

III. Aplicación de métodos de diagnóstico de cisticercosis y teniasis a estudios epidemiológicos

Ana Flisser, Agustín Plancarte, Guillermina Avila
Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM

(Recibido, febrero 28, 1994; aceptado, mayo 27, 1994)

Resumen

Se describe el desarrollo y características de cuatro métodos inmunológicos (inmunolectroforesis, ELISA, inmunolectrotransferencia e inmunopunto) que se han empleado para el diagnóstico de cisticercosis humana, así como su aplicación a estudios epidemiológicos y su contribución al conocimiento de la transmisión de *Taenia solium*. También se describe el desarrollo de un ELISA para la detección de coproantígenos de *T. solium* y su uso en estudios de campo con el fin de identificar a los portadores de la tenia intestinal, en vista de que los estudios epidemiológicos han mostrado que estos individuos son el principal factor de riesgo para adquirir cisticercosis.

Palabras clave: Cisticercosis - ELISA - Inmunolectrotransferencia - Inmunodiagnóstico - Teniasis.

Summary

The development and characteristics of four immunodiagnostic assays (immunoelectrophoresis, ELISA, immunoblot and immunodot), standardized for the diagnosis of human cysticercosis, are described, as well as their application to epidemiological studies and their contribution to the knowledge regarding the transmission of *Taenia solium*. The development of an ELISA for the detection of *T. solium* coproantigens and its use in field studies in order to identify tapeworm carriers is also described, since epidemiological studies have demonstrated that these individuals are the main risk factor for acquiring cysticercosis.

Key words: Cysticercosis - ELISA - Immunoblot - Immunodiagnosis - Taeniasis.

La cisticercosis humana es una parasitosis debida a la larva del céstodo *Taenia solium*. Se adquiere después de ingerir huevos liberados por el parásito adulto, también llamado tenia o solitaria, que se aloja en el intestino delgado. La teniasis, en cambio, se adquiere después de ingerir carne de cerdo que contenga cisticercos vivos. Los cisticercos se desarrollan principalmente en el sistema nervioso central, en los ojos, en el tejido subcutáneo grasoso y en el músculo esquelético¹. En América Latina las principales enfermedades asociadas a estos parásitos son la neurocisticercosis y la oftalmo-cisticercosis, mientras que en Asia la cisticercosis muscular y la subcutánea son causa de enfermedad con la misma o con mayor frecuencia que las anteriores^{2,3}. La cisticercosis humana se considera un problema de salud pública en varios países en vías de desarrollo debido a su alta frecuencia, al costo médico de tratar a los enfermos y al daño a la salud que esta parasitosis

ocasiona, especialmente cuando se presenta en adultos jóvenes cuya vida productiva se deteriora⁴. La neurocisticercosis presenta un gran pleomorfismo clínico; los principales signos y síntomas son las crisis convulsivas, la presión endocraneal aumentada, el dolor de cabeza y la alteración del estado mental⁵. Por consiguiente, es difícil realizar un diagnóstico con base en esta información. Como alternativa a los métodos de gabinete, las técnicas inmunológicas son útiles para apoyar el diagnóstico clínico de neurocisticercosis.

Inmunodiagnóstico de la cisticercosis. Desde principios de este siglo se han empleado métodos inmunológicos para el diagnóstico de la neurocisticercosis. La técnica de la fijación del complemento se estandarizó en Brasil en 1911⁶ y se volvió muy popular en México después de que Nieto estudió 5000 pacientes psiquiátricos y obtuvo 0.6% de positividad global en muestras de líquido

cefalorraquídeo (LCR)^{7,8}. Es interesante señalar que el primer caso de neurocisticercosis descrito en México fue de un enfermo psiquiátrico⁹. La prueba de la fijación del complemento es relativamente complicada ya que es necesario estandarizar frecuentemente varios reactivos, además no es específica en suero, por lo que únicamente se puede emplear LCR, exceptuando las muestras que tienen actividad anticomplementaria.

Con el propósito de facilitar el inmunodiagnóstico, caracterizar la respuesta inmune y aplicar estas pruebas a estudios seroepidemiológicos, hemos evaluado en el laboratorio, a lo largo de dos décadas, diversas técnicas. Inicialmente se estandarizó la inmunolectroforesis (IEF), técnica que se basa en la separación de los componentes proteicos de la mezcla antigénica según su carga eléctrica y la reacción posterior con anticuerpos en un medio semisólido de tal manera que cada reacción antígeno-anticuerpo precipita formando un arco. Esta técnica permitió identificar al antígeno B como el más frecuentemente reconocido por los anticuerpos séricos de los enfermos con neurocisticercosis y a otras siete bandas antigénicas con diferentes movilidades electroforéticas y de menor frecuencia de reconocimiento (Fig. 1)¹⁰. Las principales ventajas de la IEF son que la técnica es sencilla, emplea un extracto crudo de cisticercos de fácil obtención y permite reconocer reacciones cruzadas^{11,12}; sin embargo, es poco sensible por lo que no se puede emplear LCR y solo se detectan anticuerpos séricos en el 44% de los enfermos con neurocisticercosis (Cuadro 1)^{10,13}.

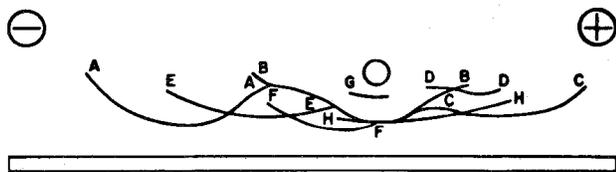


Fig. 1. Diagrama del patrón de arcos de precipitación formados en inmunolectroforesis entre un extracto crudo de cisticercos y los sueros de enfermos con neurocisticercosis. El porcentaje de frecuencia de reconocimiento antigénico fue B-84, A-47, E-35, C-30, D-25, G-22, H-21 y F-14%. Reproducida con la autorización de Clin Exp Immunol.

En 1972, Engvall y Perlmann desarrollaron un ensayo basado en la captura de los anticuerpos por medio de un antígeno absorbido a una fase sólida; la presen-

cia de anticuerpos se revela después de incubar esta reacción con un anticuerpo dirigido contra inmunoglobulina G humana acoplada a una enzima y, posteriormente, con un sustrato cuyo producto es colorido¹⁴. Esta técnica se conoce como ELISA, por sus siglas en inglés "Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay". Debido a la alta sensibilidad del ELISA se consideró inicialmente que era necesario emplearlo con antígenos puros¹⁴. Para nuestra suerte, serendípicamente el grupo de Cañedo, Lacleite y Guerra obtuvo al antígeno B con 95% de pureza¹⁵, su primera utilización fue en un ELISA. Los resultados obtenidos al emplear el antígeno B y un extracto crudo en ELISA se muestran en la Fig. 2. Como se puede ver, la sensibilidad fue similar con ambos antígenos y la especificidad, al emplear como controles muestras de LCR de enfermos neurológicos o de suero de individuos sanos, indicó que ambos antígenos permiten discernir claramente a los pacientes con neurocisticercosis¹⁶. Con esta técnica fue posible detectar anticuerpos en el LCR aun con mayor eficiencia que en el suero (Cuadro 1). A partir de su implementación en nuestro laboratorio, el

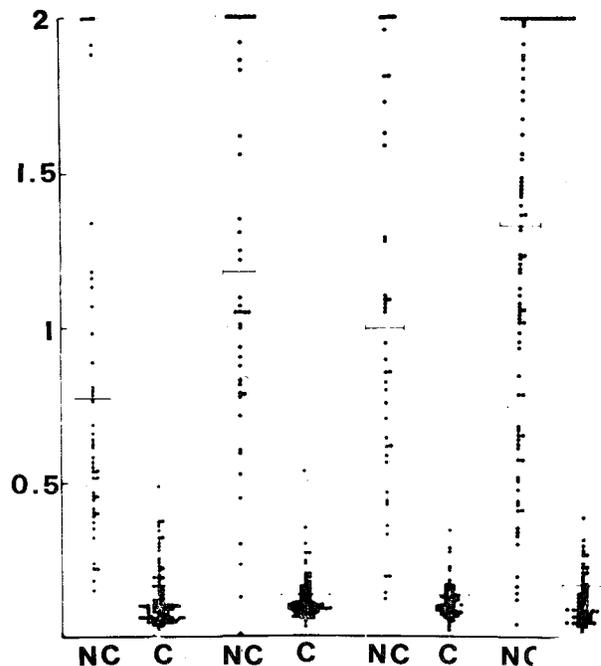


Fig. 2. Valores de absorbancia del ELISA obtenidos en un espectrofotómetro para pozos a 405 nm con las muestras de enfermos con neurocisticercosis (NC) y las muestras control (C) frente al antígeno B (primeras cuatro columnas) y al extracto crudo (últimas cuatro columnas). En las primeras dos columnas del antígeno B y del extracto crudo, las muestras empleadas fueron sueros, mientras que en las otras dos fueron líquidos cefalorraquídeos. Reproducida con autorización de J Clin Microbiol.

ELISA se realiza para el diagnóstico de cisticercosis como servicio gratuito a la comunidad médica de México. En vista de que con ambos tipos de antígeno se obtienen buenos resultados, se continuó con el ELISA empleando el extracto crudo, ya que se obtiene mucha mayor cantidad de producto final partiendo del mismo número de cisticercos de lo que se obtiene al purificar antígeno B. La desventaja más notable del ELISA es que no es útil para valorar muestras de población abierta, ya que cuando se ensayaron sueros de enfermos con otras parasitosis se obtuvieron reacciones cruzadas (Cuadro 2)¹⁶.

La inmunoelectrotransferencia (IET), mejor conocida como "western blot", permitió superar el problema de la reactividad cruzada sin afectar la sensibilidad. Este método emplea una fracción enriquecida en glicoproteínas que se obtiene al purificar un extracto crudo de cisticercos por cromatografía con lentil lectina. Las glicoproteínas de esta fracción se separan por electroforesis en acrilamida y se transfieren a una membrana de nitrocelulosa, la cual se corta en tiras de tres

milímetros. Cada tira se incuba con una muestra de suero o LCR y, por un ensayo inmunoenzimático similar al ELISA, se revelan de una a siete bandas específicas para cisticercosis humana (Fig. 3)^{17,18}. Como se puede ver en el Cuadro 1, la sensibilidad y la especificidad de la IET para cisticercosis es muy cercana al 100%, lo que indica que esta técnica es ideal para el diagnóstico, excepto por la dificultad metodológica que implica.

Con el propósito de disminuir la complejidad del método de IET, se purificó por electroforesis una de las glicoproteínas más frecuentemente reconocidas por las muestras de los enfermos, la GP24. Se colocaron gotas de este antígeno por medio de vacío sobre una membrana de nitrocelulosa y cada gota se hizo reaccionar con una muestra de suero o LCR empleando el aparato de "dot-blot"; nuevamente, la reacción se reveló por un ensayo inmunoenzimático¹⁹. Este inmunopunto conservó la sensibilidad y la especificidad de la IET (Cuadro 1); sería ideal obtener esta GP24 por medio de las técnicas de DNA recombinante o de péptidos sintéticos. Mientras tanto,

Cuadro 1. Sensibilidad y especificidad de los métodos de inmunodiagnóstico empleados en el laboratorio

Técnica	Muestra	Positivos/total	% +	Especificidad de la prueba
IEF	Suero	52/119	44	Extracto crudo. Se ven 1 a 8 bandas de precipitación específicas
ELISA	Suero	91/113	80	Extracto crudo da reacciones cruzadas con varios parásitos. AgB sólo cruza con platelmintos
	LCR	119/132	90	
	Saliva	23/28	82	
IET	Suero	21/21	100	Se detectan de 1 a 7 glicoproteínas específicas de <i>T. solium</i> : GP50 42-39, 24, 21, 18, 14 y 13
	LCR	37/38	97	
	Saliva	19/27	70	
INMUNOPUNTO	Suero	8/9	89	Se realiza con GP-24, que es un antígeno específico de <i>T. solium</i>
	LCR	14/16	87	

usamos IET, además del ELISA, para apoyar el diagnóstico clínico de neurocisticercosis.

Cuadro 2. Número de reacciones cruzadas encontradas en el ELISA para cisticercosis con sueros de enfermos con otras parasitosis.

No. de muestras	Parasitosis	Extracto crudo	Antígeno B
5	Hidatidosis	4	3
5	Estrongiloidosis	5	0
5	Triquinosis	4	0
5	Filariosis	1	0
5	Larva migrans	0	0

Epidemiología de la *Taenia solium*. La cisticercosis humana es una enfermedad relacionada con el subdesarrollo. Existe en países que no tienen infraestructura sanitaria ni higiene apropiadas y en países con educación para la salud incipiente. La neurocisticercosis existía en Alemania a principios de este siglo y fue erradicada con educación y con infraestructura sanitaria adecuadas²⁰. El alerta actual de la neurocisticercosis en America Latina, Asia y Africa fue provocado por los estudios de autopsia y casos clínicos de hospitales generales y neurológicos. En México los parásitos fueron la causa de muerte en el 13% de las autopsias con neurocisticercosis²¹. Por

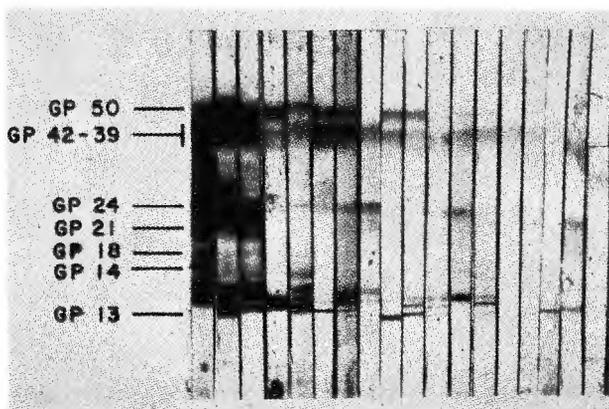


Fig. 3. Patrón de bandas obtenidas por IET en la reacción de muestras de saliva de enfermos con neurocisticercosis frente a una fracción antigénica de cisticercos enriquecida en glicoproteínas (GP). Los números indican los pesos moleculares de cada una de las siete GPs específicas para *Taenia solium*. Reproducida con la autorización de Royal Soc Trop Med Hyg.

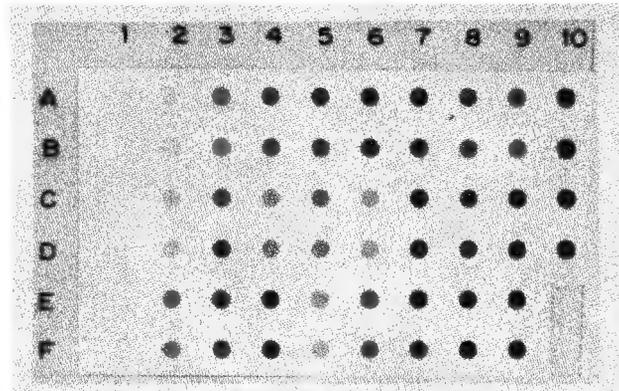


Fig. 4. Resultado de la técnica de inmunopunto en la que se colocaron gotas de GP24 sobre una membrana de nitrocelulosa. En la columna 1 la reacción fue con muestras controles de suero y líquido cefalorraquídeo y en las demás columnas se colocaron por duplicado en sentido vertical muestras de sueros y LCR de enfermos con neurocisticercosis. Reproducida con la autorización de Int J Parasitol.

otro lado, entre el 40% y el 80% fueron hallazgos casuales de autopsia^{22, 23}. En hospitales neurológicos el 11% de los casos son debidos a neurocisticercosis⁴. Probablemente la información más impresionante sobre la epidemiología de esta enfermedad surgió en 1978 en la población de Ekari de Nueva Guinea Occidental, en donde la enfermedad era desconocida antes de la obtención de cerdos con cisticercosis como regalo del gobierno de Java. Alrededor del 20% de la población adquirió cisticercosis. La enfermedad se detectó por una epidemia de quemaduras graves debidas a crisis convulsivas que se presentaban mientras la gente dormía alrededor de fogatas²⁴.

En el primer estudio seroepidemiológico de cisticercosis realizado en México que empleó hemaglutinación pasiva con muestras de pobladores del estado de Oaxaca, se encontró 3.2% de personas con anticuerpos anticisticercos²⁵. Posteriormente se aplicó la IEF a 3,000 muestras de sueros obtenidos en el estado de Chiapas y se observó que en poblaciones con menor número de habitantes había mayor frecuencia de individuos con anticuerpos anticisticercos²⁶. La IEF también se empleó para analizar aproximadamente 20,000 muestras colectadas durante la primera encuesta serológica nacional realizada por el IMSS. En este estudio se encontró que la zona del Bajío presentó la mayor frecuencia de anticuerpos anticisticercos (Fig. 5) y que, aunque el promedio global de positividad fue del 1%, hubo poblaciones, como Jalostotitlán en Jalisco, con 6% de

individuos seropositivos²⁷. No se pudo asociar ningún factor de riesgo, probablemente debido a la baja sensibilidad de la IEF, ya que únicamente detecta anticuerpos en la mitad de los enfermos con neurocisticercosis¹⁰.

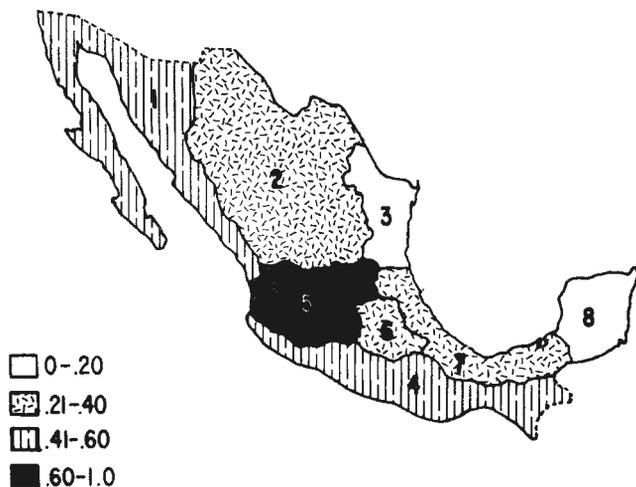


Fig. 5. Mapa de la República Mexicana dividido en zonas geoeconómicas en las que se muestra la frecuencia porcentual de individuos con anticuerpos séricos anticisticercos. Reproducida con autorización de Academic Press.

El ELISA se ha empleado en varios estudios epidemiológicos dirigidos a definir los principales factores de riesgo para adquirir cisticercosis. Un estudio realizado en Africa demostró que había correlación entre cisticercosis humana, teniasis y epilepsia, así como entre personas seropositivas, evaluadas por ELISA, cerdos infectados y sitio de defecación²⁸. El primer estudio realizado en México con este fin se llevó a cabo en El Sótano, pequeño poblado de 150 habitantes en el estado de Hidalgo. Se tomaron historias clínicas para definir si las personas habían arrojado segmentos de tenia y si tenían síntomas neurológicos compatibles con neurocisticercosis; se obtuvieron muestras de sangre que se analizaron por ELISA y de materia fecal para análisis coproparasitológico; también se palparon las lenguas de los cerdos en búsqueda de cisticercos. Los resultados se presentan en la Fig. 6. Es evidente el agrupamiento del ciclo de vida de *Taenia solium*²⁹.

Estudios posteriores confirmaron este hallazgo y, además, como se obtuvieron censos demográficos, ambientales, diagnósticos e historias médicas para teniasis y cisticercosis, fue posible identificar los principales factores de riesgo asociados con la seropositividad, a saber: tener historia de liberar

proglótidis de tenia, consumo frecuente de carne de cerdo, mala higiene personal y casera e historia de crisis convulsivas de aparición tardía. Las personas seropositivas se encontraron agrupadas en casas, especialmente en aquellas que había un miembro que informó haber desalojado proglótidis o que tenía estudios coproparasitológicos positivos para huevos de tenia; la cisticercosis porcina se asoció con permitir a los cerdos deambular libremente y utilizar a las porquerizas como baños (Cuadro 3). Los resultados de estos censos identificaron prácticas comunales, de comportamiento y ambientales que se deben modificar para prevenir la transmisión continua de cisticercosis y de teniasis. También se demostró que la respuesta inmune detectada por ELISA es un indicador sensible de la presencia de teniasis en una casa o una familia y que es más fácil de determinar que la búsqueda tradicional de huevos de *Taenia solium* en heces³⁰⁻³⁴. En un estudio más reciente, realizado en Xoxocotla, Morelos, y Angahuan, Michoacán, se muestrearon alrededor de 13,000 individuos y los sueros se analizaron por ELISA y por IET. Los resultados de seropositividad se correlacionaron con los datos epidemiológicos y clínicos; no se obtuvieron correlaciones con el ELISA pero sí se encontraron correlaciones significativas con la IET (Cuadro 4)³⁵.

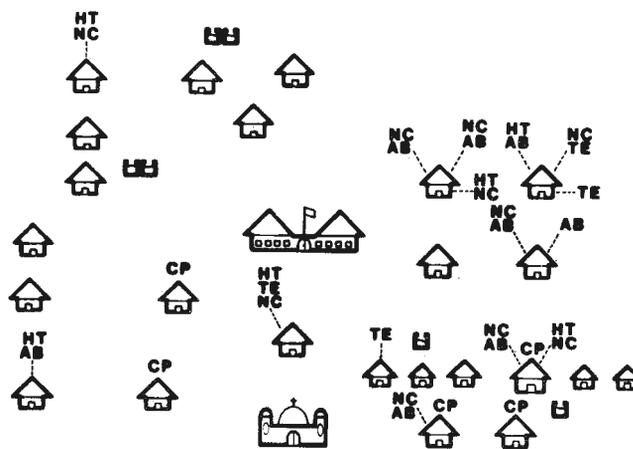


Fig. 6. Diagrama de la población El Sótano en el que se ve la escuela, la iglesia, las 24 casas y las 6 letrinas que hay. Se muestran los resultados obtenidos de cada persona (---) que presentó una historia clínica de haber arrojado segmentos de tenia (HT), huevos de tenia en estudios coproparasitológicos (TE), datos clínicos sugerentes de neurocisticercosis (NC) o anticuerpos séricos anticisticercos (AB), así como los cerdos con cisticercos palpados en lengua (CP).

Lo más importante de estos estudios es que han demostrado que el principal factor de riesgo es la presencia de un portador de tenia en el ambiente cercano. Aún más, recientemente se demostró el peligro que implica la presencia de un portador de tenia aun entre gente que no come cerdo, como los judíos ortodoxos³⁶. La importancia de la presencia de un portador de *T. solium* probablemente reduzca la relevancia de la ingestión de verduras y frutas frescas y no peladas, como lechugas y fresas, que crecen al ras del suelo y pudieron haber sido irrigadas con aguas negras, considerando además que ningún estudio de lavado de estas hortalizas ha demostrado la presencia de huevos de *Taenia sp.*; en cambio, aumenta la

importancia de diagnosticar y tratar a los portadores del estadio intestinal del parásito. Este hallazgo modifica completamente el concepto epidemiológico de la transmisión de huevos de *T. solium* y, por lo mismo, del tipo de intervenciones que se deben realizar para eliminar a *T. solium*.

Inmunodiagnóstico de teniasis. En 1948, Ritchie estandarizó la técnica de concentración de huevos de *Taenia solium* por el método de formol-éter para su observación con un microscopio de luz³⁷. Desde entonces no se han modificado los métodos coproparasitoscópicos empleados de rutina para el diagnóstico de teniasis a pesar de su baja sensibilidad³⁸ y de la gran destreza técnica y experiencia necesarias para poder identificar los huevos. Además, no siempre hay huevos en la materia fecal, ya sea porque ese día no fueron expulsados proglótidos de la tenia o porque el método de concentración o de flotación empleado no los capturó.

Cuadro 3. Factores de riesgo asociados a cisticercosis en Xoxocotla, Mor., y Angahuan, Mich. 1988-1990.

En cisticercosis humana (determinada por serología):	
- Tener antecedentes de liberación de proglótidos	
ELISA	p < 0.003
IET	p < 0.003
En neurocisticercosis (determinada por TC):	
- No lavarse las manos antes de comer	p < 0.001
- No lavarse las manos después de ir al baño	p < 0.03
En teniasis (determinada por antecedentes de liberación de proglótidos):	
- Poseer cerdos infectados	p < 0.003
- Comer cerdos infectados	p < 0.05
- Ser mayor de 4 años	p < 0.02
En cisticercosis porcina (determinada por inspección de lengua):	
- Usar el corral del cerdo como baño	p < 0.0001
- Fecalismo al aire libre	p < 0.04
- Permitir que los cerdos deambulen libres	p < 0.04
- Dar a los cerdos acceso a letrinas	p < 0.01

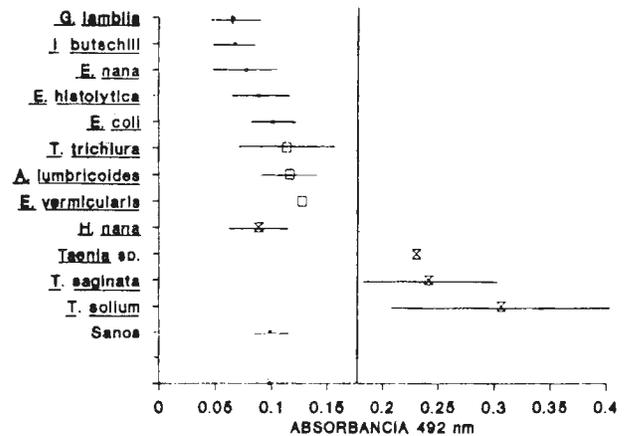


Fig. 7. Resultados del ELISA estandarizado para la detección de coproantígenos de tenia. Se evaluaron muestras de materia fecal de individuos con diferentes parasitosis y de personas sanas. Únicamente los portadores de tenia, ya sea *T. solium* o *T. saginata*, o los que desalojaron huevos de tenia, tuvieron valores de absorbancia superiores al punto de corte (línea vertical).

Con el propósito de mejorar la detección de los individuos portadores de una tenia intestinal, se estandarizó un ELISA para detección de coproantígenos^{39,40}. Este método tiene una sensibilidad de aproximadamente 100% y no da reacción cruzada con materia fecal de personas sanas o de las que albergan otros parásitos, incluyendo *Hymenolepis nana*; sin embargo, no puede distinguir de los casos de *T. saginata* (Fig. 7). El ELISA ha sido tan eficiente que ha diagnosticado algunos casos que

Cuadro 4. Comparación de la IET y el ELISA para detectar individuos con convulsiones en estudios epidemiológicos.

XOXOCOTLA, MOR.

	IET			ELISA			
	+	-	TOTAL	+	-	TOTAL	
Historia de	+	5	11	16	+	0	16
convulsiones	-	162	1371	1533	-	35	1498
Total		167	1382	1549	Total	35	1514

	IET	ELISA
Prevalencia	1.0%	1.0%
Sensibilidad	31.3%	0.0%
Especificidad	89.4%	97.7%
Valor predictivo positivo	3.0%	0.0%
Valor predictivo negativo	99.02%	96.9%

ANGAHUAN, MICH.

	IET			ELISA			
	+	-	TOTAL	+	-	TOTAL	
Historia de	+	7	20	27	+	0	27
convulsiones	-	42	934	976	-	16	959
Total		49	954	1003	Total	16	986

	IET	ELISA
Prevalencia	2.7%	2.7%
Sensibilidad	25.9%	0.0%
Especificidad	95.7%	88.3%
Valor predictivo positivo	14.3%	0.0%
Valor predictivo negativo	97.8%	97.3%

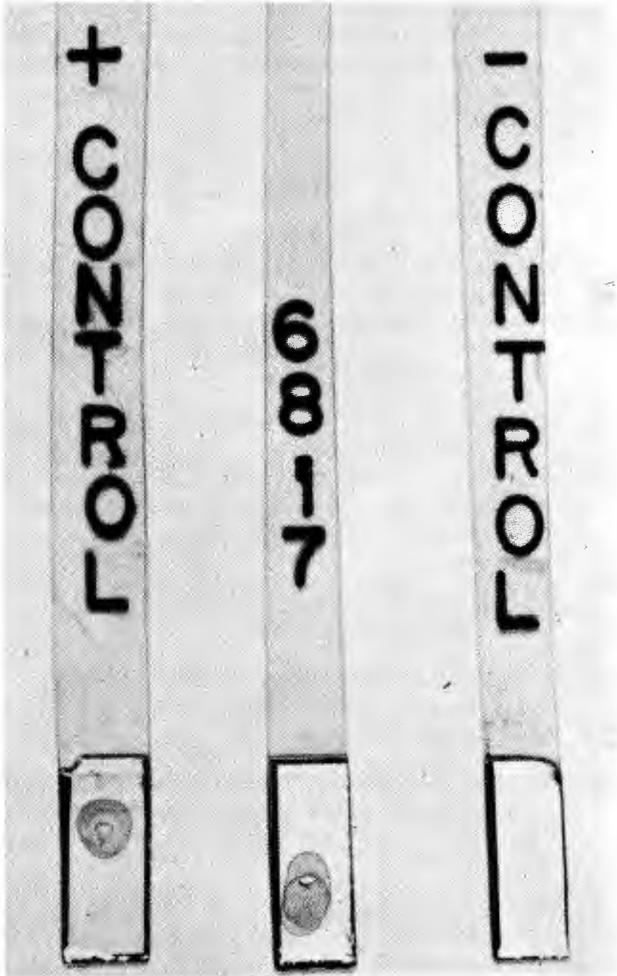


Fig. 8. Tres tiras reactivas del ELISA para coproantígenos, las dos primeras muestran resultados positivos y la tercera es negativa.

fueron negativos en la historia clínica, estudios coproparasitoscópicos y tratamiento tenicida. Un segundo tratamiento realizado con el propósito de corroborar el resultado del ELISA expulsó la tenia⁴¹. Recientemente se adaptó este ELISA para detección de coproantígenos en una presentación de tira reactiva (Fig. 8) con el fin de poder realizar la prueba en campo sin necesidad del apoyo de un laboratorio. El ELISA en tira reactiva ha sido ensayado en estudios epidemiológicos realizados en México, Guatemala y China, aunque la sensibilidad se redujo al 88%, la especificidad se mantuvo en 100% y se comprobó la facilidad de llevarla a cabo en campo con el fin de tener un diagnóstico oportuno y correcto⁴².



Referencias.

1. Flisser A. Neurocysticercosis in México. *Parasitol Today* 1988;4:131-7
2. Schenone H, Villaroel F, Rojas A, Ramírez R. Epidemiology of human cysticercosis in Latin America. En: Flisser A, Willms K, Lacleste JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, eds. *Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives*. New York, Academic Press, 1982;25-38.
3. Wei GZ, Li CJ, Meng JM, Ding MC. Cysticercosis of the central nervous system. A clinical study in 1400 cases. *Chinese Med J* 1988;101:493-500.
4. Velasco Suarez M, Bravo MA, Quirasco, F. Human cysticercosis: Medical-social implications and economic impact. En: Flisser A, Willms K, Lacleste JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, eds. *Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives*. New York, Academic Press, 1982;47-51.
5. Madrazo I, Flisser A. Parasitic infestations of the cerebrum. Cysticercosis, En Appuzo JML. (ed) *Brain surgery. Complication avoidance and management*. Churchill Livingstone, 1992;1419-30.
6. Moses A. Dos métodos biológicos de diagnóstico nas cisticercoses. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1911;3:322-6.
7. Nieto D. Diagnóstico de la cisticercosis del sistema nervioso. *Prensa Méd Mex* 1948;13:226-30.
8. Nieto D. Cysticercosis of the nervous system. Diagnosis by means of the spinal fluid complement fixation test. *Neurology*. 1956 6:725-38.
9. Gomez-Izquierdo I. Locura por cisticercosis del cerebro. *Rev Méd Mex*. 1901;13:265-7.

10. Flisser A, Woodhouse E, Larralde C. Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders. *Clin Exp Immunol* 1980;39:27-37.
11. Espinoza B, Flisser A. Antígenos específicos y de reacción cruzada de helmintos parásitos. *Arch Invest Méd (Méx)*. 1986;17:299-311.
12. Olivo A, Plancarte A, Flisser A. Presence of antigen B from *Taenia solium* cysticerci in other plathyhelminthes. *Intl J Parasitol* 1988;18:543-5.
13. Flisser A, Tarrab R, Willms K, Larralde C. Inmunoelectroforesis y doble inmunodifusión en el diagnóstico de la cisticercosis cerebral humana. *Arch Invest Méd (Méx)* 1975;6:1-12.
14. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA. III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labelled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *J Immunol* 1972;109:129-35.
15. Guerra G, Flisser A, Cañedo L, Lacleste JP. Biochemical and immunological characterization of antigen B purified from cysticerci of *Taenia solium*. En: Flisser A, Willms K, Lacleste JP, Larralde C, Ridaura C, Beltrán F, eds. *Cysticercosis. Presente state of knowledge and perspectives* New York, Academic Press, 1982;437-51.
16. Espinoza B, Ruiz Palacios G, Tovar A, Sandoval M, Plancarte A, Flisser A. Characterization by enzyme linked immunosorbent assay of the humoral response in patients with neurocysticercosis and its applications in immunodiagnosis. *J Clin Microbiol* 1986;24:536-41.
17. Tsang VCW, Brand AJ, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay by glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis* 1989;159:50-9.
18. 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 Royal Soc Trop Med Hyg* 1990;84:559-62.
19. Plancarte A, Fexas M, Flisser A. Reactivity in ELISA and dot blot of purified GP24, an immunodominant antigen of *Taenia solium*, for the diagnosis of human neurocysticercosis. *Intl J Parasitol* (en prensa).
20. Gemmell M, Matyas Z, Pawlowski Z, Soulsby E, Larralde C, Nelson GS, Rosick B. Guidelines for surveillance prevention and control of taeniasis/cysticercosis. VPH/83.49. World Health Organization, Geneva, 1983;1-207.
21. Rabiela MT, Rivas A, Rodríguez IJ. Consideraciones anatomopatológicas de la cisticercosis cerebral como causa de muerte. *Patología (Méx)* 1979;17:119-24.
22. Briceño CE, Biagi F, Martínez B. Cisticercosis. Observaciones sobre 97 casos de autopsia. *Prensa Méd Mex* 1961;26:193-7.
23. Rabiela MT, Lombardo L, Flores F. Cisticercosis cerebral. Estudio de 68 casos de autopsia. *Patología (Méx)* 1972;10:27-40.
24. Gajdusek DC. Introduction of *Taenia solium* into west New Guinea with a note on an epidemic of burns from cysticercosis epilepsy in the Ekari people on the Wissel lakes area. *Papua New Guinea Med J* 1978;21:329-42.
25. Goldsmith RS, Kagan IG, Reyes G, Cedeño FJ. Estudios seroepidemiológicos realizados en Oaxaca, México. *Bol Ofna Sanit Panam* 1971;71:500-6.
26. Flisser A, Bulnes I, Diaz ML, Luna R, Woodhouse E, Beltrán F, Ortega M, Larralde C. Estudio seroepidemiológico de la cisticercosis humana en poblaciones predominantemente indígenas y rurales del Estado de Chiapas. *Arch Invest Med (Méx)* 1976;7:107-13.
27. Woodhouse E, Flisser A, Larralde C. Seroepidemiology of human cysticercosis in México. En: Flisser, Willms K, Lacleste J.P., Larralde C, Ridaura C, & Beltrán F, eds. *Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives*. New York, Academic Press, 1982;11-24.
28. Michault A, Duval G, Bertil G, Folio G. Etude seroepidemiologique de la cysticercose a l'Ile de la Reunion. *Bull Soc Path Exp* 1990;83:82-92.
29. Sarti EJ, Schantz PM, Lara R, Gomez H, Flisser A. *Taenia solium* taeniasis and cisticercosis in a Mexico village. *Trop Med Parasitol* 1988;39:194-8.
30. Diaz-Camacho S, Candil A, Uribe M, Willms K. Serology as an indicator of *Taenia solium* tapeworm infections in a rural community in Mexico. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*. 1990;84:563-6.
31. Diaz-Camacho S, Candil A, Suate V, Zazueta M, Felix M, Lozano R, Willms K. Epidemiological study and control of *Taenia solium* infections with praziquantel in a rural village of Mexico. *Am J Trop Med Hyg*. 1991;45:522-31.
32. Keilbach N.M., A, Sarti E. A programme to control taeniasis-cysticercosis *Taenia solium*: experiences in a Mexican village. *Acta Leidensia* 1989; 457:181-9.
33. Sarti E, Schantz PM, Plancarte A, Wilson M, Gutierrez IO, López AS, Roberts A, Flisser A. Prevalence and risk factors for *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos, Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 1992;46:677-85.
34. Sarti E, Schantz PM, Plancarte A, Wilson M, Gutiérrez I, Aguilera J, Roberts J, Flisser A. Epidemiological investigation of *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in a rural village of Michoacan State, Mexico. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1994;88:49-52.
35. Schantz PM, Sarti E, Plancarte A, Wilson M, Criales JL, Roberts J y Flisser A. Community based epidemiologic investigation of *Taenia solium* cysticercosis: comparison of serologic screening tests and clinical findings in two populations in Mexico. *Clin Infect Dis* 1994;18:879-85.
36. Schantz PM, Moore AC, Muñoz JL, Hartman BJ, Schaefer JA, Aron AM, Persaud D, Sarti E, Wilson M, Flisser A. Neurocysticercosis in an orthodox Jewish community in New York city. *N Engl J Med* 1992;692-5.

37. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bull US Army Med Dept* 1948;8:326.
38. Hall A, Latham MC, Crompton DWT, Stephenson LS. *Taenia saginata* (cestoda) in western Kenya: The reliability of faecal examination in diagnosis. *Parasitology* 1981;83:91-101 .
39. Allan JC, Avila G, Garcia-Noval J, Flisser A, Craig PS. Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen detection. *Parasitology* 1990;101:473:7.
40. Avila RG. Detección de antígenos de *Taenia solium* por un método inmunoenzimático. Tesis Maestría, Facultad de Medicina, UNAM (Méx). 1992;1-126.
41. Allan JC, Craig PS, Garcia J, Mencos F, Liu D, Wang Y, Wen H, Zhou P, Stringer R, Rogan M, Zeyhle E. Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dogs and humans. *Parasitology* 1992;104:1-9
42. Allan JC, Mencos F, Garcia-Noval J, Sarti E, Flisser A, Wang Y, Liu D, Craig PS. Dipstick dot ELISA for the detection of *Taenia solium* coproantigens in humans. *Parasitology* 1993;107:79-85