamida (medicina que mata el parásito) y un purgante. Existen otras medicinas pero son menos efectivas para tratar esta enfermedad. Le estamos ofreciendo este tratamiento sin costo alguno como parte de un estudio de investigación para evaluar la eficacia de este tratamiento. El tratamiento será supervisado por un médico del estudio. Usaremos un purgante llamado Nulitely. En este estudio participarán 40 personas.

Si acepta ser tratado, su hijo/a, recibirá una sola dosis de 2 g de Niclosamida (cuatro pastillas de 500 mg), dos horas después del tratamiento, su hijo/a, será purgado con aproximadamente dos litros del líquido purgante (Nulitely, un vaso lleno cada diez minutos), para eliminar el parásito. El uso del purgante no es estrictamente necesario, sin embargo esto ayudará a eliminar el parásito e identificarlo. No debe consumir alcohol durante el tratamiento. Si su hija está gestando no puede recibir tratamiento con niclosamida durante los tres primeros meses de embarazo. Antes de recibir el tratamiento con Niclosamida, a las mujeres de 12–49 años se les solicitará una prueba de embarazo.

Después del tratamiento se le solicitará tres muestras de heces los días 3, 7, 15, 30 y 90. Si alguno de estos resultados muestra que sigue con el parásito se le dará un segundo tratamiento con Prazicuantel.

Durante el tratamiento su hijo/a puede sentir algunos síntomas. La niclosamida puede causar náuseas, vómitos, pérdida del apetito, dolor abdominal y diarrea. En menor frecuencia se experimenta sabor desagradable y estreñimiento y más raramente aun, mareos dolor de cabeza e irritabilidad. Estas molestias pasan por sí solas. Los efectos adversos producidos son náuseas, sensación de plenitud abdominal y gases. En menor frecuencia se observa cólicos abdominales, vómitos, ardor en la región anal y reacción alérgica, la cual puede ser severa.

Después del tratamiento su hijo/a puede expulsar algunos pedazos del gusano o el gusano entero. Este material será recolectado y puede ser usado para el desarrollo de vacunas o pruebas diagnósticas.

Si los resultados de este estudio son publicados, las personas que participan en este estudio no serán nombradas o identificadas. La información en este estudio será mantenida como confidencial. Los datos de este estudio sólo estarán disponibles para los investigadores de este estudio, para la institución financiadora o para alguna supervisión autorizada. Sus registros no serán mostrados a ninguna persona extraña al estudio sin su consentimiento. Usted puede hacer preguntas acerca de esta investigación al personal del

estudio en cualquier momento.

La participación de su hijo/a en este estudio es completamente voluntaria, su hijo/a recibirá la misma calidad de atención médica si decide participar o no participar en este estudio. Puede retirarse del estudio en cualquier momento, o puede no participar de alguna parte del estudio sin ningún problema. Si usted tiene alguna duda, por favor pregunte al personal del estudio o llame al Dr. Hugo García al 01-3287360 (Lima).

Si usted desea hablar acerca de este estudio de investigación porque cree que no ha sido tratado justamente o que se le ha hecho algún daño al participar del estudio, por favor comuníquese con el Dr. Humberto Guerra, presidente del Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, al (01) 3190005 anexo 2271.

**CONSENTIMIENTO:**

Yo acepto que mi su hijo/a sea tratado. Este procedimiento ha sido explicado a mí su hijo/a de modo que él/ella ha podido entenderlo. Mi hijo/hija acepta ser tratada.

Firmas:

\_\_\_\_\_  
Participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo (si el participante es analfabeto)

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Médico

\_\_\_\_\_  
Fecha

## **CONSENTIMIENTO INFORMADO N°2**

**INSTITUCIÓN: Universidad Peruana Cayetano Heredia. Instituto de Ciencias Neurológicas**

**INVESTIGADOR: Héctor H. García, Juan Jiménez, Javier A. Bustos**

**PROYECTO “Determinación de la eficacia de la Niclosamida en el Tratamiento de teniasis por T. solium”**

**Pacientes mayores de 12 años**

El resultado del examen de heces es positivo a teniasis, esto significa que usted tiene un gusano llamado “solitaria”. El mejor tratamiento actual para este parásito implica el uso de Niclosamida (medicina que mata el parásito) y un purgante. Existen otras medicinas pero son menos efectivas para tratar esta enfermedad. Le estamos ofreciendo este tratamiento sin costo alguno como parte de un estudio de investigación para evaluar la eficacia de este tratamiento. El tratamiento será supervisado por un médico del estudio. Usaremos un purgante llamado Nulitely. En este estudio participarán 40 personas.

Si acepta ser tratado, recibirá una sola dosis de 2 g de Niclosamida (cuatro pastillas de 500 mg), dos horas después del tratamiento, su hijo/a, será purgado con aproximadamente dos litros del líquido purgante (Nulitely, un vaso lleno cada diez minutos), para eliminar el parásito. El uso del purgante no es estrictamente necesario, sin embargo esto ayudará a eliminar el parásito e identificarlo. No debe consumir alcohol durante el tratamiento. Si su hija está gestando no puede recibir tratamiento con niclosamida durante los tres primeros meses de embarazo. Antes de recibir el tratamiento con Niclosamida, a las mujeres de 12–49 años se les solicitará una prueba de embarazo.

Después del tratamiento se le solicitará tres muestras de heces los días 3, 7, 15, 30 y 90. Si alguno de estos resultados muestra que sigue con el parásito se le dará un segundo tratamiento con Prazicuantel.

Durante el tratamiento usted puede sentir algunos síntomas. La niclosamida puede causar náuseas, vómitos, pérdida del apetito, dolor abdominal y diarrea. En menor frecuencia se experimenta sabor desagradable y estreñimiento y más raramente aun ,, mareos dolor de cabeza e irritabilidad. Estas molestias pasan por si solas. Los efectos adversos producidos son náuseas, sensación de llenura abdominal y gases. En menor frecuencia se observa cólicos abdominales, vómitos, ardor en la región anal y reacción alérgica, la cual puede ser severa.

Después del tratamiento su hijo/a puede expulsar algunos pedazos del gusano o el gusano entero. Este material será recolectado y puede ser usado para el desarrollo de vacunas o pruebas diagnósticas.

Si los resultados de este estudio son publicados, las personas que participan en este estudio no serán nombradas o identificadas. La información en este estudio será mantenida como confidencial. Los datos de este estudio sólo estarán disponibles para los investigadores de este estudio, para la institución financiadora o para alguna supervisión autorizada. Sus registros no serán mostrados a ninguna persona extraña al estudio sin su consentimiento. Usted puede hacer preguntas acerca de esta investigación al personal del estudio en cualquier momento.

Su participación en este estudio es completamente voluntaria, usted recibirá la misma calidad de atención médica si decide participar o no participar en este estudio. Puede

retirarse del estudio en cualquier momento, o puede no participar de alguna parte del estudio sin ningún problema. Si usted tiene alguna duda, por favor pregunte al personal del estudio o llame al Dr. Hugo García al 01-3287360 (Lima).

Si usted desea hablar acerca de este estudio de investigación porque cree que no ha sido tratado justamente o que se le ha hecho algún daño al participar del estudio, por favor comuníquese con el Dr. Humberto Guerra, presidente del Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, al (01) 3190005 anexo 2271.

CONSENTIMIENTO:

Yo acepto ser tratado. Comprendo lo que me pasara si es que yo acepto ser tratado con estos medicamentos, también entiendo que puedo decidir no ser tratado.

Firmas:

\_\_\_\_\_  
Participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo (si el participante es analfabeto)

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Médico

\_\_\_\_\_  
Fecha

**CONSENTIMIENTO INFORMADO N°3**

**INSTITUCIÓN:** Universidad Peruana Cayetano Heredia. Instituto de Ciencias Neurológicas

**INVESTIGADOR:** Héctor H. García, Juan Jiménez, Javier A. Bustos

**PROYECTO** “Determinación de la eficacia de la Niclosamida en el Tratamiento de teniasis por T. solium”

**5 a 12 años/ Texto a ser leído a los pacientes**

Hola mi nombre es \_\_\_\_\_ Tú tienes un gusano en tu barriga. Tú necesitas tomar una medicina para matar ese gusano. Si tú aceptas ser tratado te daremos una pastilla para que la tragues y un poco de líquido para eliminar ese gusano. Después de esto te pediremos algunas muestras heces para asegurarnos que te hayas curado.

Tú puedes tener algunas molestias a causa del tratamiento. El tratamiento podría causar náuseas, vómitos, pérdida del apetito, dolor abdominal, diarrea, hinchura abdominal, gases, y otras molestias menos frecuentes como dolor de cabeza. Estos síntomas pasan por sí solos. Tus padres han sido informados y están de acuerdo en que seas tratado. Ellos estarán contigo todo el tiempo.

¿Tienes alguna pregunta?

¿Deseas colaborar con nosotros?

Firmas

\_\_\_\_\_

Padres o apoderado

\_\_\_\_\_

Fecha

\_\_\_\_\_

Testigo (si los padres son analfabetos)

\_\_\_\_\_

Fecha

\_\_\_\_\_

Médico

\_\_\_\_\_

Fecha

## ANEXO 2

### DIFERENCIACIÓN DE PROGLÓTIDOS GRÁVIDOS MEDIANTE SU ESTUDIO MORFOLÓGICO CON EL MÉTODO DE COLORACIÓN CARMÍN DE SEMICHON.

Se escogieron proglótidos grávidos de los especímenes eliminados por los pacientes, pos tratamiento, los cuales se lavaron varias veces en agua y se procedió a prensarlos entre dos láminas amarrados con pabilo y fijarlos en A.F.A. (alcohol- formol- ácido acético) por 24 horas. En el caso de escólex se procedió la misma manera.

Se retiraron del fijador y se colocaron en alcohol al 70%. Se procedió a colocar el espécimen en colorante carmín de Semichon por espacio de 30 minutos a una hora. Luego se procedió a retirar el exceso de colorante con alcohol-HCl al 1%, hasta observar la diferenciación de estructuras (ventosas y/o ganchos, en el caso de los escólex) o ramas uterinas con la ayuda de un microscopio.

Luego se colocaron los proglótidos en un gradiente de alcoholes (30%, 70%, 96% 100%, 100%), por espacio de 10 minutos cada uno y en alcohol-xilol, por 5 minutos. Finalmente en xilol, y se monto con Cytoceal en una lámina portaobjeto para su observación (Botero, 2003)

Para el diagnóstico de especie se utilizó un microscopio.de luz. Para los proglótidos grávidos de *T. solium* el conteo de ramas uterinas fue de 7, mientras que para *T. saginata* fue de 18 ramas uterinas.

## ANEXO 3

### IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Taenia* sp. MEDIANTE PCR-RFLP

#### EXTRACCIÓN DE ADN

1. Colocar un proglótido de *Taenia* en un eppendorf nuevo y limpio de 1.5ml, y agregar 500ul de buffer de lisis (100mM Tris-HCl, 100mM EDTA ,0.5% SDS).
2. Vortexear, agregar 40 µl de proteinasa K e incubar la muestra a 55°C hasta que el tejido haya sido completamente lisado (la muestra deberá ser agitada cada 20 o 30 min.).
3. Agregar un volumen similar de una mezcla de fenol-cloroformo-isoamyl alcohol (25:24:1), vortexear y centrifugar durante 6 min. a 12000 rpm (se formaran tres fases luego de centrifugar la muestra).
4. Tomar 400-500 µl del sobrenadante, colocarlo en un nuevo tubo eppendorf de 1.5ml, agregar un volumen similar de la mezcla fenol-cloroformo-isoamyl y vortexear.
5. Centrifugar durante 6 min. a 12000 rpm., tomar 300-400ul del sobrenadante y vaciar en otro eppendor nuevo.
6. Agregar 600 µl de una mezcla cloroformo-isoamyl alcohol (24:1), vortexear y centrifugar durante 6 min. a 12000 rpm.
7. Tomar 200 µl del sobrenadante, colocarlo en otro eppendorf nuevo y agregar 440 µl de etanol absoluto y 20 µl de Acetato de Sodio 3M pH 5, agitar suavemente y colocar la muestra a -70°C durante 1 hora o a -20°C durante toda la noche.
8. Luego centrifugar durante 6 min. a 12000 rpm, decantar el sobrenadante y mantener el pellet formado.
9. Lavar el pellet con 400 µl de etanol al 70%, por lo menos en dos ocasiones, centrifugando y decantado el sobrenadante cada vez.
10. Por último dejar secar El pellet a temperatura ambiente o con calor y después resuspenderlo en 200 µl de agua destilada estéril precalentada a 70°C. Rotular bien y guardar hasta ser usada.

## 1. PCR:

Programa: TENIAS

Ciclamiento: 94° C durante 4 min.

94° C durante 1 min.

56° C durante 1 min.

72° C durante 2 min.

32 ciclos

72° C durante 4 min.

Primers:

BD1: 5' –GTC GTA ACA AGG TTT CCG TA-3'

TSS1: 5' –ATA TGC TTA AGT TCA GCG GGT AAT C-3'

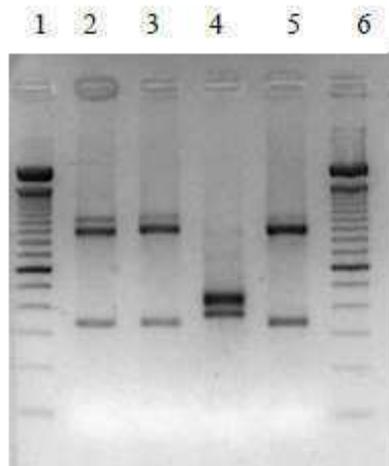
Preparación del Master Mix:

<u>STOCK</u>	<u>{ } Final</u>	<u>Vol. * tubo</u>
Buffer de PCR 10X	1X	5.0 ul
MgCl <sub>2</sub> 25mM	2,5mM	5.0 ul
dNTPs 2.5mM	0.2mM	4.0 ul
BD1 10uM	0.4uM	2.0 ul
TSS1 10uM	0.4uM	2.0 ul
Taq 5U/ul	1.5 U	0.3 ul
H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> PCR		27.7 ul
DNA		4.0 ul
Vol. Final		50 ul

## 2. ANALISIS POR RFLP:

- Si se detecta una banda fuerte de aprox. 1.2 Kb (mediante una corrida electroforética de los productos de amplificación del PCR en un gel de agarosa al 2%), se digieren 8 µl del producto de PCR en un volumen total de 15 µl con la enzima de restricción Ddel de acuerdo al protocolo del fabricante. Brevemente, se colocan 8 µl del producto de PCR, 1.5 µl del Ddel Buffer 10X, 5.2 µl de agua destilada estéril y 0.3 µl de la enzima Ddel en un tubo de reacción (15 µl en total) y se incuba a 37°C durante toda la noche.
- Luego de la incubación durante toda la noche, se procede a inactivar la enzima mediante un calentamiento de la muestra a 65°C durante 15 min.
- Se prepara un nuevo gel de agarosa al 2% (con TAE 1X y bromuro de etidio para visualizar el DNA) para correr mediante electroforesis los productos digeridos por la enzima.

- Observar el gel utilizando un transiluminador de luz UV, los patrones para cada especie son característicos de acuerdo al enzima utilizado, tal como se puede observar en la siguiente foto :



Línea 1: 100bp Ladder  
Línea 2: muestra 1  
Línea 3: muestra 2  
Línea 4: *T. solium*  
Línea 5: *T. saginata*  
Línea 6: 100bp Ladder

## DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

1) Criterios diagnósticos: Criterios que guían a la sospecha de un portador de teniasis:

- Microscopía = Presencia de huevos de *Taenia sp.* confirmada por lectura en por lo menos una muestra de heces.

- Coproantígeno (CoAg) = Resultado de CoAg positivo según los criterios:

\**T. solium* = CoAg con PP > 40 en por lo menos dos muestras antes o durante el tratamiento.

\**T. solium* = por lo menos 1 muestra huevo positivo confirmado por relectura con PP >40.

\**T. solium* = por lo menos 1 muestra huevo positivo confirmado por relectura con PP < 40 y rES33 +.

\**T. saginata* = Huevo positivo confirmado por relectura y por lo menos 3 muestras dentro de un rango de 2 semanas previas o durante el tratamiento con CoAg negativo. De haber más muestras todas deben ser negativas.

\**Taenia sp.* = Huevo positivo confirmado por relectura, con valores de PP para coproantígeno que no cumplen los criterios anteriores.

- EE = Eliminación espontánea/laboratorio (hallazgo de una tenia o parte de ella durante la examinación de una muestra de heces en el laboratorio) o Eliminación espontánea/paciente (hallazgo de una tenia o parte de ella por el propio paciente).

- SUERO = Western blot positivo para el Ag recombinante (rES33) para el diagnóstico de teniasis.

- TRATAMIENTO DIRIGIDO: procedimiento por el cual un paciente recibe tratamiento, previo resultado parasitológico de acuerdo al criterio diagnóstico.

- TRATAMIENTO MASIVO: procedimiento por el cual un paciente recibe tratamiento, sin resultado parasitológico previo.

2) Porcentaje de positividad (PP): División del OD (Densidad óptica) promedio de los pocitos de la muestra (2) entre el OD promedio del Pool Positivo de la lista de controles x 100.

3) Diagnóstico presuntivo: Se presume un diagnóstico de especie en base a los valores de CoAg, serología u otros:

- *T. solium* = CoAg con PP > 40 en por lo menos dos muestras antes o durante el tratamiento.

- *T. solium* = por lo menos 1 muestra huevo positivo confirmado por relectura con

PP >40.

- *T. solium* = por lo menos 1 muestra huevo positivo confirmado por relectura con PP < 40 y rES33 +

- *T. saginata* = Huevo positivo confirmado por relectura y por lo menos 3 muestras dentro de un rango de 2 semanas previas o durante el tratamiento con CoAg negativo.

- *Taenia sp.* = Huevo positivo confirmado por relectura con PP que no cumplen los criterios anteriores.

- NCC calcificada = formas inactivas, que son los parásitos muertos que se observan en forma de calcificaciones.

- NCC formas transicionales o granulomatosas = que son parásitos en proceso de degeneración.

-NCC formas activas = que son los parásitos vivos o también denominados viables.

## FICHA EPIDEMIOLÓGICA DE PACIENTES CON TENIASIS

- ✚ Autogenerado : \_\_\_\_\_
- ✚ Departamento : \_\_\_\_\_
- ✚ Edad : \_\_\_\_\_ Años
- ✚ Sexo : (F) (M)
- ✚ Peso : \_\_\_\_\_ Kg.
- ✚ Fecha de inclusión al estudio : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- ✚ Fecha de la entrevista : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- ✚ Fecha del diagnóstico coprológico basal : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- ✚ Área de Procedencia (lugar donde ha habitado la mayor parte del último año):
- Urbana ( )
  - Rural ( )
  - Otros ( )

✚ ¿Tiene resultados de laboratorio para *Taenia* sp.?

A. Sí ( )

B. No ( )

Si la respuesta es afirmativa, cuáles son:

• Microscopía de heces Positivo ( ) Negativo ( )

• Coproantígeno Positivo ( ) Negativo ( )

• Antígeno recombinante rES33 Positivo ( ) Negativo ( )

Cuál fue la fecha del resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

✚ ¿Alguna vez ha eliminado pedazos de gusano aplanado con sus deposiciones?

C. Sí ( )

D. No ( )

Si la respuesta es afirmativa, cuál fue la fecha de la última eliminación:

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

✚ ¿Alguna vez ha tomado algún antiparasitario por receta médica o cuenta propia?

A. Sí ( )

B. No ( )

Si la respuesta es afirmativa, cuál fue la fecha de la última eliminación:

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Recuerda cómo se llamaba: .....

✚ ¿Alguna vez le han tomado una Tomografía Axial Computarizada o Resonancia Magnética?

○ Sí ( )

○ No ( )

Si la respuesta es afirmativa, cuál fue el resultado diagnóstico:

○ Normal ( )

○ Presencia de quistes viables ( )

○ Presencia de Granulomas ( )

○ Presencia de calcificaciones ( )

○ Otros ( )

## CUESTIONARIO

1. ¿Qué tipos carne utiliza para la preparación de los platos que usted consume?  
.....
2. Dentro de los platos que figuran a continuación, cuál consume usted con mayor frecuencia:
  - A. Adobo de chanco ( )
  - B. Adobo de res ( )
  - C. Chicharrón ( )
  - D. Pasado por agua ( )
  - E. Sancochado ( )
  - F. Chuleta frita ( )
  - G. Otro: \_\_\_\_\_
3. ¿En qué lugar es más frecuente el consumo de estos platos? *Asigne orden de prioridades*
  - A. En su domicilio ( )
  - B. Restaurantes ( )
  - C. Comedores populares ( )
  - D. Vendedores ambulantes ( )
  - E. Otros: \_\_\_\_\_
4. ¿Con qué frecuencia consume carne de cerdo/ vacuno?
  - A. Diario ( )
  - B. Semanal ( )
  - C. Mensual ( )
5. Marque cuál de los siguientes síntomas ha presentado en el último año.
  - A. Diarrea ( )
  - B. Dolor Abdominal ( )
  - C. Anorexia ( )
  - D. Estreñimiento ( )
  - E. Quemazón o sensibilidad en la lengua ( )
  - F. Pérdida de peso ( )
  - G. Palidez (pérdida de color en la piel) ( )
  - H. Cansancio y/o debilidad muscular ( )