

Dot blot para el diagnóstico de la cisticercosis porcina

P. Agudelo-Flórez⁽¹⁾ & L.G. Palacio⁽²⁾

(1) Grupo de investigación "Medicina Tropical", Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, Carrera 43ª N.º 52 Sur-99, Sabaneta, Colombia. Correo electrónico: pagudelo@ces.edu.co

(2) Grupo de investigación "Centauro", Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Carrera 75 N.º 65-87, Medellín, Colombia. Correo electrónico: veterinaria@agronica.udea.edu.co

Fecha de recepción: 12 de octubre de 2006

Fecha de aceptación: 9 de febrero de 2009

Resumen

La larva de *Taenia solium* provoca cisticercosis en el ganado porcino, es fuente de pérdidas económicas para los criadores y de teniosis para los seres humanos y constituye un problema de salud pública. Por consiguiente, es preciso detectar esos cerdos antes de que los seres humanos puedan consumirlos. Con ese fin, se desarrolló una prueba dot blot para uso en el inmunodiagnóstico de la cisticercosis porcina. Se estudiaron 44 cerdos, procedentes de diferentes áreas colombianas, positivos para cisticercosis, tanto por necropsia, como por la prueba Western blot. Se conformó otro grupo de 44 cerdos, con Western blot y necropsia negativas. Se hicieron los análisis de validación de la prueba diagnóstica con esas 88 muestras y se obtuvo una sensibilidad del 86,4% y una especificidad del 93,2%. El ensayo resultó útil para el diagnóstico de la cisticercosis porcina. Debido a su fácil utilización en laboratorios de áreas endémicas, así como en condiciones de campo, también es apropiado para estudios epidemiológicos.

Palabras clave

Cisticercosis – Dot blot – Inmunodiagnóstico – Porcino – Prueba rápida – *Taenia solium* – Western blot – Zoonosis.

Introducción

La presencia de metacéstodos de las especies *Taenia saginata*, *T. hydatigena*, *T. ovis* y *T. solium* en ganado vacuno, ovino, caprino y porcino respectivamente, ocasiona su decomiso y produce grandes pérdidas económicas. La larva de *T. solium*, que provoca la enfermedad denominada cisticercosis en cerdos, también infecta a los seres humanos, en quienes usualmente se aloja en el sistema nervioso central. Seres humanos y cerdos adquieren la infección por ingestión de huevos de *T. solium* y actúan como hospederos intermediarios. El hombre, único hospedero definitivo natural de *T. solium*, se infecta al ingerir carne de cerdo cruda o mal cocida con cisticercos (4, 13).

En cerdos, la cisticercosis rara vez evidencia signos clínicos. En los países latinoamericanos se detectan los

cerdos vivos infectados con quistes de *T. solium* mediante la inspección y palpación de la lengua para impedir que se vendan o sacrifiquen en los centros oficiales de inspección sanitaria, que decomisan su carne (14, 21, 28). Por ese motivo, se sacrifican ilegalmente y la carne se vende en el mercado informal, escapando a las medidas de control sanitario que aplican los médicos veterinarios en las plantas de sacrificio oficiales.

En Suramérica se han llevado a cabo diferentes estudios que permitieron determinar la prevalencia de la cisticercosis porcina. En Perú, un análisis serológico de cerdos del área rural realizado con el método de inmuno-electrotransferencia (EITB, por sus iniciales en inglés) o Western blot, mostró una seropositividad del 43%-52%. En Bolivia se halló un 38,9% de animales seropositivos con el mismo método. En Ecuador se determinó una seroprevalencia de cisticercosis porcina del 9,01% con el método inmunoenzimático ELISA (20).

En Perú, una comparación de dos métodos serológicos - ELISA y Western blot - con la inspección de la lengua y la necropsia para el diagnóstico de la cisticercosis en cerdos mostró una sensibilidad del 79,2% para la prueba ELISA, así como una especificidad del 100% para el ensayo Western blot (14). Posteriormente, se compararon los resultados del método Western blot y la inspección de la lengua obtenidos en 133 cerdos de ese país. El 43% resultó positivo con el inmunodiagnóstico y el 33% mediante la inspección de la lengua. La primera prueba presentó una sensibilidad del 98%, una especificidad del 100% y un valor predictivo del 90% (7). Puesto que subestimó su verdadero valor en animales de una zona donde la enfermedad es endémica, esos resultados indicaron que el análisis de lengua no es el método adecuado para determinar la prevalencia de la cisticercosis en cerdos.

En Colombia, una investigación realizada en diferentes zonas del departamento del Tolima (25) con el método ELISA arrojó prevalencias de cisticercosis porcina del 15,63% al 37,5%. A su vez, Agudelo-Flórez y Palacio (3) determinaron prevalencias porcinas del 2,3 al 6,8% con el método Western blot en dos comunidades rurales del departamento de Antioquia. Esos datos evidenciaron que la cisticercosis porcina era prevalente en la región y que debían emprenderse investigaciones para mejorar su diagnóstico y volverlo asequible en las diferentes áreas endémicas.

Hasta ahora se han estandarizado y validado pocas técnicas serológicas. La variedad de métodos usados para preparar el antígeno dificulta la comparación de las diferentes técnicas. La validación de los ensayos se hace difícil debido a la falta de una prueba de oro para el diagnóstico de la cisticercosis y la única verdaderamente fiable, que sería la confirmación mediante estudio anatomopatológico a través de la necropsia, es de difícil realización en seres humanos. En cerdos, los resultados de la necropsia y el conteo de los quistes en la canal constituyen buenas herramientas para validar las pruebas inmunodiagnósticas (8).

El Western blot es el método de elección para el diagnóstico serológico de la cisticercosis porcina, pero su utilización en áreas endémicas presenta dificultades debido a la escasez de la tecnología para aplicarla en diagnóstico. Por consiguiente, se carece de una herramienta diagnóstica serológica para la cisticercosis porcina que facilite la capacidad de detección de cerdos infectados a fin de que, de ser positivos, puedan tratarse, el criador no pierda el valor de los animales y puedan comercializarse sin detrimento de sus ingresos, ni de la salud de los consumidores.

El inmunoensayo de punto, o dot blot, es una prueba de diagnóstico económica y de fácil ejecución en laboratorios de baja complejidad localizados en zonas donde la cisticercosis es endémica. El antígeno se fija con una fase

sólida, generalmente papel de nitrocelulosa. Los investigadores que evaluaron esta prueba para el diagnóstico de la cisticercosis humana coincidieron en afirmar que además de económica, la dot blot era sensible, específica y fácil de realizar porque no requería equipo sofisticado para su ejecución y lectura (2, 18, 26, 29, 30). La prueba dot blot no se ha utilizado para el diagnóstico de la cisticercosis en cerdos. Por ello, y debido a que puede ejecutarse en condiciones de campo en comunidades endémicas, se propuso desarrollar el ensayo para ese fin con un antígeno crudo de fácil obtención y validarla estadísticamente para estimar sus potencialidades diagnósticas.

Metodología

Muestras de suero

Las muestras de suero de cerdos de este estudio se recolectaron en los departamentos de Chocó y Antioquia de Colombia (6). El tamaño de la muestra se determinó para una sensibilidad y una especificidad esperadas del 90%, un error del 10% y una confianza del 95%. Se realizó el cálculo en EPIDAT 3 y se obtuvo que eran necesarias 36 muestras de cada grupo, magnitud que se incrementó en un 20% para disminuir el error.

Para validar la prueba, se conformaron dos grupos de estudio compuestos por:

- 44 muestras de suero de cerdos positivos para cisticercosis tanto en la necropsia (al menos un quiste), como con la prueba Western blot. Los cerdos se insensibilizaron previamente al sacrificio. En la necropsia, los músculos estriados se cortaron cada un centímetro con el fin de determinar la presencia de quistes de *T. solium*;
- 44 muestras de suero de cerdos criados bajo estrictas medidas de higiene en un criadero tecnificado. Todos los sueros dieron negativo para cisticercosis con la prueba Western blot. Un médico veterinario realizó la inspección *ante-mortem* y *post-mortem* de estos cerdos durante el sacrificio y faenado para verificar la ausencia de cisticercos en los tejidos.

Todos los cerdos se sangraron por la vena yugular con agujas calibre 20 y tubos al vacío. Las muestras de sangre se centrifugaron a 2.500 rpm durante cinco minutos para obtener el suero, se dividieron en alícuotas y se almacenaron a -20°C hasta su uso.

Obtención del antígeno

Los protocolos para la obtención del antígeno se realizaron con cisticercos de *T. solium*, disecados del tejido muscular de dos cerdos infectados naturalmente procedentes del

norte del departamento de Antioquia. Tras extraerse, los cisticercos se lavaron con solución amortiguada de fosfatos (PBS, por sus iniciales en inglés) de pH 7,2 y fría, se pesaron secos en papel de filtro y se almacenaron a -80°C hasta el día de su procesamiento.

Protocolo para la obtención del extracto antigénico de glicoproteínas usado en la prueba Western blot

Este protocolo se llevó a cabo según la metodología descrita por Tsang y col. (27). En resumen, se obtienen 7 glicoproteínas luego de su paso por una columna de lentinlectina-Sepharosa®. Los antígenos, tras purificarse y determinarse su concentración proteica por el método de Bradford (5), se distribuyeron en alícuotas y se almacenaron a -80°C hasta su uso en la prueba Western blot. Cabe anotar que no se empleó método de deslipidización alguno para preparar el antígeno glicoprotéico. Finalmente se obtuvo una concentración de 8,8 mg/ml de proteínas del antígeno glicoproteico.

Procesamiento de muestras con la prueba Western blot

Esta prueba se desarrolló de acuerdo al método de Tsang y col. (27). En términos generales, se realizó utilizando minigeles en gradiente de 5% a 15% de solución de poliacrilamida (Bio-Rad Laboratories, Richmond CA, EE.UU., referencia 161-0146) y anti-inmunoglobulina G anti-humana (A-8792, Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.) marcada con peroxidasa como conjugado. Posteriormente, para revelar la reacción antígeno-anticuerpo producida frente a los sueros, se emplearon como reveladores el sistema peróxido de hidrógeno/3,3'-diaminobenzidina (H_2O_2 /DAB, Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, WI, EE.UU.) o el sistema peróxido de hidrógeno/3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (H_2O_2 /TMB, Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, MA, EE.UU.). Con esta prueba se procesaron todas las muestras porcinas. El criterio de positividad se determinó mediante la reacción de los sueros con al menos una de las 7 fracciones antigénicas (GP 50, 42-39, 24, 21, 18, 14 y 13), según lo recomendado (27).

Protocolo para la obtención del antígeno crudo usado en la prueba dot blot

Se utilizó la metodología descrita por Grogil y col. (15) que, en términos generales, consiste en lavar los cisticercos con PBS fría con agregado de fenilmetilsulfonilfluoruro (PMSF) 2 mM como inhibidor enzimático. Luego, los cisticercos se homogenizaron a 0°C por 100 ciclos en un homogenizador de tejidos (TEKMAR Cincinnati Ultra-Turrax® TR-10 Power Control). El material obtenido se sonicó en

hielo por seis ciclos de tres minutos cada uno, a 20 KHz con 30 segundos de intervalo de enfriamiento, en un sonicador Sonifier® modelo 200. El producto sonicado se centrifugó a 25.000 g a 4°C durante una hora y el sobrenadante se dializó contra agua bidestilada estéril y fría durante una noche. Posteriormente se hizo una medición preliminar de proteínas con el método de Bradford (5) y, al encontrarse una concentración de 2,39 mg/ml, se decidió hacer concentración de proteínas. El extracto antigénico se distribuyó en alícuotas y se almacenó a -80°C hasta su uso. Ese antígeno crudo se utilizó en la prueba dot blot.

Desarrollo de la prueba dot blot

La metodología de purificación del antígeno crudo, extraído para desarrollar la prueba dot blot, permitió obtener una concentración final de proteínas de 7,66 mg/ml. La dot blot se desarrolló siguiendo las especificaciones de Agudelo-Flórez y col. y de Cardona y Agudelo-Flórez (2, 6). Como fase para unir el antígeno, se utilizó papel de nitrocelulosa (Bio-Rad Laboratories, Cat. No. 162-0117, Richmond CA, EE.UU.) humedecido previamente con solución salina tamponada con fosfato (PBS, D-5773, Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.). Una vez pretratada, la membrana se colocó en un aparato bio dot para microfiltración (Bio-Rad Laboratories, Richmond CA, EE.UU., referencia 170-6545) cuidando que no se formaran burbujas, ni se presentaran filtraciones en los extremos del equipo.

La membrana se humedeció nuevamente con 100 μL por pozo de PBS; se hizo vacío para drenar los pozos y se fijó el antígeno a una concentración de 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en 100 μl por pozo de solución amortiguadora de carbonato-bicarbonato, de pH 9,6. En este paso, la membrana se sometió a incubación durante dos horas. Esa, y las demás incubaciones, se realizaron a temperatura ambiente y con agitación constante en un agitador rotatorio.

Posteriormente, para evitar uniones inespecíficas, se bloquearon los sitios donde el antígeno no se había unido con una solución de PBS, albúmina sérica bovina al 1% (BSA, Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.) y polioxietilensorbitanomonolaurato Tween® 20 (Merck, Schuchardt, 8011) al 0,05%. Este proceso se llevó a cabo durante una hora.

Luego se realizaron tres lavados consecutivos con PBS-Tween® 20 al 0,05%. Posteriormente, se adicionaron las muestras a evaluar a las diferentes concentraciones determinadas en la estandarización, cuidando que cada lote procesado contuviese pozos blanco, así como muestras negativas y positivas, para realizar el control de calidad de la prueba y facilitar su lectura. La concentración para las muestras de suero era de 1:50.

Tras efectuar un nuevo lavado con la solución señalada más arriba, se adicionó el conjugado previamente titulado de anti-inmunoglobulina G anti-cerdo marcada con peroxidasa (A-9417, Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.), a una concentración de 1:2000, con 100 µl por pozo, durante una hora. Al cabo de este tiempo y después de un extensivo lavado, se reveló la reacción con la solución cromógena 4-cloro 1-naftol (Immunopure Rockford, Illinois, EE.UU. No. 34010) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂ Ultrex® Ultrapure, JT Baker, Phillipsburg, NJ, EE.UU.). Se dejó reaccionar la solución durante 20 minutos, tras lo cual se detuvo la reacción con agua destilada y se quitó la membrana del equipo. Esa membrana se dejó lavando en agua destilada y en agitación durante al menos dos horas y luego se secó para leer los pozos positivos o negativos de cada membrana. La lectura se determinó de acuerdo al cambio de color azul que presentaron tanto las muestras para evaluar, como los controles negativos, positivos y los pozos blancos que determinaron la coloración de fondo de la prueba.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se basó en el registro de los datos en una tabla de doble entrada con el programa EPIDAT 3.0. Como prueba de oro se utilizaron los resultados del ensayo Western blot y los hallazgos positivos en la necropsia de los animales para calcular la sensibilidad y la especificidad de la prueba dot blot. Se determinó el intervalo de confianza del 95% (19).

Resultados

Una vez completados los análisis de laboratorio que permitieron el desarrollo de la prueba dot blot, se procesaron 88 sueros de cerdos mediante esa técnica, teniendo en cuenta los resultados de las pruebas de oro de diagnóstico de la cisticercosis porcina, a saber, la necropsia y el ensayo Western blot (Fig. 1). La lectura se hizo visualmente, tomando como patrón las coloraciones de los controles positivos y negativos. La Figura 2 muestra los resultados obtenidos con la dot blot para las muestras positivas. Los cerdos positivos en la necropsia presentaron un promedio de 172,1 quistes (desviación estándar = 294,7; rango = 1-1.081).

Los resultados, registrados en una tabla de doble entrada, se clasificaron como positivos y negativos para realizar las pruebas de validación estadística del ensayo diagnóstico y se calculó la sensibilidad y la especificidad de la dot blot. De acuerdo a los datos anteriores y con una probabilidad del 95%, la sensibilidad (S) de la dot blot fue del 86,4% (IC_{95%} 85,2-87,6) y la especificidad (E) del 93,2% (IC_{95%} 92,0-94,4) (Cuadro I).

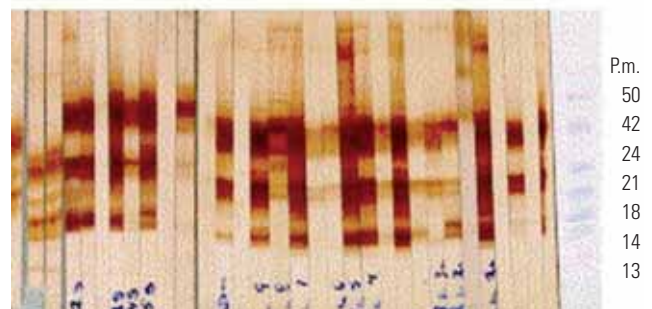


Fig. 1
Ensayo Western blot con antígeno glicoprotéico de cerdos positivos que reaccionan al menos a una de las siete fracciones antigénicas probadas
 P.m.: peso molecular



Fig. 2
Ensayo dot blot con antígeno crudo de *T. solium* en 44 muestras de suero de cerdos positivos para cisticercosis con Western blot y hallazgos de la necropsia

Las muestras se corrieron en pares consecutivos. A1 y A2 eran muestras de cerdos control negativo. A3 y A4 eran muestras de cerdos control positivo. Las muestras A11 y A12, C5 y C6, C7 y C8, C9 y C10, H1 y H2, H7 y H8 dieron negativo con la prueba dot blot. Las restantes correspondían a muestras procesadas con resultado positivo

Cuadro I
Resultados de los ensayos Western blot y dot blot para el diagnóstico de cisticercosis en cerdos

Resultado del dot blot	Resultado del Western blot		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	38	3	41
Negativo	6	41	47
Total	44	44	88

Sensibilidad: 86,36% (IC_{95%}: 85,17-87,56)
 Especificidad: 93,18% (IC_{95%}: 92,00-94,36)

Con el fin de establecer los valores predictivos (VP) reales de la dot blot, se utilizaron los datos de seroprevalencia de la cisticercosis porcina resultado de un estudio previo realizado por Agudelo-Flórez y Palacio (3) en una comunidad rural del departamento de Antioquia (Colombia) en el que se había determinado una seroprevalencia del 6,8% con la Western blot. Utilizando este dato, se obtuvo un VP positivo del 48,1% (IC_{95%} = 47,74% 48,43%) y un VP negativo del 98,94% (IC_{95%} = 98,93% 98,95%) para la dot blot.

Discusión

En el presente estudio se desarrolló y validó una prueba inmunológica dot blot para el diagnóstico de cerdos con cisticercosis que constituye una nueva alternativa validada con antígenos autóctonos y fuentes antigénicas obtenidas en distintas regiones de Colombia. Por consiguiente, resulta apropiada para emprender diferentes proyectos que permitan identificar las áreas endémicas de cisticercosis porcina, una enfermedad parasitaria antigua, muy arraigada en países en desarrollo y que constituye un importante problema de salud en todo el mundo (12, 22, 23).

Para el diagnóstico porcino se han usado diferentes pruebas diagnósticas serológicas, como las ELISA, Western blot y fast-ELISA, con diferentes antígenos, desde los extractos crudos, como el usado en el presente estudio o los antígenos purificados glicoproteicos, hasta los recombinantes y sintéticos (9, 16, 17, 24, 31).

En este estudio, se compararon los ensayos dot blot y Western blot. Según una investigación en que se compararon la prueba dot blot con un antígeno purificado para *Parastrongylus cantonensis* y la Western blot, la sensibilidad y especificidad de ambas pruebas son comparables (10). Como hasta la fecha no se había desarrollado y validado una dot blot con antígenos crudos originarios de Colombia, las comparaciones entre estudios son limitadas.

Las condiciones de ejecución de la prueba desarrollada pueden encontrarse en cualquier laboratorio de áreas endémicas; por consiguiente, se trata de un instrumento útil en los sitios que carecen de equipo o personal entrenado. Su fácil implementación, la estabilidad de los reactivos utilizados y las características propias que permiten realizarla en condiciones de campo, hacen de la prueba dot blot el método de elección para la vigilancia epidemiológica y su uso en programas de control efectivos de la enfermedad porcina.

La sensibilidad (86,4%) y especificidad (93,2%) obtenidas podrían mejorarse si, en vez de un antígeno crudo, se

usaran antígenos purificados, como glicoproteínas o antígenos recombinantes y sintéticos. Además, como es posible usar la dot blot en fluidos diferentes al suero, como la saliva, que ya ha sido utilizada para el diagnóstico de la cisticercosis humana (1, 11), podría representar una combinación novedosa que reúne las potencialidades de una prueba de fácil desarrollo con una muestra de fácil obtención, y que no requiere métodos invasivos para su recolección.

Debe tenerse presente que aunque la Western blot es la mejor herramienta serológica disponible para el diagnóstico de la cisticercosis en seres humanos, su sensibilidad disminuye en presencia de un único quiste de cisticercos o de lesiones calcificadas, y que si bien los cerdos con quistes viables muestran una reacción inmunológica fuerte, solamente una tercera parte de los animales positivos contienen cisticercos viables detectables en la necropsia.

Todavía quedan muchos interrogantes por resolver con respecto a la utilización de la prueba dot blot para el diagnóstico de la cisticercosis en cerdos. Debe establecerse, por ejemplo, su utilidad para evaluar la respuesta al tratamiento o la vacunación, el momento en que comienzan a detectarse los anticuerpos y el tiempo que permanecen en circulación, a efectos de determinar el criterio de curación o de protección en cerdos tratados o inmunizados. Puesto que otros autores observaron una baja sensibilidad de las pruebas serológicas en presencia de un número reducido de quistes (24), también es necesario correlacionar los hallazgos obtenidos con la dot blot con los diferentes grados de infección de los cerdos, incluyendo muestras porcinas con otras parasitosis.

Debe tenerse presente que un resultado positivo no significa necesariamente la presencia de la infección, ya que puede deberse a una exposición previa, a los anticuerpos maternos o a reacciones cruzadas con otros céstodos sumándose, además, los falsos positivos debidos a que la especificidad de la prueba es inferior al 100%.

Para completar la evaluación de esta prueba también es necesario validar su utilización en condiciones de campo o en estudios de tamizaje y en población general porcina. La dot blot ofrece esta potencialidad y además podría ser útil para aplicarla en programas de vigilancia epidemiológica de la cisticercosis porcina debido a su fácil aplicación, bajo costo y mayor fiabilidad que la inspección *ante-mortem* de la lengua, medida ampliamente usada en zonas colombianas de producción porcina.

La evaluación inicial de esta prueba indica su utilidad como herramienta epidemiológica en zonas endémicas, no

sólo a efectos de identificar cerdos infectados, sino también para realizar estudios sobre factores de riesgo asociados a la transmisión de *T. solium*, así como para establecer y evaluar las medidas de prevención y control más adecuadas en una zona determinada.

Agradecimientos

Al Ministerio de la Protección Social de Colombia y al Instituto Colombiano de Medicina Tropical-CES, por el apoyo financiero. ■

Dot blot for the diagnosis of porcine cysticercosis

P. Agudelo-Flórez & L.G. Palacio

Summary

The *Taenia solium* larva causes cysticercosis in pigs, as well as economic losses for farmers and taeniosis in humans, constituting a public health problem. Infested pigs must therefore be identified before they enter the food chain. To this end, a dot blot assay was developed for the immunodiagnosis of porcine cysticercosis. A study was made of 44 pigs from different areas of Colombia that had all tested positive to cysticercosis, both by necropsy and the Western blot technique. Another group was formed comprising 44 pigs that had all tested negative to Western blot and necropsy. After analysing these 88 samples to validate the diagnostic assay, the result was a sensitivity of 86.4% and a specificity of 93.2%. The dot blot assay proved useful in diagnosing porcine cysticercosis. As the assay is easy to use in laboratories in endemic areas, as well as under field conditions, it is also appropriate for epidemiological studies.

Keywords

Cysticercosis – Dot blot – Immunodiagnosis – Porcine – Rapid test – *Taenia solium* – Western blot – Zoonosis. ■

La technique Dot blot appliquée au diagnostic de la cysticercose porcine

P. Agudelo-Flórez & L.G. Palacio

Résumé

La cysticercose porcine est une parasitose causée par la larve de *Taenia solium*, qui entraîne d'importantes pertes économiques pour les éleveurs ; étant également responsable de téniasis chez l'être humain, cette larve constitue un problème de santé publique. Il est donc essentiel de détecter les porcs atteints avant qu'ils ne puissent être consommés par l'homme. À cette fin, une technique Dot blot a été mise au point pour le diagnostic immunologique de la cysticercose porcine. Un groupe de 44 porcs issus de plusieurs régions de la Colombie et atteints de cysticercose confirmée par examen nécropsique et par la technique du Western blot a été utilisé pour l'analyse. Un groupe de contrôle a été constitué avec 44 autres porcs, chez qui le Western blot et l'autopsie avaient confirmé l'absence du parasite. Les études de validation de la technique de

diagnostic conduites sur ces 88 échantillons ont mis en évidence une sensibilité de l'épreuve de 86,4 % et une spécificité de 93,2 %. Le Dot blot s'avère donc une technique efficace pour le diagnostic de la cysticerose porcine. Du fait de sa facilité d'utilisation dans les zones endémiques, aussi bien au laboratoire que dans des conditions de terrain, cette technique est également indiquée dans le cadre d'études épidémiologiques.

Mots-clés

Cysticerose – Diagnostic immunologique – Dot blot – Porc – *Taenia solium* – Test rapide – Western blot – Zoonose.

Bibliografía

- Acosta E. (1990). – Antibodies to the metacestode of *Taenia solium* in the saliva from patients with neurocysticercosis. *J. clin. Lab. Analysis*, **4** (2), 90-94.
- Agudelo-Flórez P., Botero D. & Palacio L.G. (2005). – Evaluación del método ELISA de punto para el diagnóstico de la cisticercosis humana y para estimar valores de prevalencia en una región endémica en Colombia. *Biomédica*, **25** (4), 488-495.
- Agudelo-Flórez P. & Palacio L.G. (2003). – Prevalence of *Taenia solium* antibodies in humans and in pigs in an endemic area of Colombia. *Rev. Neurol.*, **36** (8), 706-709.
- Botero D. & Restrepo M. (2003). – Cisticercosis. En: *Parasitosis Humanas* (CIB, coord.), Medellín, 356-357.
- Bradford M.M. (1976). – A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein dye binding. *Analyt. Biochem.*, **72**, 248-254.
- Cardona N. & Agudelo-Flórez P. (1998). – Immunoenzymatic dot blot test for the diagnosis of enteric fever caused by *Salmonella typhi* in an endemic area. *Clin. Microbiol. Infect.* **4** (2), 64-69.
- Díaz F., García H.H., Gilman R.H., Gonzáles A.E., Castro M., Tsang V.C.W., Pilcher J.B., Vásquez L.E., Lescano M., Carcamo C., Madico G., Miranda E. & Cysticercosis Working Group in Peru (1992). – Epidemiology of taeniasis and cysticercosis in a Peruvian Village. *Am. J. Epidemiol.*, **135** (8), 875-881.
- Dorny P., Brandt J., Zolic A. & Geerts S. (2003). – Immunodiagnostic tools for human and porcine cysticercosis. *Acta trop.*, **87** (1), 79-86.
- Dorny P., Phiri I.K., Vercruyse J., Gabriel S., Willingham A.L., Brandt J., Victor B., Speybroeck N. & Berkvens D. (2004). – A Bayesian approach for estimating values for prevalence and diagnostic test characteristics of porcine cysticercosis. *Int. J. Parasitol.*, **34** (5), 569-576.
- Eamsobhana P., Yoolek A., Punthuprapasa P. & Suvouttho S. (2004). – A dot blot ELISA comparable to immunoblot for the specific diagnosis of human parastrongylosis. *J. Helminthol.*, **78** (4), 287-291.
- Feldman M., Plancarte A., Sandoval M., Wilson M. & Flisser A. (1990). – Comparison of two assays (EIA and EITB) and two samples (saliva and serum) for the diagnosis of neurocysticercosis. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **84** (4), 559-562.
- García H.H., González A.E., Evans C.A., Gilman R.H. & Cysticercosis Working Group in Peru (2003). – *Taenia solium* cisticercosis. *Lancet*, **362** (9383), 547-556.
- García H.H., González A.E. & Gilman R.H. (2003). – Diagnosis, treatment and control of *Taenia solium* cysticercosis. *Curr. Opin. infect. Dis.*, **16** (5), 411-419.
- González A., Cama V., Gilman R., Tsang V., Pilcher J., Chaverra A., Castro M., Montenegro T., Verastegui M., Miranda A. & Bazalar H. (1990). – Prevalence and comparison of serologic assays, necropsy, and tongue examination for the diagnosis of porcine cysticercosis in Peru. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **43** (2), 194-199.
- Grogl M., Estrada J.J., Macdonald G. & Kunhn R.E. (1985). – Antigen-antibody analyses in neurocysticercosis. *J. Parasitol.*, **71** (4), 433-442.
- Handali S., González A.E., Hancock K., García H.H., Roberts J.M., Gilman R.H. & Tsang V.C. (2004). – Porcine antibody responses to *Taenia solium* antigens rGp50 and sTs18var1. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **71** (3), 322- 326.
- Ito A., Plancarte A., Nakao M., Nakaya K., Ikejima T., Piao Z.X., Kanazawa T. & Margono S.S. (1999). – ELISA and immunoblot using purified glycoproteins for serodiagnosis of cysticercosis in pigs naturally infected with *Taenia solium*. *J. Helminthol.*, **73** (4), 363-365.

18. Plancarte A., Fexas M. & Flisser A. (1994). – Reactivity in ELISA and dot blot of purified GP24, an immunodominant antigen of *Taenia solium*, for the diagnosis of human neurocysticercosis. *Int. J. Parasitol.*, **24** (5), 733-738.
19. Riegelman R.K. & Hirsch R.P. (1992). – Cómo estudiar un estudio y probar una prueba: Lectura crítica de la literatura médica. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica 531, Washington, DC, 260 págs.
20. Rodríguez-Hidalgo R., Benítez-Ortiz W., Dorny P., Geerts S., Geysen D., Ron-Roman J., Proano-Pérez F., Chávez-Larrea M.A., Barrionuevo-Samaniego M., Celi-Eraza M., Vizcaino-Ordóñez L. & Brandt J. (2003). – Taeniosis-cysticercosis in man and animals in the Sierra of Northern Ecuador. *Vet. Parasitol.*, **118** (1-2), 51-60.
21. Sato M.O., Yamasaki H., Sako Y., Nakao M., Nakaya K., Plancarte A., Kassuku A.A., Dorny P., Geerts S., Benítez-Ortiz W., Hashiguchi Y. & Ito A. (2003). – Evaluation of tongue inspection and serology for diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in swine: usefulness of ELISA using purified glycoproteins and recombinant antigen. *Vet. Parasitol.*, **111** (4), 309-322.
22. Schantz P.M., Wilkins P.P. & Tsang V.C.W. (1998). – Immigrants, imaging, immunoblots: the emergence of neurocysticercosis as a significant public health problem. *En Emerging Infections 2* (W.M. Scheld, W.A. Craig & J.M. Hughes, coords.), Washington, DC, 213-242.
23. Sciuotto E., Fragoso G., Fleury A., Lacleste J.P., Sotelo J., Aluja A., Vargas L. & Larralde C. (2000). – *Taenia solium* disease in humans and pigs: an ancient parasitosis disease rooted in developing countries and emerging as a major health problem of global dimensions. *Microbes Infect.*, **2** (15), 1875-1890.
24. Sciuotto E., Martínez J.J., Villalobos N.M., Hernández M., José M.V., Beltrán C., Rodarte F., Flores I., Bobadilla J.R., Fragoso G., Parkhouse M.E., Harrison L.J. & de Aluja A.S. (1998). – Limitations of current diagnostic procedures for the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in rural pigs. *Vet. Parasitol.*, **79** (4), 299-313.
25. Serrano J., Prada F., Nicholls R., Duque S., Prada J. & López M. (1993). – Determinación de la prevalencia de cisticercosis porcina en cuatro veredas del municipio de Coyaima. *Biomédica*, **13** (3), 129-135.
26. Téllez-Girón E., Ramos M.C., Dufour L., Álvarez P. & Montante M. (1987). – Detection of *Cysticercus cellulosae* antigens in cerebrospinal fluid by dot enzyme-linked Immunosorbent Assay (DOT-ELISA) and Standard ELISA. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **37** (1), 169-173.
27. Tsang V., Brand J. & Boyer A. (1989). – An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J. infect. Dis.*, **159** (1), 50-59.
28. Vargas G., Saldierna U., Navarro R., Acevedo A., Flisser A. & De Aluja A. (1986). – Localización del cisticercos de la *Taenia solium* en diferentes regiones musculares del cerdo y su importancia para la inspección sanitaria. *Vet. Méx.*, **17**, 275-279.
29. Vaz A.J. & Ferreira A.W. (1988). – Imunodiagnóstico da neurocisticercose: teste imunoenzimático com antígenos quimicamente ligados a suportes para pesquisa de anticorpos em soro e líquido cefalorraquiano. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, **30** (1), 1-9.
30. Vaz A.J., Ferreira A.W., Camargo M.E., Nakamura P.M. & Camargo E.D. (1990). – Dot-ELISA for detection of anti-*Cysticercus cellulosae* antibodies in human cerebrospinal fluid using a new solid-phase (Resin-treated polyester fabrics). Preliminary report. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, **32** (5), 355-359.
31. Verastegui M., Gilman R.H., García H.H., González A.E., Arana Y., Jeri C., Tuero I., Gavidia C.M. y col. Levine M., Tsang V.C. & Cysticercosis Working Group in Peru (2003). – Prevalence of antibodies to unique *Taenia solium* oncosphere antigens in taeniasis and human and porcine cysticercosis. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **69** (4), 438-444.