

Teniasis/Cisticercosis: del diagnóstico convencional al diagnóstico molecular.

Elizabeth Ferrer.

RESUMEN

La teniasis es producida por el adulto de *Taenia solium* y *T. saginata*, mientras que la cisticercosis es causada por el cisticerco de estos parásitos en hospedadores intermediarios; el hombre puede de forma accidental, al ingerir alimentos o aguas contaminadas adquirir la cisticercosis, la cual afecta principalmente el sistema nervioso central y puede llevar a la muerte. El diagnóstico de teniasis se logra generalmente mediante exámenes coprológicos, mientras que el diagnóstico de cisticercosis se lleva a cabo principalmente por técnicas de imágenes y una amplia variedad de ensayos inmunológicos. Los métodos de diagnóstico coprológico presentan baja sensibilidad y no permiten distinguir entre *T. solium* y *T. saginata*. Por otro lado, los métodos de diagnóstico inmunológico convencional presentan limitaciones, tales como; baja sensibilidad y especificidad, debido a reacciones cruzadas con otros helmintos parásitos. Actualmente se están aplicando técnicas de Biología Molecular que permiten un mejor diagnóstico de estas enfermedades, principalmente PCR, PCR-RFLP, el uso de antígenos recombinantes, y péptidos sintéticos, que han demostrado una buena sensibilidad-especificidad para el diagnóstico de Teniasis/Cisticercosis, cuya manipulación es de fácil estandarización e independientes de las fuentes del material parasitario, por lo que se estima que en un futuro muy cercano se podrán utilizar de forma rutinaria complementando el diagnóstico convencional de estas enfermedades.

Palabras clave: teniasis, cisticercosis, antígeno recombinante, péptido sintético, PCR.

ABSTRACT

Taeniasis/Cysticercosis: from conventional diagnosis to molecular diagnosis.

The taeniasis is produced by the adult *Taenia solium* and *T. saginata* while cysticercosis is caused by the cysticerci in intermediaries hosts. The man can accidentally acquire cysticercosis by ingestion of contaminated food or water, which mainly affects the central nervous system and can lead to death. The diagnosis of taeniasis usually is accomplished through of coprologic examinations, while the diagnosis of cysticercosis is carried out mainly by imaging techniques and a wide variety of immunological tests. The coprologic methods show low sensitivity and not to distinguish between *T. solium* and *T. saginata*. Moreover, the immune conventional diagnostic methods have limitations, such as, low sensitivity and specificity, due to cross-react with other helminth parasites. Currently, are being implemented Molecular biology techniques that enable better diagnosis of these diseases, mainly PCR, PCR-RFLP and the use of recombinant antigens,

and synthetic peptides, which have demonstrated good sensitivity and specificity for the diagnosis of Teniasis/Cysticercosis and whose manipulation is easy standardization and independent of material parasite, it is estimated that in the very near future may be used on a routine basis to supplement the conventional diagnosis of these diseases.

Key words: taeniasis, cysticercosis, recombinant antigen, synthetic peptide, PCR.

"Muchos de mis conocidos criticaron mi actitud porque la consideraban mucha ilusión y utopía. No hice caso y seguí adelante."

José Witremundo Torrealba

INTRODUCCIÓN

El binomio teniasis/cisticercosis es producido por parásitos del género *Taenia*. La teniasis es causada por el adulto de *Taenia saginata* o *Taenia solium*, donde el humano es el único hospedador definitivo, mientras que la cisticercosis se produce por el cisticerco de estos ténidos en hospedadores intermediarios, la vaca para *T. saginata* (*Cysticercus bovis*) y el cerdo para *T. solium* (*Cysticercus cellulosae*) (1).

Recientemente se ha descrito otra *Taenia*, que afecta a humanos (2), la cual ha sido clasificada como una subespecie de *T. saginata* (*T. saginata asiática*) por algunos autores (3, 4) y como una nueva especie (*T. asiática*) por otros (5, 6).

Los huevos de *Taenia* son eliminados con las heces del portador, contaminando aguas y alimentos, y son ingeridos por cerdos o vacas donde evolucionan a cisticercos produciéndose la cisticercosis porcina o bovina. Cuando el hombre ingiere la carne de cerdo o vaca, contaminada con cisticercos viables, se desarrolla en él la teniasis. El hombre también puede de forma accidental, adquirir cisticercosis al ingerir los huevos de *T. solium* a través alimentos y aguas contaminadas. Estos huevos se desarrollan hasta cisticerco en diferentes tejidos, principalmente sistema nervioso central (SNC), causando la neurocisticercosis (NCC). La teniasis es generalmente asintomática, pero en la NCC se producen manifestaciones clínicas como convulsiones, mareos, cefaleas, desórdenes mentales, etc, pudiendo ocasionar en algunos casos la muerte (7).

Diagnóstico de teniasis.

El diagnóstico convencional de teniasis se basa en la identificación de proglótides grávidas, mediante tamizaje de heces, o por encuentro casual en las heces del paciente. Las proglótides de *T. solium* tienen menos de 15 ramas uterinas, mientras que las de *T. saginata* presentan más de 15, pero muchas veces, las proglótides están deterioradas por lo que la identificación es difícil (8). La observación de huevos, mediante técnicas coprológicas, sólo puede indicar teniasis, pero no se puede distinguir la especie ya que los huevos son morfológicamente iguales, además, estas técnicas tienen baja

Instituto de Investigaciones Biomédicas (BIOMED) y Departamento de Parasitología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo Sede Aragua, Maracay, Venezuela.

Correspondencia: Elizabeth Ferrer.

E-mail: elizabeth.ferrer@gmail.com

sensibilidad, debido a la expulsión irregular de las proglótides (9).

Se han desarrollado técnicas de detección de coproantígenos de *Taenia* mediante el uso de anticuerpos policlonales (10, 11) o monoclonales (12), obteniéndose buena sensibilidad, pero no permiten distinguir entre *T. solium* y *T. saginata*. Además, se han desarrollado técnicas para la detección de anticuerpos en sueros de individuos con teniasis, la mayoría con baja sensibilidad y especificidad, a excepción de un ensayo utilizando un antígeno de excreción/secreción de *T. solium* mediante EITB ("Enzyme-Linked Immunoelctrotransfer Blot Assay"), con el que se obtuvo 95% de sensibilidad y especificidad en la identificación de portadores del ténido (13).

La primera técnica molecular utilizada para el diagnóstico diferencial de *T. solium* y *T. saginata* fue la hibridación con sondas de ADN (14). Posteriormente, se clonaron 2 sondas de ADN, HDP1 y HDP2, de una genoteca de *T. saginata*, que permitieron la identificación diferencial por hibridación de los dos ténidos (15). Igualmente, en 1995, se clonaron dos sondas, pTsol-9 y pT sag-16, específicas de *T. solium* y *T. saginata* respectivamente, que logran distinguir los dos ténidos (16). Debido a lo laborioso de las técnicas de hibridación y al creciente desarrollo de una técnica molecular más sencilla, PCR ("Polymerase Chain Reaction" o reacción en cadena de la polimerasa), se lograron grandes avances en el diagnóstico molecular de teniasis. La primera PCR para amplificar ADN de *Taenia* lograba la identificación de *T. saginata* (17). Posteriormente, se diseñó una PCR que diferencia *T. saginata* de *T. saginata asiática* (18). En 1994 se realizó la detección diferencial de *T. solium* y *T. saginata* mediante una PCR-RFLP ("PCR-restriction fragment length polymorphism", polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción) (3).

Por otro lado, a partir de la secuencia de la sonda HDP2 (15), se ha diseñado una "multiplex PCR" o PCR múltiple que posibilita un diagnóstico diferencial de *T. solium* y *T. saginata* (19). Esta PCR ha sido utilizada para la identificación de aislados de los ténidos procedentes de distintas zonas geográficas (20). Paralelamente, se realizan técnicas de PCR-RFLP basadas en la amplificación del gen 5.8S ribosomal y los espaciadores intergénicos ITS1 e ITS2 y la secuencia 12S ribosomal del ADN mitocondrial, así como también la secuencia HDP2 seguido por digestión con enzimas de restricción que permitieron la detección diferencial de *T. solium* y *T. saginata* (8, 21, 22). También se han realizado estudios filogenéticos utilizando distintas técnicas, que además de identificar los ténidos han demostrado, en base a análisis de los genes mitocondriales, que *T. solium* forma dos grupos filogenéticos o genotipos, uno constituido por los aislados americanos y africanos y otro por los asiáticos (23-27). Posteriormente, se han desarrollado PCR múltiples que permiten diferenciar *T. saginata* de *T. saginata asiática* (28) basada en la sonda HDP2 y *T. saginata*, *T. saginata asiática* y los 2 genotipos de *T. solium*, basada en la amplificación de genes mitocondriales (29).

En cuanto al uso de técnicas moleculares para la obtención de antígenos para el inmunodiagnóstico de teniasis, últimamente, se han identificado por proteómica 2 antígenos del adulto de *T. solium*, TSES33 y TSES38, que fueron reconocidos por sueros de teniasicos y no por aquellos de pacientes con cisticercosis, demostrando que son estadio-específicos (30).

Todos estos trabajos demuestran que las técnicas de biología

molecular, en especial la PCR son un gran avance en el diagnóstico especie-específico de teniasis.

Diagnóstico de cisticercosis.

El diagnóstico convencional de cisticercosis se lleva a cabo generalmente por técnicas de imágenes y una amplia variedad de ensayos inmunológicos, ya que la identificación del agente causal pocas veces puede hacerse debido a la localización de los cisticercos principalmente en el sistema nervioso central (31).

Las técnicas de neuroimágenes, tales como Tomografía Axial Computarizada (TAC) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN), son útiles para el diagnóstico, pero la infección puede pasar desapercibida cuando el número de cisticercos es bajo o las imágenes no son concluyentes. Por otro lado, estas técnicas son muy costosas y de difícil acceso en la mayoría de las áreas donde la cisticercosis es endémica (7).

Las técnicas de inmunodiagnóstico se basan en la detección de antígenos circulantes del parásito y de anticuerpos anti-cisticercos tanto en suero como en líquido céfalo-raquídeo (LCR). Se han estandarizado sistemas de captura de antígenos basados en el uso de anticuerpos policlonales de conejo, rindiendo buena sensibilidad y especificidad (32, 33), sin embargo, los mejores índices diagnósticos se han obtenido utilizando anticuerpos monoclonales (34, 35).

Por otro lado, se han desarrollado varios ensayos de detección de anticuerpos contra el parásito en suero y LCR, la mayoría de ellos han utilizado como antígeno extractos crudos o fluido vesicular del parásito (36, 37), pero estas pruebas carecen de la adecuada sensibilidad y especificidad debido a la gran reactividad cruzada con otras helmintiasis, (38).

En las últimas décadas se han realizado esfuerzos para caracterizar y purificar antígenos que puedan mejorar la especificidad de los ensayos. Los mejores resultados se han obtenido con Paramiosina de *T. solium*, (39, 40) antígenos de bajo peso molecular (8-30 kDa) de cisticercos de *T. solium* (38, 41, 42), los antígenos de excreción/secreción (43-44) y las glicoproteínas (45, 46), con respecto a estas últimas, se han identificado siete glicoproteínas específicas (GP13, GP14, GP18, GP21, GP24, GP39-42, GP50) de cisticercos de *T. solium*, las cuales empleándolas en la técnica de EITB (45), han sido reconocidas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) como el método inmunológico de elección para el diagnóstico de neurocisticercosis (47).

Aunque se han realizado varios estudios sobre antígenos específicos para el diagnóstico de la enfermedad, la purificación de éstos requiere gran cantidad de material parasitario, equipos sofisticados y técnicas laboriosas, por lo que se ha recurrido a la tecnología del ADN recombinante para la clonación de los genes y la utilización de los antígenos recombinantes, o péptidos derivados de sus secuencias para solventar las limitaciones del diagnóstico inmunológico de la enfermedad.

La clonación y expresión de la paramiosina, y fragmentos truncados de ésta, ha permitido estudiar el valor diagnóstico de la misma y que los anticuerpos reaccionan principalmente con el extremo carboxilo-terminal de la molécula (48, 49). Recientemente se ha clonado un gen de choque térmico de bajo peso molecular de cisticercos de *T. solium*, cuyo antígeno recombinante mostró elevada sensibilidad y especificidad para la detección de NCC (50).

Por otro lado, se han clonado de genotecas de expresión de cisticercos de *T. solium* genes que codifican antígenos de bajo peso molecular, cuyos productos expresados han mostrado buena sensibilidad y especificidad en el inmunodiagnóstico de cisticercosis, entre ellos un antígeno de 10 kDa (CyDA) (51), los antígenos NC-3 y NC-9, de 8 y 13 kDa (52), las glicoproteínas de 14 kDa (TS14) y 18 kDa (TS18) (53) descritas anteriormente por Tsang y col. (45), los antígenos Ag1, Ag1V1, Ag2 y Ag2V1 y la quimera Ag1V1-Ag2 (54), y los recombinantes Ts8B1, Ts8B2 y Ts8B3 (55). Todos estos antígenos comparten características comunes que ha permitido agruparlos en una familia multigénica de antígenos de 8kDa; son antígenos de excreción/secreción de bajo peso molecular (entre 65-90 aminoácidos y entre 7 y 12 kDa), la mayoría de ellos son glicoproteínas, presentan aminoácidos conservados, que definen un dominio de antígenos de ténidos y son antígenos inmunodominantes (55, 56).

La utilización de péptidos sintéticos derivados de antígenos previamente caracterizados evitaría la necesidad de purificación de los antígenos recombinantes y podría asegurar la reproducibilidad de los ensayos. Por ello, últimamente se han realizado diversos trabajos en este sentido. Se han utilizado péptidos sintéticos con la secuencia aminoacídica de las glicoproteínas TS14 (sTS14) y TS18 (sTS18) y se evaluaron en el diagnóstico de cisticercosis, obteniéndose buena especificidad, pero la sensibilidad fue baja (47). En otros trabajos se sintetizaron péptidos de la familia de antígenos de 8 kDa de cisticercos de *T. solium* y se utilizaron en ELISA en el inmunodiagnóstico de la enfermedad, siendo el péptido TsRS1 el que mostró la mejor sensibilidad y especificidad (56). En otro estudio se evaluaron por ELISA cinco péptidos sintéticos derivados de moléculas protectoras de oncosferas de *T. saginata* (HP6-3, Ts45W-1, Ts45W-5, Ts45S-10, TEG-1) con LCR de individuos con cisticercosis obteniendo buena sensibilidad y especificidad (57). Posteriormente estos mismos péptidos fueron estudiados con sueros de individuos con cisticercosis de diferentes zonas geográficas de Venezuela, apreciándose un reconocimiento diferencial de algunos péptidos en las distintas zonas, por lo que se sugiere el uso de un cóctel de péptidos (58).

Por los diferentes trabajos descritos se puede inferir que el uso de antígenos recombinantes y péptidos sintéticos en el inmunodiagnóstico de cisticercosis podría mejorar la especificidad de los ensayos. Además, actualmente se están evaluando PCRs para el diagnóstico de cisticercosis.

CONCLUSIONES

El binomio teniasis/cisticercosis es un problema de salud pública. Se ha mejorado la detección especie-específica de los portadores de *Taenia sp.* gracias a la utilización de técnicas de PCR. Los antígenos recombinantes y péptidos sintéticos han mejorando la sensibilidad y especificidad de las técnicas de inmunodiagnóstico, sin embargo, hacen falta más estudios para la completa evaluación de estas nuevas herramientas y su aplicación en el diagnóstico de la estas enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

- White AC, Jr. Neuroysticercosis: a major cause of neurological disease worldwide. Clin. Infect. Dis. 1997;24:101-15.
- Fan PC. Taiwan *Taenia* and taeniasis. Parasitol Today 1988;4:86-8.
- Bowles JR, McManus DP. Genetic characterization of the Asian *Taenia*, a newly described taeniid cestode of humans. Am J Trop Med Hyg 1994;50: 33-44.
- Fan PC, Lin CY, Chen CC, Chung WC. Morphological description of *Taenia saginata asiatica* (Cyclophyllidae: *Taeniidae*) from man in Asia. J Helminthol 1995;69:299-303.
- de Queiroz A, Alkire NL. The phylogenetic placement of *Taenia* cestodes that parasitize humans. J Parasitol 1998;84:379-83.
- Hoberg EP. *Taenia* tapeworms: their biology, evolution and socioeconomic significance. Microbes Infect 2002;4:859-66.
- Del Brutto OH, Wadia NH, Dumas M, Cruz M, Tsang VC, Schantz PM.). Proposal of diagnostic criteria for human neurocysticercosis. J Neurol Sci 1996;42:1-6.
- Mayta H, Talley A, Gilman RH, Jiménez L, Verastegui M, Ruiz M, et al. Differentiating *Taenia solium* and *Taenia saginata* infections by simple Hematoxylin-Eosin Staining and PCR-Restriction Enzyme Analysis. J Clin Microbiol 2000;38:133-7.
- Allan JC, Wilkins P, Tsang V, Craig PS. Immunodiagnostic tools for taeniasis. Acta Trop 2003;87:87-93.
- Allan JC, Ávila G, García-Noval J, Flisser A, Craig PS.). Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen detection. Parasitology 1990;101:473-7.
- Machnicka B, Dziemian E, Zwierz C. Detection of *Taenia saginata* antigens in faeces by ELISA. Appl Parasitol 1996;37:106-10.
- Montenegro TC, Miranda EA, Gilman R. Production of monoclonal antibodies for the identification of the eggs of *Taenia solium*. Ann Trop Med Parasitol 1996;90:145-55.
- Wilkins PP, Allan JC, Verastegui M, Acosta M, Eason AG, García HH, et al. Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* taeniasis. Am J Trop Med Hyg 1999;60:199-204.
- Rishi AK, McManus DP. DNA probes which unambiguously distinguish *Taenia solium* from *T. saginata*. Lancet 1987; 2:1275-6.
- Harrison LJS, Delgado J, Parkhouse RME. Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* with DNA probes. Parasitology 1990;100:459-61.
- Chapman A, Vallejo V, Mossie KG, Ortiz D, Agabian N, Flisser A. Isolation and characterization of species-specific DNA probes from *Taenia solium* and *Taenia saginata* and their use in an egg detection assay. J Clin Microbiol 1995;33:1283-88.
- Gottstein B, Deplazes P, Tanner I, Skaggs J. Diagnostic identification of *Taenia saginata* with the polymerase chain reaction. Trans R Soc Trop Med Hyg 1991;85:248-49.
- Zarlenga DS, McManus DP, Fan PC, Cross JH. Characterization and detection of a newly described Asian taeniid using cloned ribosomal DNA fragments and sequence amplification by the polymerase chain reaction. Exp Parasitol 1991;72:174-83.
- González LM, Montero E, Harrison LJS, Parkhouse RME, Gárate T. Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* infection by PCR. J Clin Microbiol 2000;38:737-44.
- González LM, Montero E, Puente S, Lopez-Velez R, Hernández M, Sciuotto E, et al. PCR tools for the differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis from different geographical locations. Diagn Microbiol Infect Dis 2002;42:243-9.
- Rodríguez-Hidalgo R, Geysen D, Benitez-Ortiz W, Geerts S, Brandt J. Comparison of conventional techniques to differentiate between *Taenia solium* and *Taenia saginata* and an improved polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay using a mitochondrial 12S rDNA fragment. J Parasitol 2002; 88:1007-11.

22. Nunes C, Dias A, Dias F, Aoki S, de Paula H, Lima L, et al. *Taenia saginata*: differential diagnosis of human taeniasis by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay. *Exp Parasitol* 2005;110:412-15.
23. Gasser RB, Zhu X, Woods W. Genotyping *Taenia* tapeworms by single-strand conformation polymorphism of mitochondrial DNA. *Electrophoresis* 1999;20: 2834-37.
24. Hancock K, Broughel DE, Moura IN, Khan A, Pieniazek NJ, Gonzalez AE, et al. Sequence variation in the cytochrome oxidase I, internal transcribed spacer 1, and Ts14 diagnostic antigen sequences of *Taenia solium* isolates from South and Central America, India, and Asia. *Int J Parasitol* 2001;31:1601-17.
25. Nakao M, Okamoto M, Sako Y, Yamasaki H, Nakaya K, Ito A. A phylogenetic hypothesis for the distribution of two genotypes of the pig tapeworm *Taenia solium* worldwide. *Parasitology* 2002;124: 657-62.
26. Yamasaki H, Nakao M, Sako Y, Nakaya K, Sato MO, Mamuti W, et al. DNA differential diagnosis of human taeniid cestodes by base excision sequence scanning thymine-base reader analysis with mitochondrial genes. *J Clin Microbiol* 2002;40:3818-21.
27. Ito A, Yamasaki H, Nakao M, Sako Y, Okamoto M, Sato M, et al. Multiple genotypes of *Taenia solium*-ramifications for diagnosis, treatment and control. *Acta Trop* 2003;87: 95-101.
28. González LM, Montero E, Morakote N, Puente S, Diaz De Tuesta J, Serra T. et al. Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia saginata asiatica* taeniasis through PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;49:183-88.
29. Yamasaki H, Allan J, Sato M, Nakao M, Sako Y, Nakaya K. DNA differential diagnosis of taeniasis and cysticercosis by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2004;42:548-53.
30. Levine M, Calderon J, Wilkins PP, Lane W, Asara J, Hancock K, et al. Characterization, cloning, and expression of two diagnostic antigens for *Taenia solium* tapeworm infection. *J Parasitol* 2004;90:631-38.
31. Schantz PM, Moore AC, Muñoz JL, Hartman BJ, Schaefer JA, Aron AM, et al. Neurocysticercosis in an Orthodox Jewish community in New York City. *N Engl J Med* 1992;327:692-95.
32. Pardini AX, Vaz AJ, Dos Ramos Machado L, Livramento JA. Cysticercus antigens in cerebrospinal fluid samples from patients with neurocysticercosis. *J Clin Microbiol* 2001;39: 3368-72.
33. Wagner A. Inmunodiagnóstico de la cisticercosis: ensayos de detección de anticuerpos y de antígenos circulantes. Trabajo especial de grado presentado en la Universidad Central de Venezuela para optar al título de Magister Scientiarum 2001.
34. Harrison LJS, Joshua GW, Wright SH, Parkhouse RME. Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *Taenia saginata* cysticercosis. *Parasite Immunol* 1989;11:351-70.
35. Wang CY, Zhang HH, Ge LY. A Mab-based ELISA for detecting circulating antigen in CSF of patients with neurocysticercosis. *Hybridoma*. 1992;11: 825-27.
36. Diwan AR, Coker-Vann M, Brown P, Subianto DB, Yolken R, Escobar A, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to cysticerci of *Taenia solium*. *Am J Trop Med Hyg* 1982;20:775-79.
37. Larralde C, Lacleste J, Owen C, Madrazo I, 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.
38. Gottstein B, Zini D, Schantz PM. Species-specific immunodiagnosis of *Taenia solium* cysticercosis by ELISA and immunoblotting. *Trop Med Parasitol* 1987;38:299-303.
39. Flisser A, Woodhouse E, Larralde C. Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders. *Clin Exp Immunol* 1980;39:27-37.
40. Lacleste JP, Landa A, Arcos L, Willms K, Davis AE, Shoemaker CB. Paramyosin is the *Schistosoma mansoni* (Trematoda) homologue of antigen B from *Taenia solium* (Cestoda). *Mol Biochem Parasitol* 1991;44:287-96.
41. Ev L.V., Maia A.A., Pianetti G., Nascimento E. (1999). Immunological evaluation of a 26-kDa antigen from *Taenia solium* larvae for specific immunodiagnosis of human neurocysticercosis. *Parasitol Res* 85: 98-102.
42. Park SK, Yun DH, Chung JY, Kong Y, Cho SY. The 10 kDa protein of *Taenia solium* metacestodes shows genus specific antigenicity. *Korean J Parasitol* 2000;38:191-94.
43. Ng TF, Ko RC. Serodiagnosis of cysticercosis: specificity of different antigens and enzyme-linked immunosorbent assays. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994;88:421-22.
45. Molinari JL, García-Mendoza E, de la Garza Y, Ramírez JA, Sotelo J, Tato P. Discrimination between active and inactive neurocysticercosis by excretory/secretory antigens of *Taenia solium* in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg* 2002;66:777-81.
46. Tsang V, Brand JA, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis* 1989;159: 50-9.
47. Ito A, Plancarte A, Ma L. Novel antigens for neurocysticercosis: simple method for preparation and evaluation for serodiagnosis. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:291-94.
48. Greene RM, Hancock K, Wilkins PP, Tsang VC. *Taenia solium*: molecular cloning and serologic evaluation of 14 and 18 kDa related, diagnostic antigens. *J Parasitol* 2000;86:1001-7.
49. Vazquez-Talavera., Solis CF, Medina-Escutia E, Lopez ZM, Proaño J, Correa D. Human T and B cell epitope mapping of *Taenia solium* paramyosin. *Parasite Immunol* 2001;23:575-79.
50. Ferrer E, Moyano E, Benítez L, González LM, Bryce D, Foster-Cuevas M, et al. Cloning and characterization of *Taenia saginata* paramyosin cDNA. *Parasitol Res* 2003;91:60-67.
51. Ferrer E, González LM, Foster-Cuevas M, Cortéz MM, Dávila I, Rodríguez M, et al. *Taenia solium*: characterization of a small heat shock protein (Tsol-sHSP35.6) and its possible relevance to the diagnosis and pathogenesis of neurocysticercosis. *Exp Parasitol* 2005;110:1-11.
52. Chung JY, Bahk YY, Huh S, Kang SY, Kong Y, Cho SY. A recombinant 10 kDa protein of *Taenia solium* specific to active neurocysticercosis. *J Infect Dis* 1999;180:1307-15.
53. Hubert K, Andriantsimahavandy A, Michault A, Frosch M, Mhlschlegel F. Serological diagnosis of human cysticercosis by use of recombinant antigens from *Taenia solium* cysticerci. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:479-82.
54. Sako Y, Nakao M, Ikejima T, Piao XZ, Nakaya K, Ito A. Molecular characterization and diagnostic value of *Taenia solium* low-molecular-weight antigens genes. *J Clin Microbiol* 2000;38:4439-44.

55. Ferrer E, Bonay P, Foster M, González LM, Dávila I, Cortéz MM, et al. Molecular cloning and characterisation of Ts8B1, Ts8B2 and Ts8B3, three new members of the *Taenia solium* 8 kDa diagnostic antigen family. *Mol Biochem Parasitol* 2007;152:90-100.
56. Hancock K, Khan A, Williams FB, Yushak ML, Patabhi S, Noh J, et al. Characterization of the 8-Kilodalton Antigens of *Taenia solium* Metacestodes and Evaluation of Their Use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Serodiagnosis. *J Clin Microbiol* 2003;41:2577-86.
57. Fleury A, Beltran C, Ferrer E, Gárate T, Harrison LJ, Parkhouse RME, et al. Application of synthetic peptides to the diagnosis of neurocysticercosis. *Trop Med Int Health* 2003;8:1124-30.
58. Ferrer E, Cortéz MM, Cabrera Z, Rojas G, Dávila I, Alarcón de Noya B, et al. Oncospherical peptide-based ELISAs as potential seroepidemiological tools for *Taenia solium* cysticercosis/neurocysticercosis in Venezuela. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005;99:568-76.