

Diagnóstico inmunológico de las enfermedades parasitarias

Haydeé Urdaneta R.

Instituto de Inmunología Clínica, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

Recibido Abril 24, 2007, Aceptado Junio 28, 2007.

IMMUNOLOGICAL DIAGNOSIS OF PARASITIC DISEASES

Resumen

Para conocer con precisión la prevalencia, transmisión y epidemiología de las enfermedades parasitarias, se requiere el empleo de métodos diagnósticos que idealmente deberían ser simples, sensibles, específicos, reproducibles y al alcance de cualquier laboratorio. El diagnóstico clínico de las infecciones parasitarias demanda la confirmación parasitológica, mediante la identificación del agente causal por métodos microscópicos; estos procedimientos resultan ser laboriosos, de baja sensibilidad y con frecuencia generan resultados positivos falsos por la confusión introducida por otras células. La complejidad del examen microscópico ha impulsado la investigación de otros métodos diagnósticos más sensibles y prácticos, como son los inmunológicos para la detección de anticuerpos y antígenos en diferentes fluidos biológicos, porque siempre es posible detectar niveles variables de anticuerpos o antígenos durante una infección parasitaria. Los métodos inmunológicos son posibles gracias a la obtención de antígenos parasitarios libres de cualquier otra célula con efecto metabólico, a la purificación de antígenos, a su obtención por medio de ingeniería genética y a la producción de anticuerpos poli y monoclonales de alta especificidad y sensibilidad. Hay consenso en la utilidad de las pruebas inmunológicas para el diagnóstico parasitológico, teniendo la ventaja de que no requieren personal especialmente entrenado y además facilitan el procesamiento simultáneo de un volumen elevado de muestras. Los procedimientos de captura antigénica para la detección de antígenos resultan ser las modalidades más objetivas del inmunodiagnóstico, por haber sido diseñados para la demostración del parásito o sus productos, permitiendo hasta la diferenciación de especies. En la actualidad existen técnicas de biología molecular que posibilitan la producción masiva de secuencias de DNA o RNA de los parásitos, partiendo de una muestra clínica; el DNA o RNA amplificado puede ser luego identificado por algún ensayo inmunológico.

PALABRAS CLAVE: Inmunodiagnóstico, toxoplasmosis, cisticercosis, amibiasis, helmintiasis,

Abstract

The exact knowledge of the prevalence, transmission, and epidemiology of parasitic diseases requires diagnostic methods ideally simple, sensitive, specific, reproducible and accessible to any laboratory. The clinical diagnosis of parasitic infections requires their confirmation through the microscopic identification of the causal agent. These procedures are laborious, have a low sensitivity and frequently generate false positive results by the confusion caused by other cells. The complexity of parasitological analysis has encouraged the research to find new methods more sensitive and practical, such as immunological test for the detection of antibodies and antigens in diverse biological fluids. These new methods could detect different levels of antibodies and antigens during the infection. The immunological tests are possible thanks to the obtaining of parasitic antigens without other cells with metabolic effect, purification of antigen obtained by genetic engineering and the production of polyclonal and monoclonal antibodies with high specificity and sensitivity. There is a consensus in the usefulness of immunological tests for the diagnostic of parasites, with the advantage that they do not require highly specialized personnel; in addition, it is possible to process high number of samples. The identification of antigen by means of procedures of antigenic capture seems to be the most objective modalities of immunodiagnostic tests, since they are designed for the detection of a specific parasite or its products, allowing even the recognition of species. At the present time, molecular biology methods permit the massive production of sequences of DNA or RNA from a parasite, isolated from a clinical sample. Afterwards, the DNA or amplified RNA can be identified by some immunological test.

KEY WORDS: Immunodiagnosis, toxoplasmosis, cysticercosis, amebiasis, helminthiasis.

Introducción

Para conocer con precisión la prevalencia, transmisión y epidemiología de las enfermedades parasitarias, se requiere el empleo de métodos diagnósticos que idealmente deberían ser simples, sensibles, específicos, reproducibles y al alcance de cualquier laboratorio.

La Organización Mundial de la Salud ha hecho énfasis en la necesidad de profundizar los estudios para lograr una estandarización del diagnóstico seguro y precoz de las infecciones parasitarias. La alta movilidad existente en las sociedades desarrolladas, los patrones de inmigración cambiantes, la alta morbilidad y mortalidad de algunas infecciones parasitarias deben considerarse a la hora de evaluar los métodos diagnósticos, sobre todo en ámbitos geográficos de alta prevalencia.

Diagnóstico microscópico

Actualmente, el diagnóstico clínico de las infecciones parasitarias requiere de la confirmación parasitológica mediante la identificación microscópica del agente causal. En general, estos procedimientos además de requerir la intervención de personal especializado, resultan ser laboriosos, de baja sensibilidad y con frecuencia generan resultados positivos falsos por la confusión introducida por otras células.

A pesar de las limitaciones, la microscopía como procedimiento diagnóstico en infecciones como malaria, tripanosomiasis, amibiasis y helmintiasis, en general, continúa teniendo vigencia. Para mejorar la sensibilidad del examen microscópico se ha recurrido a la realización de exámenes seriados y se afirma que en ocasiones son necesarias hasta 12 determinaciones en el mismo paciente. Estos hechos hacen del examen parasitológico una técnica poco versátil, lo que ha impulsado la investigación en busca de otros métodos más sensibles y prácticos.

Diagnóstico inmunológico

Otros procedimientos de confirmación diagnóstica, son los inmunológicos para la detección de anticuerpos en diferentes fluidos biológicos. La evaluación de la respuesta humoral se ha podido llevar a cabo gracias a la obtención de antígenos

parasitarios libres de cualquier otra célula con efecto metabólico, o purificados a partir de ingeniería genética, anticuerpos poli y monoclonales de alta especificidad y sensibilidad.

La respuesta inmunológica específica se inicia cuando el parásito entra en contacto con las células del sistema inmunológico, luego de romper las barreras primarias de defensa. Generalmente el microorganismo o sus proteínas son atrapados por los macrófagos y las células foliculares interdigitantes de los ganglios linfáticos, bazo o el tejido linfoide asociado a mucosas. Estas células son capaces de internalizar y procesar los antígenos en sus compartimientos endosómicos, para luego expresar péptidos antigénicos asociados con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II; de esta manera se crean las condiciones ideales para el inicio de una respuesta inmunológica. Los linfocitos B pueden interactuar directamente con los antígenos a través de sus receptores de membrana tipo inmunoglobulina, mientras que los linfocitos T CD4+ colaboradores (Th) reconocen al péptido antigénico incrustado en la molécula MHC de clase II, sobre la célula que lo procesó (1).

Las células que han sido capaces de reconocer a los antígenos parasitarios comenzarán a interactuar y a estimularse entre sí para inducir por un lado, la proliferación y diferenciación de los linfocitos B hacia células productoras de anticuerpos específicos, y por el otro, la proliferación y diferenciación de los linfocitos Th, bien sea hacia células del tipo 1 (Th1) productoras de interferón gamma inductoras de respuestas mediadas por células, o hacia células del tipo 2 (Th2) generadoras de interleucina 4 y de la respuesta mediada por anticuerpos o humoral.

Los parásitos extracelulares como *Entamoeba histolytica* y algunas especies de *Trypanosoma* despiertan respuestas predominantemente de anticuerpos y dirigidas por linfocitos Th2 (2), ya que son demasiado grandes para ser fagocitados o lisados por las células citotóxicas. Aunque todavía se desconoce si la desviación hacia Th2 es producto de un mecanismo de evasión que los parásitos han desarrollado a lo largo de la evolución, para escapar de las respuestas Th1 potencialmente dañinas (3). Estas reacciones están definitivamente presentes en muchas infecciones por microorganismos extracelulares gobernadas por linfocitos Th2, que se caracterizan

por una producción muy importante de anticuerpos específicos de todas las clases, es decir, IgM, IgG, IgA e IgE, cada uno con funciones particulares como, lisis celular mediada por las proteínas del complemento (IgG1, IgG3 e IgM), facilitación de la fagocitosis mediante la opsonización de organismos extraños (IgG1, IgG3, IgAs e IgE), citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (IgG1, IgG3 e IgE), y protección de las mucosas contra la adhesión e invasión de agentes microbianos (IgAs, IgG e IgM) (1).

Técnicas inmunodiagnósticas

Durante una infección parasitaria, siempre es posible demostrar niveles variables de anticuerpos séricos. Asimismo, con diferentes métodos se pueden detectar diferentes clases y subclases de inmunoglobulinas. Al respecto, se han evaluado varias pruebas inmunológicas como herramienta diagnóstica para la búsqueda de anticuerpos y antígenos en diferentes fluidos orgánicos (Tabla 1).

Tabla 1. Métodos inmunodiagnósticos

<u>Contrainmunolectroforesis</u>	<u>Radioinmunoensayo</u>
Fijación de látex	Reacción intradérmica
<u>Inmunofluorescencia indirecta</u>	<u>Ensayo inmunoenzimático</u>
<u>Hemaglutinación indirecta</u>	Fijación de complemento
<u>Doble inmunodifusión en agar</u>	<u>Inmunotransferencia</u>

La reacción de fijación de complemento posee gran especificidad y baja sensibilidad en la detección de anticuerpos, siendo de valor solo en el diagnóstico de parasitosis invasoras. Actualmente presenta poco interés debido a su poca sensibilidad y alto costo de realización, lo que ha justificado su desuso en la mayoría de los laboratorios.

La hemaglutinación indirecta (HAI) se basa en la adsorción de antígenos a una partícula (látex, glóbulos rojos, proteína A, etc.) que son aglutinados por los anticuerpos específicos que se encuentren en el suero. Es considerada una técnica bastante sensible, y es de gran utilidad para estudios epidemiológicos (4). Es efectiva en la detección de inmunoglobulinas de diferente tipo y subtipo.

La contrainmunolectroforesis es una prueba de fácil ejecución, rápida (30-60 minutos) y no da resultados negativos falsos. Es bastante sensible pero se han encontrado discrepancias con la HAI.

La reacción de inmunofluorescencia

indirecta presenta alta sensibilidad y especificidad; permite la localización de antígenos y la identificación de anticuerpos, sirve para confirmar el diagnóstico clínico y constituye un excelente método de control de curación. Junto con la HAI y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) es una de las pruebas más sensibles y con mayor valor predictivo negativo, es decir, su negatividad hace improbable el padecimiento en estudio. Tiene el inconveniente de precisar de una fuente continua de parásitos íntegros.

La doble inmunodifusión en agar consiste en la difusión de antígeno y anticuerpo en geles hasta formar complejos inmunes que pueden ser visualizados. Posee la ventaja de un alto valor predictivo positivo cercano al 94%, de lo que se desprende su utilidad para demostrar enfermedad activa. Su desventaja es que requiere al menos de 48-72 horas para su correcta interpretación, y por tanto, no es válida en casos donde se necesita un diagnóstico urgente.

Los métodos de aglutinación consisten en la adsorción de antígenos o anticuerpos a diferentes partículas. Estas pueden ser látex, glóbulos rojos, o diversas proteínas, etc. Las partículas con los anticuerpos o con los antígenos se incuban con las muestras del paciente, un resultado positivo está dado por la formación de un agregado en el pozo de la placa (Fig. 1).

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN

Antígenos o anticuerpos adsorbidos a partículas

Aglutinación con látex

Partícula de látex

Co-aglutinación

Proteína A → fragmento Fc

Hemaglutinación

Glóbulos rojos

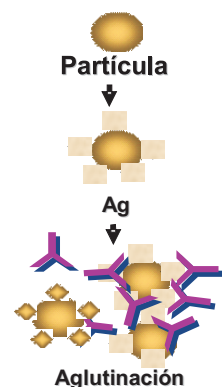


Figura 1. Diferentes métodos de aglutinación, dependiendo del tipo de partícula a la cual se le adsorbe el antígeno (Ag).

La aglutinación de látex es una técnica simple y barata pero tiene el inconveniente de que es de baja especificidad, dando frecuentemente reacciones cruzadas con el factor reumatoideo. No es útil en el estudio de grandes poblaciones.

El ensayo radioinmunológico o RIA es un método muy sensible para la determinación cuantitativa de anticuerpos, permitiendo la identificación de la clase de inmunoglobulina presente. Este ensayo tiene el inconveniente de usar material radioactivo.

El ELISA (*Enzime-Linked ImmunoSorbent Assay*) es uno de los mejores métodos para el inmunodiagnóstico debido a su alta sensibilidad (95%-100%), de gran utilidad para evaluaciones epidemiológicas. Es especialmente apropiado en las formas invasoras de la amibiasis, ya que en la intestinal, principalmente en los pacientes sin diarrea, generalmente pocos anticuerpos circulante son detectados por las pruebas serológicas. Es un ensayo ideal para la rutina del laboratorio, teniendo la ventaja de que no requieren personal especializado y que permite el procesamiento simultáneo de un volumen elevado de muestras. El ELISA consiste en una prueba heterogénea con conjugados enzimáticos unidos a anticuerpos, que se emplean en la reacción de tinción inmunoquímica (Fig. 2). Este método puede ser de varios tipos: competitivos, no competitivos, directos, indirectos y otras variantes. Se ha utilizado para determinar hormonas, drogas y cuantificar antígenos o anticuerpos presentes en infecciones bacterianas, micóticas, parasitarias o por virus.

diseñadas para la demostración en forma directa del parásito o sus productos; algunas de ellas permiten inclusive diferenciar las amibas patógenas de las no patógenas.

Diagnóstico molecular

En el pasado, los métodos empleados en la identificación de parásitos se basaban en los cultivos, obteniéndose resultados a partir de la semana de extracción de la muestra. Más aún, en aquellos microorganismos de crecimiento lento, el resultado se obtenía a los 60 días. Hoy existen técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual permite la producción masiva de secuencias de ADN o ARN del parásito, a partir de una muestra clínica; el segmento amplificado puede ser luego identificado por algún ensayo inmunológico. La PCR, se fundamenta en la multiplicación in vitro de una región de ADN elegida, que requiere de una cantidad mínima, y que en pocas horas produce enormes cantidades de la molécula inicial; este ADN se amplifica en copias múltiples (5).

La PCR posibilita distinguir *E. histolytica* de *E. dispar* en muestras de heces de pacientes, mediante el uso de sondas específicas cuya secuencia nucleotídica se conoce. Numerosos trabajos han demostrado la utilidad y la sensibilidad del PCR en la diferenciación de estas formas de *Entamoeba*, de acuerdo a sus propiedades patógenas y no patógenas (6, 7). Esta técnica puede ser efectiva aún en muestras almacenadas durante un mes a 40°C. Existe una variante de este método, el PCR-SHELA, que consiste en la identificación del ADN amplificado por medio de un sistema inmunoenzimático (8).

El dictamen mediante la demostración del ADN del *Toxoplasma gondii* por técnicas de biología molecular (PCR), es el de mayor especificidad, superando otras pruebas inmunodiagnósticas como la inmunotransferencia y el ELISA de captura. En animales experimentalmente infectados con *T. gondii*, la PCR puede descubrir al parásito 18 horas después de inoculado. Además, en fluido cerebroespinal de pacientes inmunosuprimidos, la PCR permite 80% de sensibilidad y 100% de especificidad. En general, este procedimiento ha demostrado ser el más sensible, específico y rápido

ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO

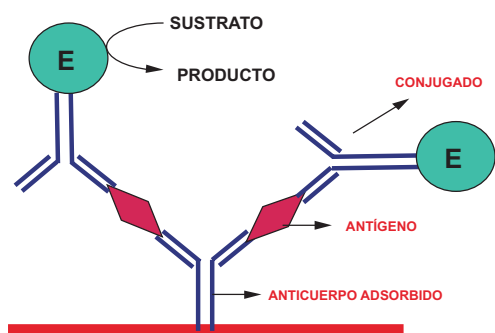


Figura 2. Representación de la determinación de antígeno (captura) por el método de ELISA. E, enzima.

Los procedimientos de captura antigénica para la detección de antígenos resultan ser las modalidades más objetivas del ELISA en la aproximación diagnóstica, por haber sido

en la detección del ADN de *T. gondii* en líquido amniótico, sangre, muestras de tejido y fluido cerebroespinal.

Existen una serie de modificaciones de la PCR: Nested-PCR, PCR-RFLP, Q-PCR, Real Time PCR (9), todas ellas tratando de lograr un mejor diagnóstico, y aunque no son propiamente técnicas inmunodiagnósticas, son de alta sensibilidad y especificidad analítica, donde el hallazgo de sus productos se realiza mediante técnicas inmunológicas.

Diagnóstico de la toxoplasmosis

El inmunodiagnóstico de la toxoplasmosis se basa en la evaluación de los cambios en los títulos de anticuerpos, interpretados según la técnica usada. Sin embargo, la presencia de anticuerpos no es suficiente para determinar si la infección es reciente o activa (4, 10). Algunas estrategias se basan en la asociación de varias pruebas para llegar a un dictamen certero, esto obviamente es prácticamente imposible en algunos lugares donde a duras penas se cuenta con una sola prueba. El diagnóstico presuntivo de rutina es usualmente realizado por la identificación serológica de inmunoglobulina específica tipo M (IgM) anti-*Toxoplasma*, o por títulos altos o crecientes de inmunoglobulina tipo G (IgG). Los niveles elevados de IgG en poblaciones endémicas, y la persistencia de IgM en algunos individuos por varios años, complica enormemente la interpretación diagnóstica (11). Además, una prueba positiva de IgM anti-*Toxoplasma* puede ser producida por reactividad cruzada, activación policlonal de linfocitos B, presencia de factor reumatoide, etc.

En la toxoplasmosis, actualmente se propone la diferenciación entre la infección aguda y la crónica mediante la evaluación de la avidez de la IgG, lo que haría posible distinguir entre IgG de baja avidez producida durante la fase inicial de la infección, y la IgG de alta avidez que se produce por la exposición repetida del parásito al sistema inmunológico, dando lugar a la maduración de los anticuerpos y en consecuencia a la fuerza de unión entre el antígeno y el anticuerpo (Ag-Ac) (12). La afinidad funcional de IgG específica es inicialmente baja después del primer desafío y se incrementa durante las semanas o meses subsiguientes a la selección de las células B por el

antígeno. La avidez se determina en curvas de títulos de anticuerpos de muestras tratadas y no tratadas con un agente que disocia las uniones Ag-Ac (manuscrito en preparación).

Diagnóstico de la cisticercosis

El diagnóstico de la cisticercosis, sobre todo la neurocisticercosis (NCC), requiere de la interpretación correcta de las neuroimágenes radiológicas, procedencia del paciente y las técnicas inmunológicas empleadas. Tanto la tomografía axial computarizada como la resonancia magnética nuclear facilitan el diagnóstico de la NCC, ya que permiten visualizar el número y localización de los metacéstodes, así como su estadio evolutivo. En lo referente a los métodos inmunológicos, existen varias pruebas destinadas a la detección de anticuerpos y antígenos en sangre, saliva y en líquido cefalorraquídeo, entre las que destacan la reacción de fijación de complemento, el ELISA y la inmunotransferencia (13).

El inmunodiagnóstico de la NCC, puede ser realizado por inmunotransferencia, mediante el paso de los antígenos de *Taenia solium* a membranas de nitrocelulosa. Las tiras de nitrocelulosa que contienen el patrón electroforético de las glicoproteínas de metacéstodes de *T. solium* se incuban individualmente con los sueros de los pacientes, lo que permite visualizar los anticuerpos específicos contra al menos uno de los siete antígenos glicoproteicos relevantes del metacéstode, purificados por afinidad a lectinas (14-17).

Diagnóstico de la amibiasis

La amibiasis humana es definida por el hallazgo de quistes o trofozoítos en las muestras fecales (18). El examen coproparasitológico es considerado "regla de oro" del diagnóstico de la amibiasis intestinal; el encuentro de amibas eritrofagacíticas tiene un 100% de especificidad ($p < 0.0001$) porque su fenotipo es invariablemente invasor (19). Estos procedimientos además de requerir la intervención de personal bien entrenado, resultan ser laboriosos, de baja sensibilidad y con frecuencia generan resultados positivos falsos por el desconcierto generado por los leucocitos que con frecuencia son confundidos con los trofozoítos de *E. histolytica* y

los quistes de otras amibas.

En las formas extraintestinales de la amibiasis deben emplearse técnicas imagenológicas, microbiológicas o inmunológicas, requiriendo algunas de ellas procedimientos muy invasivos como son la punción hepática para confirmación y precisión etiológica; esto obviamente conlleva riesgos para el paciente. Debido a las dificultades mencionadas, las pruebas inmunológicas para detectar anticuerpos amibianos son de indiscutible utilidad para las formas extraintestinales de la amibiasis (20-22).

Se han evaluado varias pruebas inmunológicas para la determinación de anticuerpos y antígenos en diferentes fluidos orgánicos. El ELISA es uno de los mejores métodos en el inmunodiagnóstico de la amibiasis, por su alta sensibilidad y especificidad (95%-100%), útil para las formas invasoras de la amibiasis, especialmente durante la fase inicial del absceso hepático amibiano. La sensibilidad disminuye con sueros de pacientes con infecciones amibianas no invasoras.

La definición del perfil electroforético de la *E. histolytica* ha sido una de las técnicas usadas en la caracterización de las distintas cepas de amiba. Con la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) se ha demostrado la existencia de hasta 32 bandas de precipitación. El 90% de los sueros de pacientes con absceso hepático amibiano reconocen principalmente ocho péptidos, con pesos moleculares entre 46-220 kDa; muchos de ellos reconocen fundamentalmente dos péptidos de superficie de 130 y 96 kDa (23).

Los procedimientos serológicos se hacen poco prácticos en áreas de elevada prevalencia, debido a las dificultades para diferenciar los anticuerpos producidos durante una infección amibiana activa de aquellos que persisten después del tratamiento. Algunos estudios demuestran que entre 6 y 20% de los sujetos sanos que viven en regiones donde la amibiasis es endémica presentan anticuerpos séricos, probablemente por el contacto continuo con *E. histolytica*.

Los procedimientos de captura antigénica para la detección de coproantígenos resultan ser las modalidades más objetivas en la aproximación diagnóstica, por haber sido diseñadas para la demostración del parásito o de sus productos en forma directa, algunas de ellas permiten inclusive diferenciar amibas patógenas de las no patógenas (Fig. 3) (24, 25).

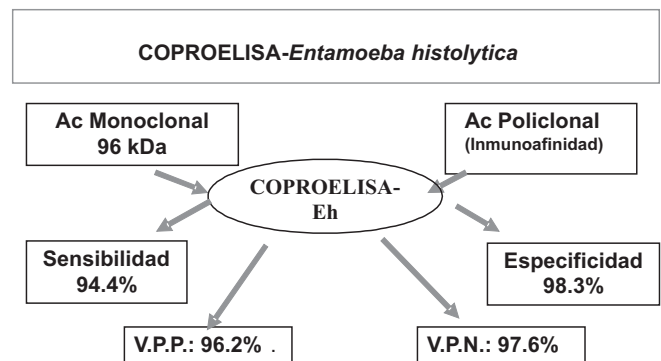


Figura 3. Método para detectar antígenos de *E. histolytica* (Eh) en heces (COPROELISA-Eh), utilizando un anticuerpo monoclonal (anti 96kDa) como primer anticuerpo y un anticuerpo policlonal purificado por inmunoafinidad como segundo anticuerpo. Ac, anticuerpo; V.P.P, valor predictivo positivo; V.P.N., valor predictivo negativo (24).

Diagnóstico de helmintiasis

Las parasitosis por helmintos pueden ser sintomáticas (prurito perianal, urticaria, trastornos nerviosos, disminución del apetito, decaimiento, trastornos gastrointestinales) o eliminar huevos, quistes, proglótides por las heces, en forma espontánea, los cuales pueden ser identificados por exámenes coproparasitoscópicos, en muestras en fresco o por métodos por concentración.

Entre los inmunodiagnósticos más certeros tenemos la búsqueda de antígenos por ELISA en heces que tiene una especificidad del 100% y una sensibilidad del 94%. La serología de toxocariasis por ELISA con un antígeno recombinante ha demostrado, también, ser altamente específico. La PCR ha revelado resultados similares que permiten diferenciar la teniasis de la cisticercosis (26).

Estrategias metodológicas

Para confirmar el diagnóstico de las infecciones es necesario asociar y/o combinar criterios epidemiológicos, clínicos y paraclínicos. Las pruebas específicas paraclínicas pueden ser morfológicas, en las cuales se busca la presencia del agente causal e inmunológicas, que comprenden a su vez dos grupos, aquellas encaminadas a cuantificar la respuesta inmune del hospedero, y las que detectan antígenos parasitarios que posibilitan predecir su presencia (manuscrito en preparación). El éxito del inmunodiagnóstico depende en gran

medida de las estrategias metodológicas que se planteen para su empleo, de la versatilidad de la técnica escogida y de la selección apropiada de los reactivos inmunológicos (antígenos y/o anticuerpos)

La naturaleza de la preparación del antígeno que ha de ser usado en el análisis y en inmunizaciones depende de varios elementos: la facilidad para preparar el antígeno, los ensayos de valoración de los anticuerpos producidos y la propiedad y especificidad deseada. El desarrollo y aplicación de las pruebas serológicas, en líneas generales se ve afectado por la dificultad para obtener cantidades suficientes de antígeno, con elevada pureza que permitan obtener una mayor sensibilidad y especificidad (16, 27, 28) que garantice la homogeneidad y control de calidad del ensayo.

Las limitaciones en la interpretación de los resultados de las pruebas serológicas están relacionadas con varios factores que involucran: la gran heterogeneidad de los pacientes, el estado inmunológico en el momento de la recolección de la muestra, las propiedades intrínsecas del ensayo utilizado para el dictamen, la fuente y metodología usada para la obtención del antígeno, y finalmente el método seleccionado para calcular el punto de corte.

En nuestro país, con serias deficiencias en lo que a reactivos inmunológicos se refiere, es necesario investigar sobre técnicas que nos permitan producir nuestras propias herramientas diagnósticas. En el laboratorio de Inmunoparasitología del Instituto de Inmunología Clínica de la Universidad de Los Andes, estamos trabajando desde hace algunos años, en la producción de antígenos, a partir de cultivos in vivo e in vitro, y anticuerpos policlonales y monoclonales para la estandarización de técnicas inmunológicas para la determinación de infecciones parasitarias.

Agradecimiento

Debo en justicia, agradecer el financiamiento prestado por el CDCHT de La Universidad de Los Andes con el Proyecto No. M-711-01-07-A, sin el cual no se hubieren realizado varios de mis trabajos en inmunodiagnóstico, cuyos resultados se ven plasmados en esta revisión.

Correspondencia: Dra. Haydeé Urdaneta R. Instituto de Inmunología Clínica, Edificio Louis Pasteur, al lado del I.H.U.L.A, Mérida 5101. e-mail: haydee@ula.ve

Referencias

1. Virella, G. Infections and immunity. 1998. *En*, Introduction to Medical Immunology. G. Virella, ed. Fourth Edition. Marcel-Dekker, New York. 239-58.
2. Ortiz-Ortiz, L., Mora, N., Zambrano-Villa, S.A., Carrero, J.C., Sánchez-Zerpa, M., Osuna, A., Rosales-Borjas, D.M. 1998. Secretory immune response in patients with intestinal amoebiasis. *Parasite Immunol.* 20:503-507.
3. Finkelman, F., Shea-Donohue, T., Goldhill, J., Sullivan, C., Morris, S., Madden, K., et al. 1997. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models. *Annu. Rev. Immunol.* 15:505-33.
4. Urdaneta, H., Díaz de R.A., Muñoz, J.F. 1990. A seroepidemiological study of toxoplasmosis in Trujillo, Venezuela. *Bol. Ven. Malariol.* 30:39-47.
5. Huston, C.D., Haque, R., Petri, W.A. Jr. 1999. Molecular-based diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *Exp. Rev. Mol. Med.* 1:1-11.
6. Fotedar, R., Stark, D., Beebe, N., Marriott, D., Ellis, J., Harkness, J. 2007. PCR detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, and *Entamoeba moshkovskii* in stool samples from Sydney, Australia. *J. Clin. Microbiol.* 45:1035-1037.
7. Sanuki, J., Asai, T., Okuzawa, E., Kobayashi, S., Takeuchi, T. 1997. Identification of *E. histolytica* and *E. dispar* cysts in stool by polymerase chain reaction. *Parasitol. Res.* 83:96-8.
8. Aguirre, A., Molina, S., Urdaneta H., Cova, J.A., Guhl, F. 1997. Characterization of two Venezuelan *Entamoeba histolytica* strains using electrophoretic isoenzyme patterns and PCR-SHELA. *Arch. Med. Res.* 28:285-287.
9. Qvarnstrom, Y., Cleve, J., Manipheth, X., Brian, P., Holloway, G.S., Visvesvara, R.S., da Silva, A.J. 2005. Comparison of Real-Time PCR protocols for differential laboratory diagnosis of amebiasis. *J. Clin. Microbiol.* 43:5491-5497.
10. Carrillo, T., Urdaneta, H., Diaz de R.A., Muñoz, J.F. 1991. Study of the presence of anti-*Toxoplasma* antibodies in butchers in Trujillo Venezuela. *Bol. Ven. Malariol.* 31:1-8.
11. Holliman, R.E., Bone, G.P., Johnson, J.D. 1996. The exclusion of recent onset *Toxoplasma* infection in patients with prolonged IgM response by the measurement of IgA and IgG avidity. *Serodiag. Immunother. Infect. Dis.* 8:57-59.
12. Tanyuksel, M., Guney, C., Araz, E., Saradi, M., Doganci, L. 2004. Performance of the immunoglobulin G avidity and enzyme immunoassay IgG/IgM screening tests for differentiation of the clinical spectrum of toxoplasmosis. *J. Microbiol.* 42:211-215.
13. Guzmán, M., Del Valle, G., Urdaneta, H. 2004. Seroprevalencia de la teniasis y cisticercosis en escolares de la localidad El Peñon, Estado Sucre, Venezuela. *Rev. Kasmera* 32:108-116.
14. Meza, N.W., Rossi, N., Galeazzi, G., Sánchez, N.,

- Colmenares, F., Medina, O., Uzcategui, N., Arango, C., Urdaneta, H. 2005. Prevalence of cysticercosis in chronic psychiatric in patients from a Venezuelan community. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 73:504-509.
15. Rivas, I., Rossi, N., Hernández, M., Urdaneta, H. 1999. Nuevas fracciones antigénicas para el inmunodiagnóstico de la neurocisticercosis. *Rev. Kasmera* 27:115-128.
16. Rossi, N., Rivas, I., Peñaloza, C., Hernández, M., Urdaneta, H. V. 2000. Inmunodiagnóstico de la neurocisticercosis: estudio comparativo de extractos antigénicos de *Cysticercus cellulosae* y *Taenia crassiceps*. *Rev. Cubana Med. Trop.* 52:157-164.
17. Yamasaki, H., Allan, J.C., Otake, S.M., Nakao, M., Sako, Y., Nakaya, K., Qiu, D., Mamuti, W., Craig, P.S., Ito, A. 2004. DNA differential diagnosis of taeniasis and cysticercosis by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 42: 548-553.
18. Fontes, G. L., Urdaneta, H.R. 1999. Diagnóstico de la amebiasis. *En, Amebiasis: Mitos y Realidades*. La Habana-Cuba.
19. Rossi, N., Urdaneta, H. 1997. Estudios inmunológicos de utilidad para el diagnóstico y seguimiento de la amebiasis. *Unidad de Publicaciones de la Facultad de Medicina* 1:1-24.
20. Caballero, S.A., Viveros, M.R., Salvatierra, B., Tapia, C.R., Sepúlveda, A.J., Gutiérrez, G., Ortiz-Ortiz, L. 1994. Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. *Am. J. Trop. Hyg.* 50:412-419.
21. Kraoul, L., Adjmi, H., Lavarde, V., Pays, J.F., Tourte-Schaefer, C., Hennequin, C. 1997. Evaluation of a rapid enzyme immunoassay for diagnosis of hepatic amoebiasis. *J. Clin. Microbiol.* 35:1530-2.
22. Urdaneta, H., Cova, J.A. 1998. *Entamoeba histolytica*: abordajes diagnósticos. *Rev. Gen* 52:265-267.
23. Guimaraes, S., Urdaneta, H., Silva, E., Tavares, C. 1991. *Entamoeba histolytica*: antigenic characterization of axenic strains from Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 33:6-11.
24. Urdaneta, H., Rangel, A., Martins, S., Muñoz, J.F., Hernández, M. 1996. *Entamoeba histolytica*: fecal antigen capture immunoassay of enteric amebiasis by a monoclonal antibody. *Rev. Med. Trop. Sao Paulo* 38:39-44.
25. Urdaneta, H., Guimaraes, S., Tavares, C. A., Silva, E. 1994. *Entamoeba histolytica*: coproantigen detection by purified antibody in a capture sandwich. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, Brasil* 36:539-545.
26. De Andrade, L.C., Perez, E.P., Araki, K., Takeuchi, T., Ito, A., Aoki, T., Yamasaki, H. 2005. Prevalence of toxocaríasis in Northeastern Brazil based on serology using recombinant *Toxocara canis* antigen. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 72:103-7.
27. Ferrer, E., Cabrera, Z., Rojas, G., Lares, M., Alarcon, B., Urdaneta, H., Harrison, L., Parkhouse, M., Cortez, M. 2003. Evidence for high seroprevalence of *Taenia solium* cysticercosis in individuals from three rural communities in Venezuela. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 97: 522-526.
28. Ferrer, E., Cortéz, M., Cabrera, Z., Rojas, G., Dávila, I., Alarcón, B., Pérez, H.A., Fernández, I., Urdaneta, H., Leslie, J.S., Harrison, R. Pakhouse, M.E., Gárate, T. 2005. Oncospheral peptide-based ELISAs as potential seroepidemiological tools for *Taenia solium* cysticercosis/neurocysticercosis in Venezuela. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 99:568-576.