

## ARTÍCULOS ORIGINALES

INSTITUTO DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA, UNIVERSIDAD DE LOS ANDES, MÉRIDA,  
VENEZUELA

### Inmunodiagnóstico de la neurocisticercosis: estudio comparativo de extractos antigénicos de *Cysticercus cellulosae* y *Taenia crassiceps*

Dra. Nineth Rossi,<sup>1</sup> Dr. Ivan Rivas,<sup>2</sup> Dr. Manuel Hernández<sup>3</sup> y Dra. Haideé Urdaneta<sup>4</sup>

#### RESUMEN

Se evaluaron diferentes extractos antigénicos de *Taenia solium* y de *Taenia crassiceps* en la detección de anticuerpos en pacientes con neurocisticercosis, con el objetivo de seleccionar antígenos inmunorrelevantes para el diagnóstico de la neurocisticercosis por medio del ensayo inmunoenzimático e *immunoblotting*. El fluido vesicular de *T. crassiceps* mostró ser más sensible (100 %) y específico (86 %). Por medio del *immunoblotting* se observó también, que este extracto fue el más sensible y específico. Dentro del perfil proteico del antígeno, la banda mayormente reconocida por el suero y líquido cefalorraquídeo de pacientes con neurocisticercosis fue la de 18 kDa. El fluido vesicular de la *T. crassiceps* por su alta sensibilidad y especificidad y por su facilidad de obtención en condiciones controladas de laboratorio, representa una alternativa en la optimización del diagnóstico de la neurocisticercosis en el suero y líquido cefalorraquídeo y en la sustitución de los antígenos de *T. solium*.

**Descriptores DeCS:** NEUROCISTICERCOSIS/diagnóstico; NEUROCISTICERCOSIS/ inmunología; TENIASIS, ANTIGENOS HELMINTICOS; TEST DE ELISA/métodos; IMMUNOBLOTTING.

La neurocisticercosis (NCC) es la enfermedad parasitaria más frecuente del sistema nervioso central causada por la invasión al cerebro del metacéstode de *T. solium* (*Cysticercus cellulosae*). El diagnóstico se realiza mediante la combinación de criterios clínicos y paraclínicos, como la tomografía computadorizada y la resonancia magnética. Este diagnóstico muchas veces resulta complicado e insuficiente por el pleomorfismo del cuadro clínico<sup>1</sup> y el costo de las técnicas

imagenológicas,<sup>2</sup> de ahí la importancia de los métodos inmunológicos. Existen en el mercado varias pruebas inmunológicas,<sup>3-6</sup> con algunas limitaciones por causa de la calidad de las preparaciones antigénicas usadas.

Varios autores han demostrado similitud estructural, morfológica e inmunológica entre los antígenos de *T. solium* y *Taenia crassiceps*.<sup>7-9</sup> Estos últimos podrían sustituir a los de *T. solium* en el inmunodiagnóstico, por la ventaja de que el parásito se desarrolla rápido en la cavidad peritoneal de

<sup>1</sup> Máster en Inmunología.

<sup>2</sup> Especialista en Medicina Interna.

<sup>3</sup> Profesor Titular.

<sup>4</sup> Profesora Titular.

ratones, se puede obtener fácilmente y en condiciones controladas de laboratorio, tanto *in vivo* como *in vitro*.<sup>7,8,10</sup>

El objetivo de este trabajo fue estudiar los diferentes extractos antigénicos provenientes de *T. crassiceps*, para seleccionar, entre ellos, antígenos relevantes para el diagnóstico, con el uso de sueros y LCR de pacientes con NCC activa y de controles, por medio de 2 técnicas inmunodiagnósticas vigentes como son el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y el ensayo de *immunoblotting* (EITB).

## MÉTODOS

**Criterios de inclusión:** Pacientes hospitalizados o controlados por la Unidad de Neurología del Instituto Autónomo del Hospital Universitario de Los Andes con diagnóstico confirmado de NCC por la clínica, estudio de neuroimagen y serología positiva. Como controles, pacientes en los que se había realizado una punción lumbar con la finalidad del diagnóstico para cualquier otro tipo de patología neurológica, y pacientes con otras enfermedades infecciosas.

**Criterios de exclusión:** Pacientes con NCC en fase inactiva: presencia de granulomas calcificados ubicados en el nivel del parénquima cerebral y pacientes con NCC pero en quienes se contraindicó la realización de una punción lumbar.

**Sueros:** 30 sueros; 10 de pacientes con NCC confirmada y 20 sin NCC, de los cuales 11 eran de pacientes con otras enfermedades neurológicas y 9 de controles sanos: 3 mezclas de sueros con resultados negativos para ELISA, 4 de pacientes residentes en áreas no endémicas (Sur de Carolina, EE.UU.) y 2 de cordón umbilical de niños de madres con resultados negativos para ELISA. También se incluyeron 33 sueros de individuos con otras enfermedades infecciosas: 24 de pacientes con infecciones parasitarias, 3 con enfermedades bacterianas.

**Líquidos cefalorraquídeos (LCR):** 19 muestras de LCR distribuidas de la forma siguiente; 7 de pacientes con NCC confirmada y 12 sin la enfermedad, de los cuales 11 con otras enfermedades neurológicas no asociadas a la NCC, y una mezcla de 22 LCR de pacientes con resultados negativos por la prueba ELISA.

**Obtención de *C. cellulosae*:** Los quistes fueron obtenidos de músculo esquelético de cerdos infectados naturalmente. A partir de ellos, se obtuvieron 3 extractos diferentes, que fueron denominados: extracto total de *C. cellulosae* (ETCC), fluido vesicular de *C. cellulosae* (FVCC) y membrana externa de *C. cellulosae* (MECC).

El ETCC se obtuvo de cisticercos completos congelados a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , liofilizados y resuspendidos en *buffer* sacarosa-HEPES-PMSF pH 7,2 en proporción 1:5 (antígeno-*buffer*). La suspensión fue deslipidizada en etanol absoluto y éter etílico a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  y triturada en mortero. El material se secó en estufa, se solubilizó en tampón fosfato salino (PBS) pH 7,2 y se desintegró mediante ultrasonido en baño de hielo por 6 períodos de 60 s cada uno con intervalos de 60 s, a una intensidad de 20 Hz, luego fueron centrifugados a 5 000 g por 30 min a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

El líquido del interior de la vesícula de los metacéstodes, previamente lavados, se obtuvo con jeringa, se centrifugó a 8 000 rpm y el sobrenadante denominado FVCC fue alicuotado y almacenado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Las membranas externas de *C. cellulosae* (MECC) se obtuvieron con ayuda de bisturí, pinzas y microscopio estereoscópico, luego se liofilizaron y resuspendieron en *buffer* sacarosa-HEPES-PMSF pH 7,2 en proporción 1:5, y se trataron como la fracción ETCC, se alicuotaron y se almacenaron, a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Con *T. crassiceps* mantenida en el laboratorio por repiques seriados en ratones hembra BALB/c de 4 a 6 semanas de edad, fueron inoculados ratones por vía intraperitoneal; 60 a 90 d posinfección los parásitos fueron cosechados mediante exposición del peritoneo del animal, fueron lavados 5 veces con PBS y centrifugados a 3 000 rpm por 10 min. A partir de estos se obtuvieron 3 extractos antigénicos diferentes, los cuales se denominaron: extracto total de *T. crassiceps* (ETTC), fluido vesicular de *T. crassiceps* (FVTC) y membrana externa de *T. crassiceps* (METC).

El extracto total de *T. crassiceps* se obtuvo de los parásitos íntegros sometidos a procesos de ruptura en baño de hielo por 3 períodos de 60 s cada uno con intervalos de 60 s, a una intensidad de 40 Hz, seguido de una centrifugación a 3 000 rpm por 30 min a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . El sobrenadante obtenido se deslipidó y se centrifugó a 20 000 rpm a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 1 h.

El sedimento se resuspendió en PBS pH 7,2 frío. El antígeno preparado se identificó como ETTC y fue alicuotado y almacenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

El fluido vesicular de *T. crassiceps* se obtuvo de parásitos íntegros sometidos a procesos de ruptura mediante congelamiento-descongelamiento en un *buffer* de lisis (TRIS HCl pH 7,5), se centrifugó a 8 000 rpm por 60 min, a  $4^{\circ}\text{C}$  y el sobrenadante resultante se denominó FVTC, que fue alicuotado y almacenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Las membranas externas de *T. crassiceps* se obtuvieron con ayuda de bisturí, pinzas y microscopio estereoscópico. El paquete de membranas se liofilizó y se resuspendieron en *buffer* sacarosa-HEPES-PMSF pH 7,2 a una proporción 1:5 (membrana: *buffer*) y se sometió a procesos de ruptura semejante al MECC; se centrifugó en presencia de inhibidores de proteasas a 5 000 g por 30 min a  $4^{\circ}\text{C}$ , y el sobrenadante, denominado METC, se alicuotó y se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

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

La electroforesis en geles continuos y gradiente de poliacrilamida (SDS-PAGE) fue realizada según *Laemmli*.<sup>11</sup> La cantidad de proteínas que se colocó en el gel preparativo de 45 mm de largo fue de 300  $\mu\text{g}$ . Para la separación de proteínas entre un rango de 10 a 200 kDa se prepararon geles en gradiente a una concentración de poliacrilamida de 5 a 20 %.

#### *Técnica inmunoenzimática (ELISA)*

Las placas utilizadas fueron de poliestireno de 96 pozos. En cada orificio se colocó 1  $\mu\text{g}$  del antígeno y se incubaron por 18 h a  $4^{\circ}\text{C}$ , luego fueron lavados 5X con PBS-*Tween* (PBS-T), se bloquearon con PBS-T y caseína 2 % (PBS-TC). Se incubaron con los sueros en diluciones a partir de 1:100 y LCR a partir de 1:2 en PBS-TC, durante 1 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Se lavaron 5X con PBS-T. El conjugado usado fue anti-IgG humana-peroxidada en dilución de 1:1 000. Se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de la solución de revelado (ortofenilendiamino y  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), se incubó 45 min a temperatura ambiente y se adicionó ácido sulfúrico para interrumpir la reacción enzimática. La intensidad de color se registró como densidad óptica (DO) en un lector automatizado

ELISA (Organo Teknika) a una longitud de onda de 492 nm. Para la interpretación de los resultados se tomaron en cuenta los controles positivos y negativos. Una muestra fue considerada positiva cuando presentó DO iguales o superiores al valor de corte establecido de acuerdo con el promedio del control negativo más 3 desviaciones estándar.

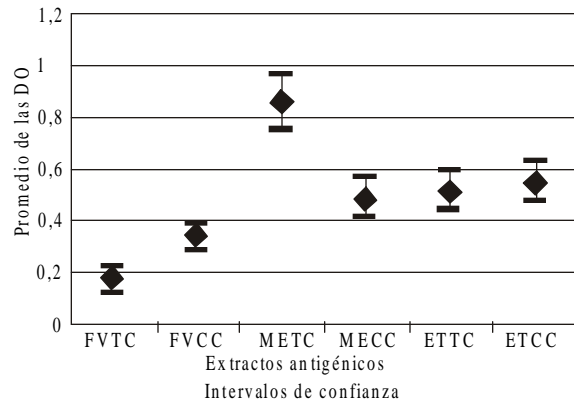
#### *Immunoblotting*

El *immunoblotting* se realizó con cada una de las preparaciones antigénicas de acuerdo con la técnica descrita por *Towbin* y otros.<sup>12</sup> Finalizada la corrida electroforética se realizó transferencia a membranas de nitrocelulosa y se bloqueó con una solución de albúmina sérica bovina (ASB) 3 %, durante toda la noche, con agitación suave a  $4^{\circ}\text{C}$  y luego lavadas en las mismas condiciones anteriores. Las membranas fueron cortadas en tiras de 5 mm, y se incubaron con los sueros diluidos 1:100 y con los LCR diluidos 1:4 en PBS-T 0,1 % por 1 h; luego se lavaron y se incubaron con la anti-IgG humana peroxidada, diluida 1:2 500 en PBS-T 0,1 % por 1 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Se lavaron 4X en PBS-T 0,1 %. La reacción inmunológica fue evidenciada al sumergir las membranas en una solución de revelado (diaminobencidina y peróxido de hidrógeno) con cloruro de cobalto como cofactor enzimático.

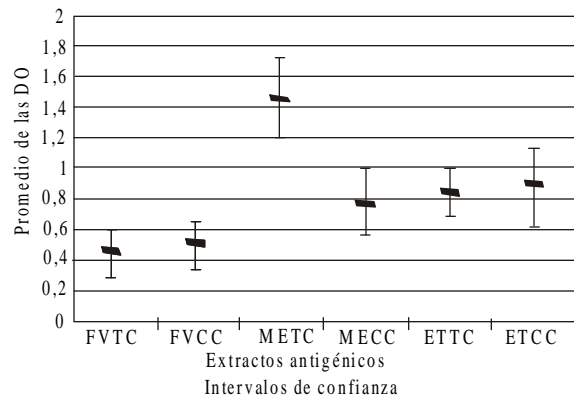
## RESULTADOS

En las figuras 1 y 2 se muestran el promedio de las densidades ópticas (DO) y los intervalos de confianza para los sueros de cada grupo de pacientes frente a los diferentes extractos antigénicos. Puede observarse que los sueros de personas con otras infecciones dan reacciones francamente negativas sólo con el FVTC, y existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) con los otros extractos.

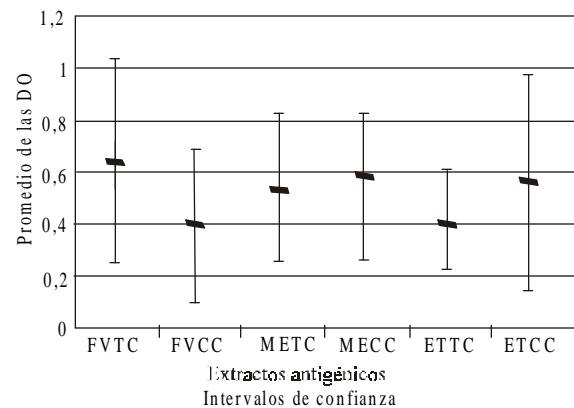
En la figura 3, se puede observar que el promedio de las DO de los LCR para cada uno de los extractos antigénicos osciló entre 0,4 y 0,6, mientras que para el FVTC los valores estaban por encima de 0,6. Cuando se analizaron los LCR de pacientes con enfermedades neurológicas no asociadas con la NCC frente a cada uno de los



**Fig. 1.** Promedio de las densidades ópticas (DO) en el ELISA para los sueros de pacientes con otras enfermedades infecciosas frente a los diferentes extractos antigénicos.



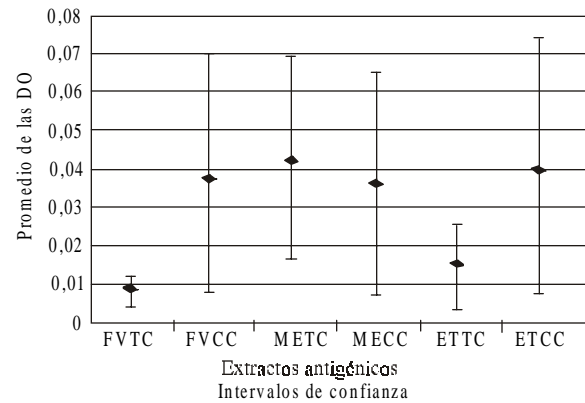
**Fig. 2.** Promedio de las densidades ópticas (DO) de los sueros de pacientes con otras manifestaciones neurológicas frente a los diferentes extractos antigénicos.



**Fig. 3.** Promedio de las densidades ópticas (DO) en el ELISA para los LCR de pacientes con NCC confirmada frente a los diferentes extractos antigénicos.

extractos antigénicos, se observó que fueron el FVTC y el ETTC los que presentaron menores promedios de DO (fig. 4).

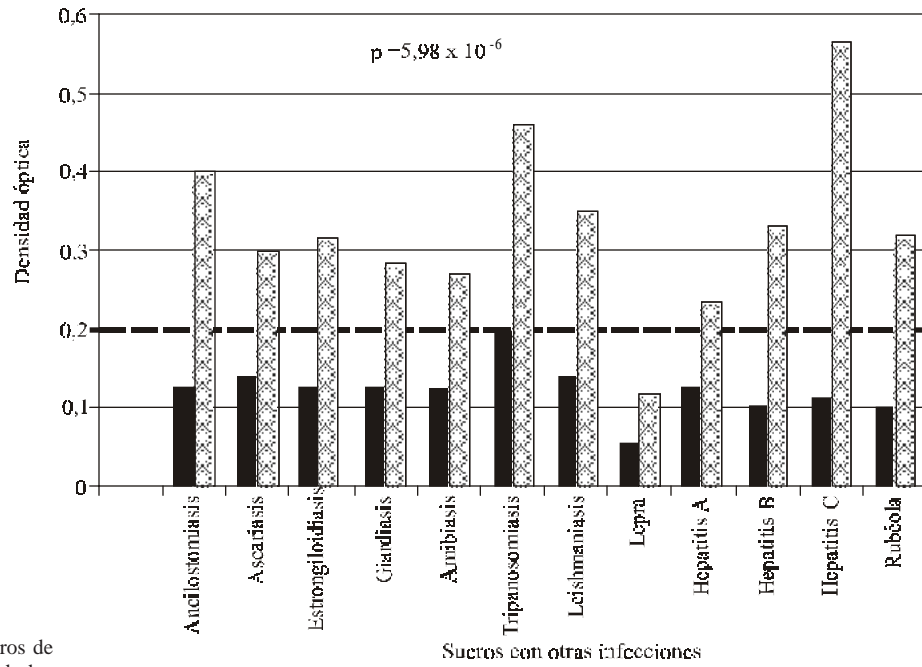
Al comparar el FVTC con los demás extractos antigénicos cuando fueron evaluados los sueros de pacientes con otras enfermedades infecciosas se observó en el FVTC menores lecturas de DO (inferiores al valor de corte 0,2) (figs. 5-8). El FVTC fue el que mejor discriminó entre la positividad y la negatividad, al dar diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



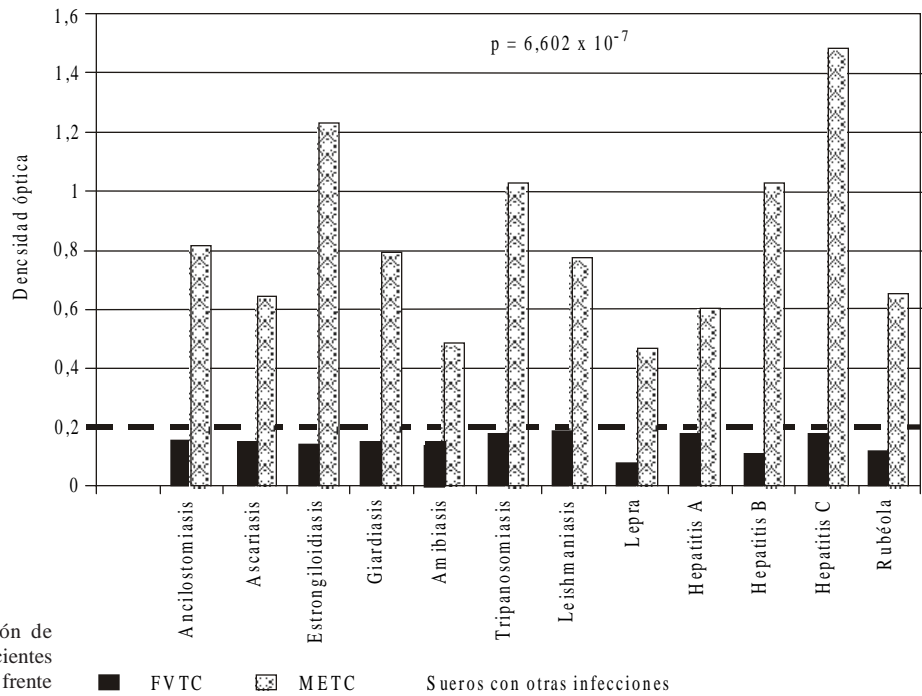
**Fig. 4.** Promedio de las densidades ópticas (DO) en el ELISA para los LCR de pacientes con otras manifestaciones neurológicas frente a los diferentes extractos antigénicos.

La sensibilidad y especificidad del ELISA de sueros y LCR frente a los diferentes extractos antigénicos fue variable, se observó mayor sensibilidad y especificidad frente al FVTC (86 y 100 %). También los valores predictivos positivos y negativos más elevados se observaron frente al FVTC (100 y 92,3 %).

En el *immunoblotting* de sueros y LCR de pacientes con NCC, las fracciones reconocidas con mayor frecuencia por los anticuerpos IgG presentes en el LCR fueron las de 18 kDa (70 %), 32 kDa (42 %), 88, 50, 14 y 13 (29 %), 42-39 y 24 kDa (13 %), mientras que el suero identificó las de 18kDa(42%), 50 y 13 kDa (29%) y 88, 32, 24, 21 y 14 kDa (13 %). El extracto antigénico FVTC detectó el mayor porcentaje de casos positivos tanto en las muestras de sueros como en los LCR. Al igual que en el ELISA, en el EITB con el FVTC fue donde se observó la mayor sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos tanto en sueros como en LCR.



**Fig. 5.** Reactividad cruzada de sueros de pacientes con otras enfermedades infecciosas frente a los extractos FVTC y FVCC mediante el ELISA.



**Fig. 6.** ELISA para la evaluación de reactividad cruzada de sueros de pacientes con otras enfermedades infecciosas frente al extracto FVTC y METC.

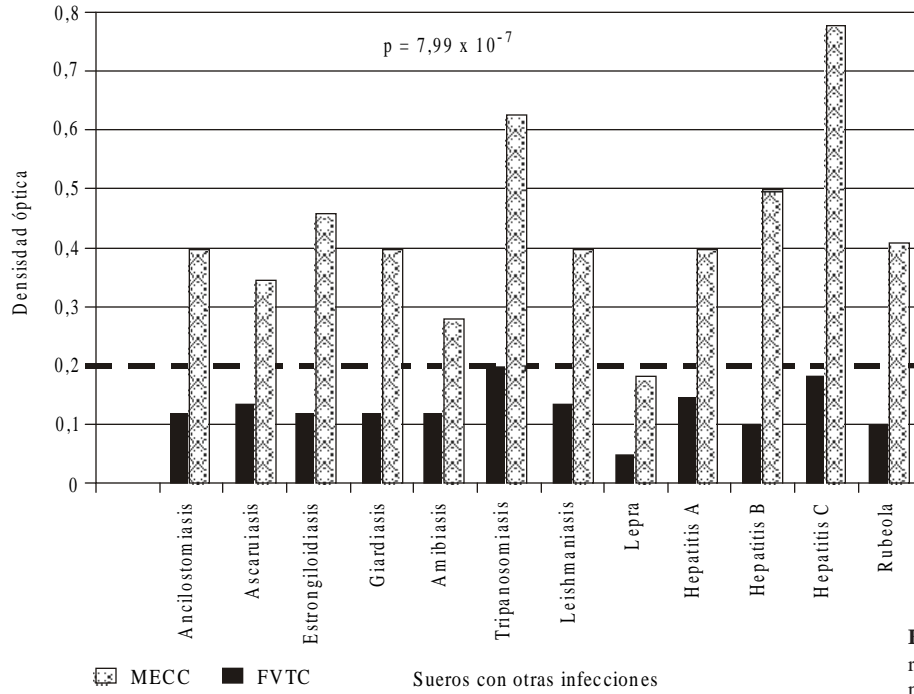


Fig. 7. ELISA para la evaluación de reactividad cruzada de sueros de pacientes con otras enfermedades infecciosas frente al extracto FVTC y MECC.

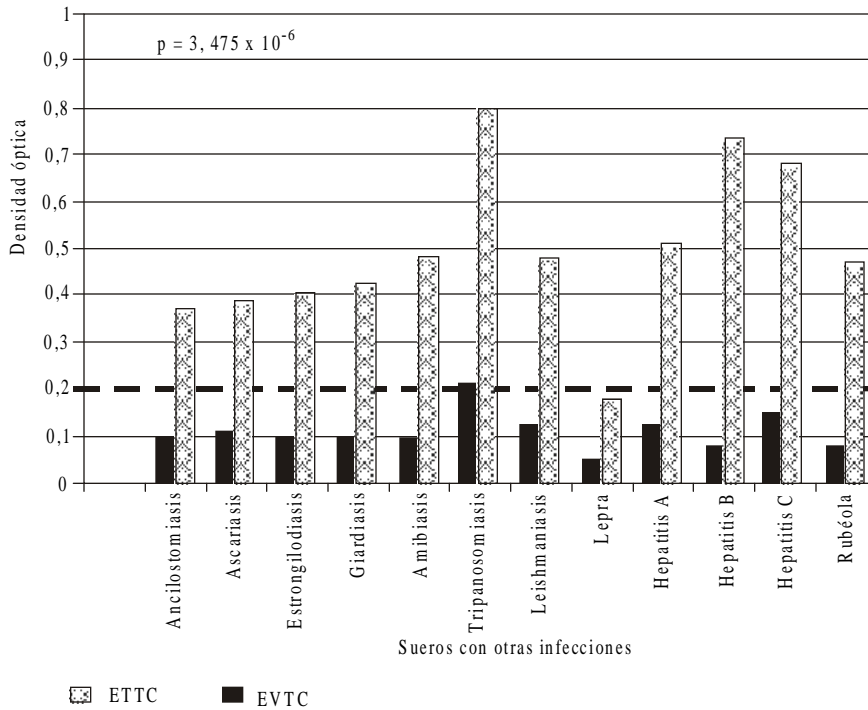


Fig. 8. ELISA para la evaluación de reactividad cruzada de sueros de pacientes con otras enfermedades infecciosas frente al extracto FVTC y ETTC.

## DISCUSIÓN

En los últimos años se ha reportado la existencia de similitud antigénica entre *T. crassiceps* y *T. solium*, este hecho ha permitido el uso de la primera como fuente antigénica alternativa para el diagnóstico de la NCC.<sup>3,7-10</sup> Sin embargo, no existen estudios definitivos que permitan evaluar las variaciones que puedan existir cuando se emplea una u otra fuente antigénica en las diversas metodologías inmunológicas.<sup>11,12</sup> En este trabajo se evaluaron diferentes extractos antigénicos provenientes de ambas especies mediante el ELISA y el EITB, para determinar cuál sería el más específico para el inmunodiagnóstico de la NCC, además de establecer la verdadera utilidad de *T. crassiceps* como fuente antigénica alternativa.

Se observó mayor sensibilidad frente a los sueros (100 %) que frente a los LCR (86 %) de pacientes con NCC. Sin embargo, los sueros dieron mayor porcentaje de resultados falsos positivos. El LCR, por el contrario, presentó 100 % de especificidad, datos coincidentes con otros autores sobre la producción local de inmunoglobulinas específicas en el sistema nervioso central.

En las condiciones experimentales de este trabajo, el FVTC mostró mayor especificidad que los otros extractos antigénicos. En el pasado, los ensayos inmunológicos que utilizaron fluidos vesiculares para el inmunodiagnóstico de la NCC arrojaron también resultados favorables en cuanto a sensibilidad y especificidad,<sup>13</sup> incluso para los casos de pacientes con quistes calcificados.<sup>14</sup>

En este estudio se observó que las muestras de LCR por el ELISA fueron las más adecuadas para el inmunodiagnóstico de la NCC, resultados que concuerdan con *Corona* y otros<sup>15</sup> quienes informan una mayor sensibilidad en la detección de anticuerpos anticisticercos en el LCR de pacientes con cisticercosis cerebral maligna. También, el FVTC mostró menor reactividad cruzada con sueros de pacientes con otras enfermedades parasitarias, al compararlo con los otros. Las reacciones cruzadas observadas entre los sueros de pacientes con otras enfermedades helmínticas y los antígenos de *C. cellulosae* pueden explicarse por la proximidad filogenética entre estos parásitos, señalado también por otros autores.<sup>16</sup>

Con el EITB se obtuvieron resultados similares al ELISA, en este caso también el FVTC presentó mayores valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos.

Las bandas proteicas identificadas con mayor frecuencia en el FVTC por sueros y LCR de pacientes con NCC fueron la de 18 kDa (70 % por LCR), las de 50 y 13 kDa (29 % por sueros), la de 32 kDa (42 % por LCR) y la de 88 kDa (29 % por LCR y 14 % por sueros), hallazgos similares a los de otros autores.<sup>2</sup>

*Simac* y otros<sup>4</sup> también encontraron que las proteínas de 13 y 14 kDa de *C. cellulosae* tienen una elevada reactividad inmunogénica con sueros y LCR, las cuales fueron consideradas como marcadores potentes de la cisticercosis cerebral activa. Por otro lado, *Feldman* y otros<sup>17</sup> encontraron a la fracción de 50 kDa entre la más reconocida por el suero y la saliva de pacientes con NCC.

Los resultados de este trabajo concuerdan con los de otros investigadores que han reportado la inmunodominancia y la alta especificidad de los péptidos de bajo peso molecular.<sup>18</sup> *Fischer* y otros<sup>5</sup> encontraron, por el contrario, una proteína de alto peso molecular entre 118 y 132 kDa al usar antígenos recombinantes.

Varios autores,<sup>3,19</sup> como los de este estudio, con el uso de fluidos vesiculares de ambos tenídeos, observaron que los sueros y LCR de pacientes con NCC reconocían un péptido de 88 kDa, lo que indica una similitud inmunogénica entre las fracciones antigénicas del fluido vesicular de ambos metacéstodes.

En los resultados de este trabajo mediante el EITB se observó que no existían fracciones únicas reconocidas por todas las muestras positivas para la NCC y que el patrón de respuesta contra los antígenos del parásito difería en cuanto al número de bandas e intensidad de la reacción, lo que confirmó lo observado por otros autores, y señaló que existe heterogeneidad de la respuesta inmunológica mediada por anticuerpos del hospedero contra el parásito,<sup>3,19</sup> por esta razón se puede concluir la inconveniencia de diseñar metodologías para el inmunodiagnóstico que contemplen el uso de antígenos individuales.

Comparando el ELISA con el EITB, se observó que el EITB es mejor por su alta sensibilidad (100 %) y especificidad (100 %) para la detección de

anticuerpos, conclusión en consonancia con la observación de otros autores.<sup>7,20</sup> El EITB, usando el FVTC, permite observar bandas bien específicas que pueden diferenciarse fácilmente de las irrelevantes para el diagnóstico.

Los antígenos de *T. crassiceps* son útiles como fuente antigénica alternativa para el inmunodiagnóstico de la NCC, ya que resuelven el problema de disponibilidad y cantidad de antígenos. Por otro lado, el extracto FVTC, además de ser altamente sensible y específico, constituye un antígeno estable, de fácil obtención, que no requiere de procedimientos laboriosos para su purificación, por lo que puede ser usado como herramienta diagnóstica en la rutina de laboratorio.

#### AGRADECIMIENTOS

Al CONICIT (Project S1-97001304) por su importante soporte económico, y al personal de IDIC-ULA y HULA por la valiosa colaboración y el apoyo demostrado para la realización del presente estudio.

#### SUMMARY

Different antigenic extracts of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* were evaluated in connection with the detection of antibodies in patients with neurocysticercosis aimed at selecting immunorelevant antigens for the diagnosis of neurocysticercosis by means of the immunoenzymatic assay and immunoblotting. The vesicular fluid of *T. crassiceps* proved to be more sensitive (100%) and specific (86%). On using the immunoblotting technique it was also observed that this extract was the most sensitive and specific. Within the protein profile of the antigen the band of 18 kDa was mostly recognized by the serum and cerebrospinal fluid of patients with neurocysticercosis. The vesicular fluid of *T. crassiceps* represents an alternative in the optimization of the diagnosis of neurocysticercosis in the serum and cerebrospinal fluid and in the substitution of *T. solium* antigens due to its high sensitivity and specificity and to its easy obtention under controlled laboratory conditions.

**Subject headings:** NEUROCYSTICERCOSIS/immunology; TAENIASIS; ANTIGENS, HELMINTH; ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY/methods; IMMUNOBLOTTING.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kalra V, Sethi A. Childhood neurocysticercosis epidemiology, diagnosis and course. *Acta Paediatr Jpn* 1992;34:365-70.
- Tsang V, Wilson M. *Taenia solium* Cysticercosis: an under-recognized but serious public health problem *Parasitol Today* 1995;11:124-6.
- Vaz AJ, Nunes CM, Piazza RM, Livramento JA, Da Silva MV, Nakamura PM, *et al.* Immunoblot with cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis using antigen from cysticerci of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*. *Am J Trop Med Hyg* 1997;57:354-7.
- Simac C, Michel P, Andraintsimahavandy A, Esterre P, Michault A. Use of enzyme-linked immunosorbent assay and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot for the diagnosis and monitoring of neurocysticercosis. *Parasitol Res* 1995;81:132-6.
- Fischer C, Nosratan R, Habtemichael N, Tolle R, Riemenschneider V, Geyer E. Preparation and sequence analysis of *Taenia crassiceps* metacestode recombinant antigens with potential for specific immunodiagnosis of human cerebral cysticercosis. *Trop Med Parasitol* 1994;45:324-8.
- Vianna LG, Costa-Cruz JM, Macedo V, DeSouza D, Moreira DG. Estudio comparativo dos testes immunoenzimáticos ELISA-G e ELISA-M, imunofluorescencia indirecta e fixacao do complemento no diagnóstico da cisticercose humana. *Arq Neurol Psiquiatr* 1992;50:302-8.
- Terrazas LI, Bojalil R, Govezensky T, Larralde C. A role for 17- $\beta$ -estradiol in immunoenocrine regulation of murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*). *J Parasitol* 1994;80:563-8.
- Huerta L, Terrazas LI, Sciutto E, Larralde C. Immunological mediation of gonadal effects on experimental murine cysticercosis caused by *Taenia crassiceps* metacestodes. *J Parasitol* 1992;78:471-6.
- Larralde C, Sotelo J, Montoya RM, Palencia G, Padilla A, Govezensky T, *et al.* Immunodiagnosis of human cysticercosis in cerebrospinal fluid, antigens from murine *Taenia crassiceps* cysticerci effectively substitute those from porcine *Taenia solium*. *Arch Pathol Lab Med* 1990;114:926-8.
- Zarlenga D, Rhoads ML, Yaman FM. A *Taenia crassiceps* cDNA sequence encoding a putative immunodiagnostic antigen for bovine cysticercosis. *Mol Biochem Parasitol* 1994;67:215-23.
- Laemmli U. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature* 1970;227:680-7.
- Towbin H, Gordon J. Immunoblotting and dot immunobinding-current status and outlook. *J Immunol Methods* 1984;72:313-40.
- Larralde C, Laclette J, Owen C, Madrazo Y, Sandoval M, Bojalil R, *et al.* Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and hemagglutination tests. *Am J Trop Med Hyg* 1986;35:965-73.
- Ng TF, Ko RC. Serodiagnosis of cysticercosis: specificity of different antigens and enzyme-linked immunosorbent assays. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994;88:421-2.
- Corona T, Pascoe D, González D, Abad P, Lana L, Estañol B. Anticysticercous antibodies in serum and cerebrospinal fluid in patients with cerebral cysticercosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1986;49:1044-9.
- Castillo R, Grados P, Carcamo C, Guevara A, Verastegui M, Gilman RH. Effect of treatment on serum antibody to *Hymenolepis nana* detected by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1991;29:413-4.
- Feldman M, Plancarte A, Sandoval M, Wilson M, Flisser A. Comparison of two assays (EIA and EITB) and two samples (saliva and serum) for the diagnosis of neurocysticercosis. *Trans R Soc Trop Hyg* 1990;84:559-62.
- Molina JM, Mendoza J, Leiva J, Rojas A, Osuna A, De La Rosa M. Gel gradient immunoblotting for the serological diagnosis of cysticercosis. *Serodiag Immunother Infect Disease* 1993;5:176-80.
- Larralde C, Montoya R, Sciutto E, Díaz M, Govezensky T, Coltorti E. Deciphering western blots of tape-worm antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus granulosus* and *Taenia crassiceps*) reacting with sera from neurocysticercosis and hydatid disease patients. *Am J Trop Med Hyg* 1989;40:282-90.
- Schantz PM, Sarti E, Plancarte A, Wilson M, Criales JL, Roberts J, *et al.* Community-based epidemiological investigations of cysticercosis due to *Taenia solium*: comparison of serological screening tests and clinical findings in two populations in Mexico. *Clin Infect Dis* 1994;18:879-85.

Recibido: 13 de octubre de 1999. Aprobado 21 de junio del 2000.  
Dra. Haidé Urdaneta. Instituto de Inmunología Clínica. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes. Apartado Postal 566. Mérida 5101. Venezuela. Fax 4032112. Correo electrónico: hurdaneta 84@hotmail.com