

# EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN DE LÁTEX PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA

Eduardo Miranda<sup>1,a</sup>, Elizabeth Sánchez<sup>1,a</sup>, César Náquira<sup>1,2,b</sup>, José Somocursio<sup>3,c</sup>,  
Eduardo Ayala<sup>1,a</sup>, Gilberto Miranda<sup>4,d</sup>

## RESUMEN

Se evaluó una prueba de aglutinación de látex estandarizada para el diagnóstico serológico de la equinococosis quística. Se utilizó partículas de látex de 0,25 µm de diámetro, las cuales fueron sensibilizadas con antígeno total de líquido liofilizado de quiste hidatídico de ovino. Se usaron 80 sueros, 40 de pacientes operados por enfermedad hidatídica confirmada patología, 20 de pacientes con otras enfermedades parasitarias como cisticercosis, fasciolosis, toxoplasmosis, teniosis, enfermedad de Chagas y malaria y 20 de personas sanas. Se encontró que de los 40 sueros de pacientes con hidatidosis uno dio resultado negativo y de los 40 sueros de pacientes o personas sin hidatidosis cuatro dieron resultados positivos obteniéndose una sensibilidad de 97,5%, una especificidad de 90,0%, un valor predictivo positivo de 90,7% y negativo de 97,3%, siendo la concordancia encontrada al evaluar la repetibilidad y reproducibilidad del 100% en laboratorios de zonas endémicas. Se recomienda el uso de esta prueba para el descarte de hidatidosis en regiones endémicas del país, así como prueba de tamizaje en estudios epidemiológicos.

**Palabras clave:** Equinococosis; Pruebas de fijación de látex; Prueba de aglutinación (fuente: DeCS BIREME).

## EVALUATION OF AGGLUTINATION LATEX TEST FOR SEROLOGIC DIAGNOSIS OF CYSTIC ECHINOCOCCOSIS

### ABSTRACT

We evaluated a latex agglutination test standardized for serological diagnosis of cystic echinococcosis. We used latex particles of 0.25 µm in diameter, which were sensitized with antigen lyophilized total of hydatid cyst fluid of sheep. We used 80 serum samples, 40 patients operated on pathology confirmed hydatid disease, 20 patients with other parasitic diseases such as cysticercosis, fascioliasis, toxoplasmosis, taeniosis, Chagas disease and malaria, and 20 healthy people. It was found that of 40 serum samples from patients with hydatidosis was negative and one of the 40 serum samples from hydatidosis patients or people with no positive results four gave a sensitivity of 97.5%, specificity of 90.0%, predictive value 90.7% positive and negative 97.3%, with the agreement found to evaluate the repeatability and reproducibility of 100% in laboratories in endemic areas. We recommend the use of this test for the diagnosis of hydatid disease in endemic regions of Peru, also as a screening test in epidemiological studies.

**Key words:** Echinococcosis; Latex fixation tests; Agglutination tests (source: MeSH NLM).

## INTRODUCCIÓN

La equinococosis quística, zoonosis causada por el estadio larval del *Echinococcus granulosus*, es una enfermedad endémica en muchos países ganaderos del mundo, siendo muy pocas las naciones que han logrado erradicarla, dentro de las cuales podemos mencionar a Nueva Zelanda, Tasmania e Islandia. La equinococosis quística en Sudamérica tiene gran prevalencia en países como Argentina, Brasil, Uruguay, Chile y Perú <sup>(1)</sup>.

El *E. granulosus* en su estadio adulto se aloja en el intestino del perro, el cual elimina con sus heces huevos del parásito que contaminan pastos, agua y otros alimentos que constituyen fuente de infección para el ganado y el hombre en cuyo intestino se libera la oncosfera que atraviesa la pared intestinal para ubicarse en el hígado, pulmón u otros órganos en los que se desarrolla la forma quística del parásito (estado larval): el perro contrae la enfermedad cuando ingiere vísceras parasitadas con quistes hidatídicos fértiles. La patogenia se debe a la

<sup>1</sup> Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>3</sup> Hospital Edgardo Rebagliati Martins, EsSalud. Lima, Perú.

<sup>4</sup> Instituto Nacional de Salud Mental "Honorio Delgado - Hideyo Noguchi. Lima, Perú.

<sup>a</sup> Biólogo; <sup>b</sup> Médico Parasitólogo; <sup>c</sup> Médico, Anatomopatólogo; <sup>d</sup> Médico Psiquiatra.

presión física que ejercen los quistes sobre las vísceras del huésped y al shock anafiláctico que se produce por rotura traumática <sup>(2)</sup>.

La prevalencia de echinococosis quística en el Perú en los últimos siete años oscila de 7-11/100 000 habitantes, sin embargo hay departamentos de alta prevalencia que oscila entre 14-34/100000 habitantes como es el caso de: Pasco, Huancavelica, Arequipa, Junín, Lima, Puno, Cusco, Ayacucho, Ica y Tacna, que son áreas donde se cría ganado ovino y bovino, ocasionando altos costos hospitalarios que llegan entre 1000 y 5500 dólares por paciente <sup>(3,4)</sup>.

El diagnóstico clínico de la echinococosis quística es difícil de realizar debido a la gran variedad de signos y síntomas que se presentan en esta enfermedad; para un diagnóstico definitivo se requiere de medios auxiliares, como los análisis de imágenes que no logran precisar la naturaleza del agente etiológico. Las pruebas inmunológicas cumplen un rol importante en el diagnóstico de la equinococosis quística por estar orientados a la detección de anticuerpos circulantes <sup>(1)</sup>.

En la actualidad los métodos serológicos de diagnóstico más empleados son la prueba de ELISA, la HAI, la IFI, el arco V y el inmunoblot <sup>(5)</sup>. La prueba de inmunoensayo ligado a enzimas tiene la desventaja de requerir equipos y materiales de alto costo; la prueba de inmunofluorescencia indirecta, requiere de un microscopio de fluorescencia y de antígenos que no siempre están disponibles motivo por el cual su uso es limitado; la prueba de hemaglutinación indirecta presenta la desventaja de determinar un título de valor diagnóstico para cada región endémica <sup>(6)</sup>; la prueba de Arco V presenta el inconveniente de ser poco sensible y ser muy lento en su ejecución <sup>(7,8)</sup> y la prueba de inmunoblot presenta una alta sensibilidad y especificidad, siendo usada en el diagnóstico confirmatorio de esta enfermedad, sin embargo, es de alto costo <sup>(9-11)</sup>.

El reactivo látex para el diagnóstico de la equinococosis quística consiste en una suspensión de partículas de poliestireno sobre las cuales se ha adsorbido antígeno de líquido hidatídico; esta suspensión de partículas tiene un aspecto uniforme y lechoso si se le observa a simple vista sobre una placa oscura. Si esta suspensión se enfrenta a una muestra en la cual hay anticuerpos contra el parásito, esta suspensión pierde su aspecto uniforme produciéndose una agregación de partículas, las cuales pueden observarse a simple vista. Estos agregados están formados por la unión de las partículas de látex por los anticuerpos presentes en la muestra de suero al unirse con los antígenos adsorbidos sobre las partículas de látex. La prueba de látex empleando antígeno hidatídico purificado ha sido

utilizada en otros países mostrando una sensibilidad de 93% y una especificidad de 82% <sup>(11,12)</sup>. En Uruguay, el Programa de control contra la equinococosis quística utilizó el reactivo de látex-hidatidosis como prueba de tamizaje, donde obtuvieron buenos resultados <sup>(13)</sup>.

En algunas zonas endémicas del Perú no es posible implementar pruebas de IFI, ELISA o inmunoblot por ser los laboratorios de escasos recursos; por lo tanto, en el presente estudio se planteó como objetivo evaluar una prueba de aglutinación de látex para el diagnóstico serológico de la echinococosis quística.

## EL ESTUDIO

Se realizó un estudio transversal durante el año 2004, en cuatro etapas diferenciadas: selección de sueros humanos para ser utilizados como controles, preparación del antígeno hidatídico, preparación de la técnica de aglutinación de látex y determinación de la eficiencia diagnóstica de la prueba. A continuación se describe cada una de estas etapas <sup>(12,14,15)</sup>.

### SUEROS HUMANOS

Se seleccionaron por conveniencia 80 sueros; de los cuales, 40 procedieron de pacientes con enfermedad hidatídica confirmada por estudio anatomopatológico con el hallazgo de protoescolices y membrana en la pieza quirúrgica, 20 de personas sin hidatidosis provenientes de zonas no endémicas, radiográfica y ecográficamente sanos y con reacciones negativas a las pruebas de inmunoblot para hidatidosis, además se utilizó 20 sueros procedentes de pacientes con otras enfermedades parasitarias (cinco sueros de pacientes con cisticercosis, cinco con fasciolosis, cinco con toxoplasmosis, dos con teniosis, dos con enfermedad Chagas y uno con malaria).

Las muestras fueron seleccionadas y obtenidas de la Seroteca del Laboratorio de Zoonosis Parasitaria del Instituto Nacional de Salud, la confirmación por cirugía y patología de los pacientes con hidatidosis se realizó en los hospitales Edgardo Rebagliatti Martins y el Hospital Nacional Hipólito Unanue; la procedencia de dichos pacientes fueron de Puno (06), Junín (09), Huancavelica (05), Lima (04), Tacna (02), Cerro de Pasco (06), Ayacucho (05) e Ica (03) y las edades oscilaban entre 4 y 82 años. La ubicación de los quistes fueron localizados en el hígado (22), en el pulmón (12), en hígado/pulmón (05) y en corazón (01).

Los sueros de pacientes con otras parasitosis fueron negativos a hidatidosis con la prueba de inmunoblot.

Los sueros de cisticercosis fueron confirmadas por inmunoblot, los de fasciolosis por Arco II, de toxoplasmosis con IFI, los sueros de pacientes con *Taenia* sp fueron confirmados por el hallazgo de huevos característicos por el método parasitológico en heces, el de Chagas mediante gota gruesa y el de Malaria por hallazgos de las formas evolutivas de *Plasmodium vivax* por coloración sanguínea. Los sueros de *Trypanosoma cruzi* y *Plasmodium vivax* fueron incluidos para descartar reacción cruzada e indagar si no existe inmunógenos comunes entre estos parásitos y el antígeno hidatídico que puedan reaccionar a la prueba de látex.

#### PREPARACIÓN DEL ANTÍGENO HIDATÍDICO

**Obtención de los quistes hidatídicos.** Se colectaron hígados y pulmones que contenían quistes hidatídicos fértiles de ovinos sacrificados en el Camal de Yerbateros (Lima, Perú), entre febrero y mayo del 2004. En el laboratorio, el líquido hidatídico fue extraído asépticamente con una jeringa estéril y transferido a frascos estériles, para luego ser centrifugado a 5000 rpm a 4 °C durante 30 minutos, el sobrenadante se conservó a -20 °C hasta su procesamiento y en el sedimento se observó microscópicamente para confirmar la presencia de protoescolices que demuestran la fertilidad de los quistes de *E. granulosus*.

**Diálisis y liofilización del líquido hidatídico.** El líquido hidatídico se dializó usando una membrana (MWCO: 6000-8000 peso molecular) por tres días a 4 °C contra agua destilada, la cual fue cambiada tres veces. El volumen de agua destilada empleada fue 100 veces mayor que el volumen de líquido hidatídico a dializar. Luego de dializado, el líquido hidatídico se liofilizó.

**Cuantificación de proteínas del antígeno hidatídico.** El antígeno liofilizado fue resuspendido con buffer glicina pH: 8,2, se centrifugó a 14000 rpm por una hora a 4 °C y el sobrenadante fue separado y utilizado como antígeno, siendo la concentración de proteínas medida por el método de Lowry y luego conservado a -20 °C hasta su utilización.

**Control del antígeno hidatídico.** El antígeno hidatídico fue evaluado mediante la prueba de inmunoelectroforesis usando doble difusión en gel de agarosa confirmando la presencia del arco V al enfrentarlo a un suero control positivo de referencia. A este antígeno también se le analizó mediante la prueba de electroforesis en gel de poliacrilamida para confirmar y caracterizar los componentes proteicos según su peso molecular.

#### TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN DE LÁTEX

**Preparación de la suspensión stock de las partículas de látex.** Se empleó partículas látex de poliestireno de 0,25 µm de diámetro promedio, las cuales se obtuvieron comercialmente en una suspensión al 10% V/V procedente de Bangs Laboratories, USA. La suspensión stock se preparó diluyendo la suspensión comercial 1:8 en buffer glicina pH: 8,2.

**Sensibilización de las partículas de látex con el antígeno hidatídico (reactivo de látex sensibilizado).** La concentración óptima de proteínas usadas como antígeno para la prueba de látex fue de 2 mg/mL en buffer glicina pH: 8,2. Luego con esta concentración de antígeno se sensibilizó las partículas de látex de la manera siguiente: a 3,0 mL de buffer glicina se agregó 1,0 mL de antígeno hidatídico y se añadió 0,6 mL de suspensión stock de partículas de látex. Se agitó e incubó la mezcla durante 30 minutos a 37 °C y luego 24 horas a 4 °C.

#### ENSAYOS REALIZADOS

Antes de realizar los ensayos los sueros se inactivaron en baño de agua durante 30 minutos a 56 °C, para evitar reacciones cruzadas con las proteínas de complemento del suero. Los sueros fueron utilizados sin dilución alguna.

Para realizar la prueba de aglutinación de látex se usó una placa de vidrio con fondo oscuro, donde se colocó 20 µL de suero inactivado más 20 µL del reactivo de látex sensibilizado a la concentración de 0,34 mg/mL y se homogeneizó con un tips, seguidamente se agitó suavemente por rotación, durante 8 minutos y se realizó la primera lectura; luego a los 15 minutos se realizó una segunda lectura, sólo si en la primera lectura no existía aglutinación.

**Lectura de resultados.** La aglutinación de las partículas de látex correspondió a una prueba positiva. En los sueros negativos las partículas permanecieron en suspensión es decir sin aglutinación. Luego se calculó la sensibilidad y especificidad de la prueba usando el paquete estadístico Epidat v.3.1.

Para medir la repetibilidad de la prueba se realizó 10 ensayos por triplicado usando 10 sueros positivos y 10 sueros negativos. La reproducibilidad de la prueba fue medida en los departamentos de Junín, Ayacucho y Lima usando el mismo panel de sueros positivos y negativos que se utilizó para determinar la sensibilidad y especificidad. La concordancia de la repetibilidad y reproducibilidad de la prueba de aglutinación de látex fue calculada en porcentajes.

**Tabla 1.** Resultados de la prueba de aglutinación de látex con sueros hidatídicos y no hidatídicos

Prueba de látex	Suero hidatídico	Suero no hidatídico*	Total
Látex positivo	39	4	43
Látex negativo	1	36	37
<b>Total</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>80</b>

\* Incluye controles sanos (20) y sueros de pacientes con otras parasitosis (20), de los cuales hubo reacción cruzada con cisticercosis (2/5) y fasciolosis (2/5).

## HALLAZGOS

Se encontró que la prueba de látex evaluada, tiene una sensibilidad de 97,5% (IC95%: 91,4-100%), especificidad de 90,0% (79,5-100%), valor predictivo positivo de 90,7% (80,9-100%) y valor predictivo negativo de 97,3 (90,7-100%). Se encontró que hubo reacción cruzada con sueros de pacientes con cisticercosis (2/5) y fasciolosis (2/5), no se evidenció reacción cruzada con sueros de pacientes con toxoplasmosis, teniosis, enfermedad de Chagas y malaria (Tabla 1). La reproductibilidad y repetibilidad de la prueba realizada en laboratorios de Junín, Ayacucho y Lima fue del 100%.

## DISCUSIÓN

La prueba de aglutinación de látex estandarizada en el presente trabajo con antígeno procedente del líquido de quistes hidatídicos de ovinos, es válido para sueros de pacientes con sospecha clínica de hidatidosis en Perú, es posible que utilizando la misma prueba se encuentre resultados diferentes con sueros de poblaciones de otros países, debido a que este valor varía en relación a la calidad y cantidad de anticuerpos formados por el huésped en respuesta a los antígenos del quiste hidatídico. La calidad está determinada por la capacidad inmunogénica de los antígenos parasitarios que estimulen al sistema inmune del huésped y la concentración de anticuerpos depende de la intensidad del estímulo, ambos parámetros varían en las diferentes poblaciones del huésped<sup>(12)</sup>. La prueba obtuvo un buen rendimiento en sensibilidad, especificidad y valores predictivos por encima de 90%, siendo estos resultados dependientes de los principales factores que influyen en las respuestas del huésped a los antígenos del quiste hidatídico que lo constituyen, la cepa de parásitos, la inmunocompetencia del huésped, el órgano parasitado, la fertilidad del quiste, la viabilidad de las larvas y la integridad de la membrana germinativa<sup>(16,17)</sup>.

La localización de los quistes (hígado, pulmón, hígado/pulmón y corazón) no afectó la sensibilidad de la prueba. Esto podría explicarse debido a que el antígeno utilizado

contenía líquido hidatídico procedente de quistes de hígado y pulmón.

En el único paciente con hidatidosis que no se detectó anticuerpos, podría deberse a que este paciente de cuatro años de edad albergaba un quiste hidatídico calcificado de tres centímetros de diámetro a nivel pulmonar, en el cual no hay salida de inmunógenos del parásito o es muy escasa. Se ha demostrado que la respuesta inmune del huésped está relacionada con la integridad de la capa germinal de la larva, la cual impide la salida del líquido hidatídico u otros productos parasitarios como inmunógenos que estimulan al sistema inmune; de allí que los pacientes con este tipo de quistes calcificados muestran serología negativa<sup>(6)</sup>. Se tiene información de que el suero que dio reacción falsa negativa a la prueba de aglutinación de látex, también dio reacción negativa a las pruebas de DD5, ELISA e inmunoblot, realizadas en el Instituto Nacional de Salud en el año 2004. Sin embargo, generalmente los quistes calcificados no producen riesgo de mortalidad hacia el individuo, es por eso que si consideramos al paciente con quiste calcificado, como no hidatídico, la sensibilidad de la prueba de aglutinación de látex subiría de 97,5% a 100%.

La reacción cruzada observada en dos sueros de pacientes con cisticercosis y dos sueros de pacientes con fasciolosis, nos revela la presencia de antígenos comunes o proteínas diferentes con los mismos determinantes antigénicos entre estas tres especies de helmintos<sup>(18)</sup>. No se encontró reacción cruzada con sueros de pacientes con toxoplasmosis, teniosis, enfermedad de Chagas, malaria ni con sueros de personas sanas, lo cual nos demuestra la buena especificidad de la prueba de aglutinación de látex.

En relación a la prueba de aglutinación de látex, Barbieri *et al.* utilizando como antígeno a una fracción lipoprotéica purificada del líquido hidatídico, encontraron una sensibilidad y una especificidad de 87% y 88% respectivamente<sup>(13)</sup>. Asimismo, Szyfres & Kagan, utilizando como antígeno el líquido de quistes hidatídicos de ovinos, encontraron una sensibilidad de 93%<sup>(19)</sup> las cuales son inferiores al hallado en el presente estudio.

El 100% de concordancia hallada al medir la repetibilidad y reproducibilidad en regiones endémicas de diferentes condiciones ambientales como Junín y Ayacucho, nos evidencian la producción de esta prueba sin mayores inconvenientes. Sin embargo, es importante mencionar que sólo se evaluó el tiempo de expiración hasta los ocho primeros meses desde que se produjo el reactivo látex-hidatidosis. Asimismo lo ideal hubiera sido evaluar la prueba de látex con una mayor cantidad de muestras

y así tener un resultado más representativo. De la misma manera a pesar que esta investigación sólo requirió un bajo presupuesto para su ejecución, no se llegó a evaluar el costo del servicio por ensayo de cada muestra.

Por lo tanto se recomienda el uso de la prueba de aglutinación de látex para el diagnóstico serológico de rutina de la echinococosis quística como prueba de descarte en regiones endémicas del país, además podría utilizarse como prueba de tamizaje en estudios epidemiológicos debido a que la sensibilidad fue evaluada con sueros procedentes de pacientes hidatídicos de las diferentes regiones endémicas del Perú como Puno, Junín, Huancavelica, Lima, Tacna, Cerro de Pasco, Ayacucho e Ica.

## AGRADECIMIENTOS

A Lidia Llantoy, Avelino Cordero Condori, Vanessa García y Lidia Chávez por su apoyo al evaluar la reproducibilidad de la prueba. A Omar Cáceres por su asesoramiento técnico al adquirir las partículas de látex y en especial a Gladys Patiño por la confirmación quirúrgica y patológica de algunos de los sueros hidatídicos.

### Fuente de Financiamiento

Instituto Nacional de Salud

### Conflictos de Interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gómez JC. Valor diagnóstico de inmunoblot con líquido hidatídico humano, frente a antígeno ovino y bovino. Rev Mex Patol Clin. 2004; 51(2): 75-89
- Craig PS, McManus DP, Lightowers MW, Chabalgoity JA, García HH, Gavidia CM, et al. Prevention and control of cystic echinococcosis. Lancet Infect Dis. 2007; 7(6): 385-94.
- Náquira F, Bullón R, Balbin G, Reyes N. Epidemiología de la hidatidosis en el Perú. En: Anales del seminario nacional de zoonosis y enfermedades de transmisión alimentaria. Lima: Ministerio de Salud; 1989. p. 122-37.
- Pérez C. Proyecto de control de hidatidosis en el Perú por vigilancia epidemiológica. [Tesis de doctor en medicina]. Lima: Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
- Kaddah MH, Maher KM, Hassanein H, Farrag AI, Shaker ZA, Khalafallah AM. Evaluation of different immunodiagnostic techniques for diagnosis of hydatidosis in Egypt. J Egypt Soc Parasitol. 1992; 22(3): 653-65.
- Lorca M, Escalante H, García A, Denegri M, Sierra P, Silva M. Estandarización y evaluación de una técnica de ELISA para el diagnóstico de la hidatidosis humana. Parasitol Día. 1991; 15(3/4): 74-78.
- Gomez A. Aplicación de las pruebas de Elisa, Inmunoblot y Coaglutinación (Co-A) en el diagnóstico de la hidatidosis humana en el laboratorio del Instituto Nacional de Salud 1997. [Tesis de bachiller]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 1998.
- Alva P, Cornejo W, Sevilla C, Huiza A. Encuesta serológica para hidatidosis humana por la prueba de doble difusión Arco 5 en la provincia de Chupaca, Junín, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2008; 25(1): 149-52.
- Sánchez E. Determinação de antígenos relevantes de la forma larval do *Echinococcus granulosus*: Padronizacao e aplicação do inmunoblot no diagnóstico de hidatidose humana. [Tese de maetria]. Rio de Janeiro: Instituto OswaldoCruz-Floacruz; 1995.
- García-Apaico V, Vargas-Cuba FH, Martínez-Salcedo J, Huamani-Basilio N, Fernández-Chillcce I, Lara-Romani E. Seroprevalencia de hidatidosis en escolares de Huancasancos, Ayacucho 2004. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2008; 25(3): 290-93.
- Sánchez E, Náquira C, Gutiérrez S, Ayala E, Medina S. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico serológico de la hidatidosis humana. Instituto Nacional de Salud. Lima; 1997. Serie de normas técnicas N° 22.
- Varela-Díaz VM, Coltorti EA. Técnicas para el diagnóstico inmunológico de la hidatidosis humana. Buenos Aires: Centro Panamericano de Zoonosis; 1974.
- Barbieri M, Sterla S, Battistoni J, Nieto A. High performance latex reagent for hydatid serology using *Echinococcus granulosus* lipoprotein antigen fraction purified from cyst fluid in one step. Int J Parasitol. 1993; 23(5): 565-72.
- Sánchez E, Naquira C, Vega ES. Manual de procedimientos para el diagnóstico serológico de las zoonosis parasitarias. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2002.
- Organización Panamericana de la Salud. Manual de procedimientos de control de calidad para los laboratorios de serología de los bancos de sangre. Washington DC: OPS; 1994.
- Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. Clin Microbiol Rev. 2003; 16(1): 18-36.
- Almeida FB, Rodrigues-Silva R, Neves RH, Romani EL, Machado-Silva JR. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* in livestock from Peru. Vet Parasitol. 2007; 143(1): 50-58.
- van Doorn HR, Wentink-Bonnema E, Rentenaar RJ, van Gool T. Specific cross-reactivity in sera from cystic echinococcosis patients in an enzyme-linkend immunoelectrotransfer blot for cysticercosis diagnostics. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2007; 101(9): 948-50.
- Szifres B, Kagan IG. Prueba modificada de aglutinación látex como procedimiento tamiz para hidatidosis. Bol Oficina Sanit Panam. 1963; 54(3): 208-12.

**Correspondencia:** Blgo. Eduardo Miranda Ulloa  
 Dirección: Cápac Yupanqui 1400, Lima11, Perú.  
 Teléfono: (511) 617-6200  
 Correo electrónico: emiranda@ins.gob.pe