



Enfermedades infecciosas tropicales y tracto gastrointestinal

DIARREA DEL VIAJERO *pág. 47*PARASITOSIS AUTÓCTONAS *pág. 53*INMIGRACIÓN Y PARASITOSIS *pág. 60*

Puntos clave

La detección de coproantígenos, o aislamiento de antígenos eliminados en heces, es uno de los ensayos diagnósticos más empleados en la actualidad. Estas pruebas tienen una sensibilidad y sencillez de ejecución elevadas.

La serología mediante detección de anticuerpos específicos en el suero del paciente se utiliza en el diagnóstico de amebiasis invasiva, colitis y absceso hepático, pero no se usan en la rutina del diagnóstico de parasitosis intestinales.

Las pruebas para el estudio en suero de antígenos circulantes o "marcadores" de parásitos intestinales son una opción muy prometedora, aunque todavía sin desarrollar.

Los métodos de biología molecular, gracias a la caracterización del genoma de estos organismos, permiten el diseño de diferentes protocolos de reacción en cadena de la polimerasa prácticamente para cada uno de los parásitos de interés.

El diagnóstico rutinario de las parasitosis intestinales se basa en la observación microscópica de los diferentes estadios de los parásitos en la fase intestinal. Este diagnóstico permite la detección de poliparasitaciones, pero presenta limitaciones de sensibilidad y especificidad.

Diagnóstico de las parasitosis intestinales. Aplicación de nuevas herramientas

TERESA GÁRATE E ISABEL DE FUENTES

Servicio de Parasitología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid. España.

Los parásitos intestinales, protozoos y helmintos, utilizan el intestino del hombre para su desarrollo. Generalmente, son agentes infecciosos cosmopolitas, con mayor prevalencia en áreas tropicales y subtropicales, frecuentemente se presentan asociados (poliparasitaciones), ocasionan serios problemas de salud en las poblaciones afectadas, especialmente en niños y en individuos inmunocomprometidos, y se consideran marcadores de pobreza y escasa higiene.

Tradicionalmente, su diagnóstico se ha realizado a partir del examen microscópico de heces del paciente, mediante el aislamiento y la identificación de las formas parasitarias que se eliminan. Estas determinaciones, aún siendo en ocasiones específicas, muestran pobre sensibilidad, sólo permiten el diagnóstico de la infección aguda y patente, exigen la toma de muestras seriadas, son muy laboriosas y requieren especialización del analista. En los últimos años, el avance en el estudio molecular de estos parásitos y la investigación de la respuesta inmunitaria específica del paciente, junto con el empleo de las nuevas metodologías diagnósticas, han posibilitado el desarrollo de sistemas de detección más eficaces que apoyan al clínico, permiten el seguimiento de los tratamientos y facilitan los estudios epidemiológicos necesarios para su control (fig. 1).

Diagnóstico de protozoos intestinales

Los grupos de protozoos intestinales más importantes, con las especies relevantes, son: amebas (*Entamoeba histolytica*), *Blastocystis ho-*

minis, flagelados (*Giardia lamblia*), ciliados (*Balantidium coli*), coccidios (*Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis*, *Isopora belli*, *Sarcocystis* spp.) y microsporidios.

Los avances realizados en el diagnóstico son variables, y son significativos en el caso de las especies más sobresalientes, como *E. histolytica*, *G. lamblia* y *Cryptosporidium* spp., y no tan destacados en las otras citadas. De forma global, se han realizado mejoras tanto en el diagnóstico inmunológico como molecular. Así, en el diagnóstico inmunológico cabe citar la detección de coproantígenos, o aislamiento de antígenos parasitarios eliminados en heces utilizando anticuerpos específicos, monoclonales o sueros policlonales, que reconocen moléculas de secreción, superficie, o pared de las especies estudiadas^{1,2}. En general, estos anticuerpos se inmovilizan sobre un soporte sólido, con frecuencia placas de ELISA³, membranas inmunocromatográficas⁴, y otros materiales inertes. La caracterización de coproantígenos presenta las ventajas siguientes: *a)* permite en algunos casos la distinción de especies isomórficas del mismo género (*E. histolytica* –patógena–/*Entamoeba dispar* –no patógena–); *b)* tiene excelente sensibilidad y especificidad; *c)* no requiere personal experimentado para su desarrollo, y *d)* posibilita el cribado de gran número de muestras, como sucede en los brotes de las enfermedades en estudio⁵. Además, en los últimos años se han desarrollado prototipos que admiten la detección simultánea de 2 o, incluso, las 3 especies mencionadas^{4,6}. Recientemente, se ha producido una mejora significativa con la puesta a punto de un ensayo para el diagnóstico rápido de antígenos de *E. histolytica* en he-

ces⁷, así como con la producción de una prueba inmunocromatográfica cualitativa en fase sólida no enzimática, Simple-Read, que permite la detección en un corto período de *G. lamblia*⁸.

Por otra parte, hay que indicar que el diagnóstico por coproantígenos también presenta aspectos negativos, como la obligación de emplear heces frescas o congeladas en la mayoría de los ensayos citados³⁻⁶, y, en ocasiones, la necesidad de examinar más de una muestra para conseguir un resultado concluyente⁹. También en el campo de las pruebas inmunológicas, se deben comentar las novedades que se han producido en el diagnóstico serológico de las protozoosis intestinales. Así, la detección de anticuerpos séricos se utiliza en el diagnóstico de amebiasis invasiva, colitis y absceso hepático, como complemento de otro tipo de determinaciones, ya que sólo la presencia de anticuerpos no permite distinguir entre una infección presente o pasada⁵. El método más utilizado es el ELISA de detección de anticuerpos antilectina Gal/GalNAc, con una sensibilidad que puede alcanzar el 100% en el diagnóstico del absceso¹⁰. En el caso de *Cryptosporidium*, se ha demostrado la utilidad en la detección y seguimiento de la parasitosis¹¹ de la determinación sérica de anticuerpos contra 2 antígenos, r27 y 17-kDa, y se sigue discutiendo sobre el interés de este tipo de ensayos en el diagnóstico de giardiasis humana¹². Con respecto al estudio de marcadores específicos –antígenos– de los protozoos en el suero de los pacientes parece una solución prometedora, aunque todavía se encuentra en fase de investigación. También hay que mencionar la utilidad del diagnóstico inmunológico cuando la muestra que llega al laboratorio es una biopsia intestinal, identificándose el parásito mediante anticuerpos específicos y técnicas de inmunohistoquímica.

En el campo de la biología molecular, gracias a la caracterización del genoma de estos organismos, se han diseñado diferentes protocolos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), PCR múltiple, PCR-RFLP (polimorfismo del tamaño de fragmentos de restricción) y PCR en tiempo real, prácticamente para cada uno de los protozoos mencionados, bien para su diagnóstico en pacientes o para su identificación a nivel de especie, genotipo o cepa, según los casos¹³⁻¹⁷, incluso para la detección conjunta de *E. histolytica*, *G. lamblia* y *Cryptosporidium* spp.¹⁸. Además, para superar los defectos que presenta la amplificación genómica tradicional, como la posibilidad de obtener falsos positivos por la amplificación inespecífica de fragmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN) irrelevantes o, por el contrario, falsos negativos debido al no reconoci-

miento de la secuencia diagnóstica por presencia de inhibidores, la introducción de la tecnología de *microarray* con oligonucleótidos inicia una nueva etapa en el diagnóstico parasitario^{19,20}. Los *microarrays* combinan el poder de las estrategias de amplificación con la hibridación ulterior con oligonucleótidos específicos para múltiples secuencias diana de uno o varios protozoos parásitos. En este sentido, se debe citar el trabajo realizado por Wang et al²⁰ (2005), quienes por la metodología de *microarrays* consiguen simultáneamente detectar y diferenciar las especies patógenas humanas más importantes de *Entamoeba*, *Giardia* y *Cryptosporidium*.

Diagnóstico de helmintos intestinales

Los grupos de helmintos parásitos más importantes, con las características y las especies más relevantes, son: cestodos (planos y acintados, *Diphyllobotrium latum*, *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *T. saginata asiatica*, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, *Dipylidium caninum*); trematodos (planos y foliáceos, *Fasciolopsis buski*, *Echinostoma ilocanum*, *Heterophyes heterophyes*, *Metagonimus yokogawai*, *Gastrodiscoides hominis*); nematodos (redondos y alargados, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Capillaria philippinensis*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Trichostrongylus* spp., *Strongyloides stercoralis*, *Strongyloides fuelleborni*). Mientras que cestodos y nematodos presentan en general una distribución geográfica amplia, en el caso de los trematodos es más variada, algunos cosmopolitas y otros restringidos a regiones del Sudeste Asiático²¹, dato que orienta a la hora de dirigir el diagnóstico.

Los avances llevados a cabo en la detección de este amplio conjunto de parásitos intestinales no es uniforme, dependiendo de la especie, y, en general, las mejoras logradas, tanto en el diagnóstico inmunológico como molecular, no son tan significativas como en el caso de los protozoos revisados. Así, hay que destacar que muchos helmintos se siguen detectando básicamente mediante estudios coprológicos de muestras seriadas²¹, para asegurar, según las especies, el aislamiento de las formas de dispersión (huevos, larvas, e incluso adultos), y el análisis cuidadoso de su morfología característica. También, hay técnicas especiales que se adaptan a la biología de los helmintos (cinta de Graham, Baerman, cultivos)²¹. En relación con el diagnóstico inmunológico, la detección de coproantígenos se emplea principalmente en estudios epidemiológicos de teniasis (*T. so-*

Lectura rápida



Los parásitos intestinales, protozoos y helmintos, utilizan el intestino del hombre para su desarrollo. Son agentes infecciosos cosmopolitas, más frecuentes en áreas tropicales y subtropicales, que se presentan asociados (poliparasitaciones), ocasionan serios problemas de salud en las poblaciones afectadas, especialmente niños e individuos inmunocomprometidos, y se consideran marcadores de pobreza y escasa higiene.

Su diagnóstico tradicional se realiza por examen microscópico de heces del paciente, mediante el aislamiento y la identificación de las formas parasitarias que se eliminan. Estas determinaciones muestran pobre sensibilidad, sólo permiten el diagnóstico de la infección aguda y patente, exigen la toma de muestras seriadas, son muy laboriosas y requieren especialización del analista.

Los grupos de protozoos intestinales más importantes, con las especies relevantes, son: amebas (*Entamoeba histolytica*), *Blastocystis hominis*, flagelados (*Giardia lamblia*), ciliados (*Balantidium coli*), coccidios (*Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayatanensis*, *Isopora belli*, *Sarcocystis* spp.) y microsporidios.

Los avances realizados en el diagnóstico de protozoos intestinales son variables, y son significativos en el caso de las especies más sobresalientes, como *E. histolytica*, *G. lamblia* y *Cryptosporidium* spp. Globalmente, se han realizado mejoras tanto en el diagnóstico inmunológico como molecular.



Lectura rápida



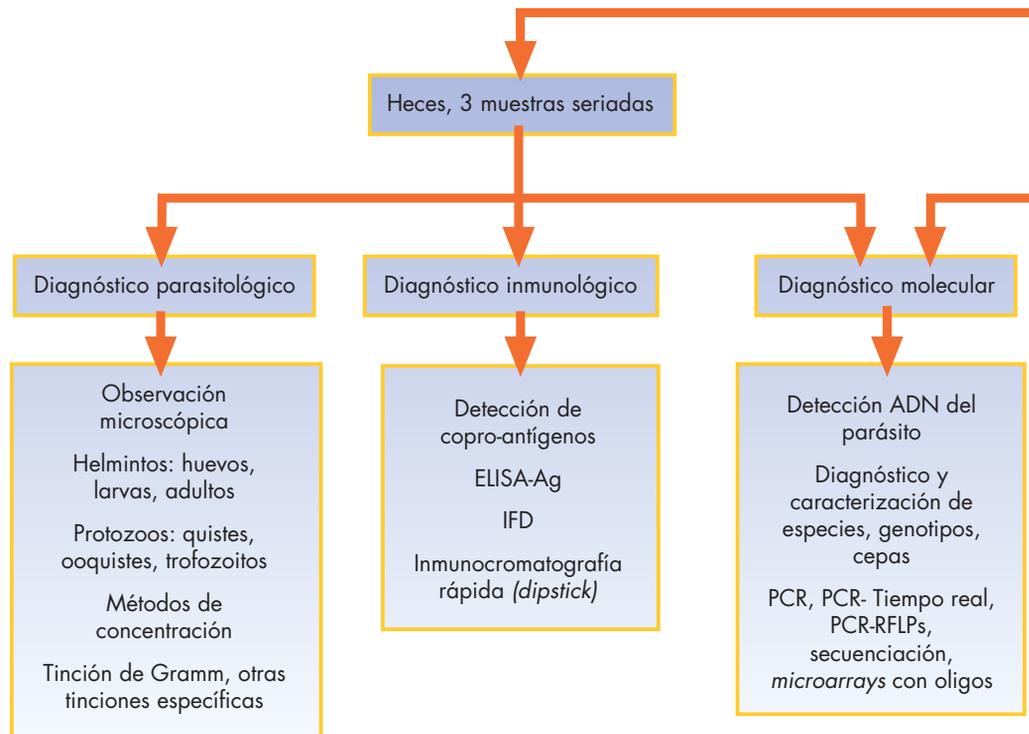
En el diagnóstico inmunológico cabe citar la detección de coproantígenos, o aislamiento de antígenos parasitarios eliminados en heces utilizando anticuerpos específicos, monoclonales o sueros policlonales, que reconocen moléculas únicas de las especies estudiadas.

En el campo de la biología molecular, gracias a la caracterización del genoma de estos protozoos, se han diseñado diferentes protocolos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), PCR múltiple, PCR-RFLP (polimorfismo del tamaño de fragmentos de restricción) y PCR en tiempo real, prácticamente para cada uno de los protozoos de interés en salud pública, bien para su diagnóstico en pacientes o para su identificación a nivel de especie, genotipo o cepa según los casos, incluso para la detección conjunta de *E. histolytica*, *G. lamblia* y *Cryptosporidium* spp.

Los grupos de helmintos parásitos más importantes, con las características y las especies más relevantes, son: cestodos (planos y acintados) trematodos (planos y foliáceos), y nematodos (redondos y alargados). Mientras que los cestodos y los nematodos presentan en general una distribución geográfica amplia, en el caso de los trematodos es más variada, algunos cosmopolitas y otros restringidos a regiones del Sudeste Asiático, dato que orienta a la hora de dirigir el diagnóstico.

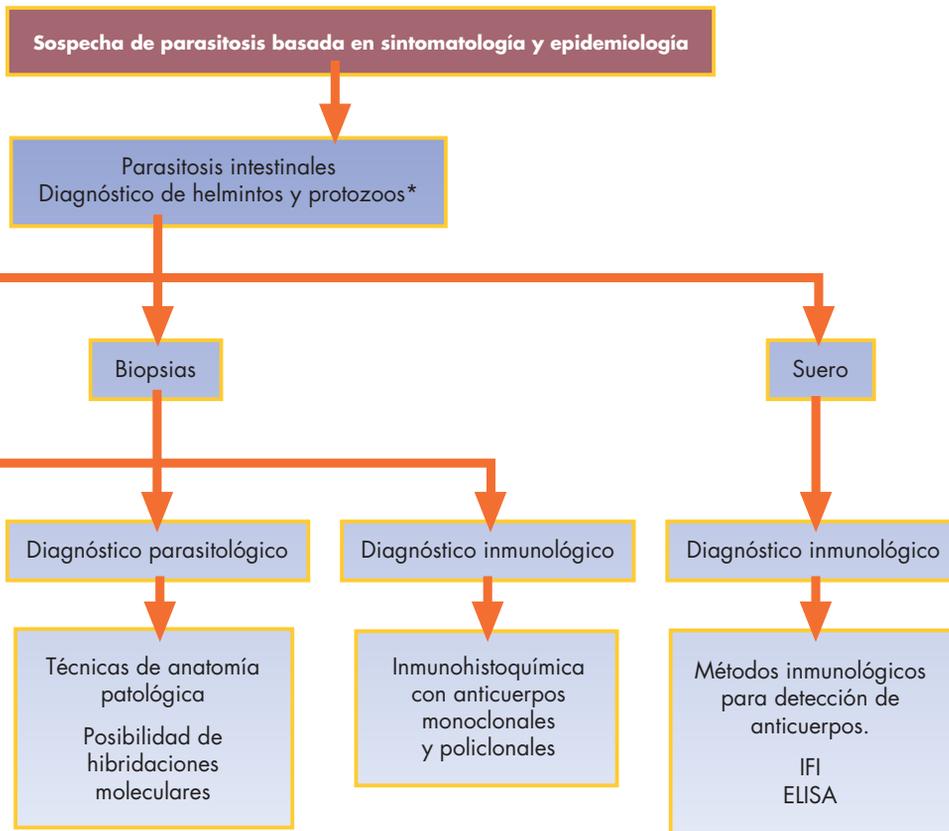


Figura 1. Esquema general del diagnóstico de parasitosis intestinales. ADN: ácido desoxirribonucleico; ELISA-Ag: enzimoimmunoanálisis de captura de antígeno; IFD: inmunofluorescencia directa; IFI: inmunofluorescencia indirecta; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; RFLP: polimorfismo del tamaño de fragmentos de restricción. *Heces frescas o congeladas para el diagnóstico de algunas especies.



lium y *T. saginata*)²², ensayos caracterizados por su sensibilidad y por permitir la detección de estados prepatentes de la parasitosis y el seguimiento del tratamiento en los pacientes, aunque muestran una especificidad pobre al no distinguir entre los 2 grandes ténidos del hombre. Para el resto de helmintos intestinales no hay la opción del diagnóstico por coproantígenos, aunque en el caso de los equinostómidos^{23,24} y ancilostómidos²⁵ ya se ha descrito su desarrollo y aplicación a modelos experimentales y se espera que pronto se utilicen para el diagnóstico humano de los parásitos citados. En cuanto a los ensayos serológicos mediante detección de anticuerpos específicos en pacientes, el nivel de desarrollo de las pruebas es muy variable, siendo poco frecuente la disponibilidad de sistemas y, si existen, generalmente no están suficientemente contrastados para su empleo en el diagnóstico rutinario de helmintiasis humanas. De todas las opciones, merecen destacar las descritas en teniasis y estrombiloidiasis. En 1999, Wilkins et al²⁶ pusieron a punto un *immunoblot* con productos de excreción/secreción de adultos de *T. solium*, que presentó excelente especificidad y sensibilidad (E/S) en la

detección de teniasis, aunque después no se haya utilizado; el mismo grupo de investigación²⁷ clonó, años después, alguno de los productos E/S empleados. En relación con estrombiloidiasis, cabe mencionar las mejoras que se han realizado últimamente, con ensayos serológicos ELISA y *dipstick* para detectar inmunoglobulinas G específicas, con rango de sensibilidad entre el 83 y el 93% y especificidad del 95-97%²⁸. Con respecto a la evaluación de antigenemia para el diagnóstico de helmintiasis intestinales que, como ya se ha adelantado, se trata de un ensayo con el potencial de poner de manifiesto infecciones presentes, sigue sin producirse avances destacables, aunque se espera un cambio radical en el futuro. La biología molecular ha tenido un impacto positivo en la identificación de los helmintos intestinales y, de manera especial, los métodos relacionados con la amplificación del ADN genómico en los diferentes protocolos de PCR ya indicados. Si bien los ensayos desarrollados no se han transferido todavía a los laboratorios de microbiología de los hospitales, se emplean, por ejemplo, en estudios epidemiológicos de cestodos ténidos^{29,30}, utilizando como secuencia diana secuencias ribo-



somales³¹, repetidas^{29,30} o mitocondriales³². En este tratamiento diagnóstico también destaca, entre otros, los trabajos desarrollados para: a) distinción de huevos de trematodos (*Fasciola hepatica* y *F. gigantica*) mediante análisis de sus ADN utilizando PCR-RFLP³³; b) estudios epidemiológicos sobre ascariasis empleando AFLP (polimorfismo de tamaños de fragmentos amplificados) y PCR-RFLP³⁴, o PCR en tiempo real³⁵, y c) diagnóstico diferencial de huevos de *Ancylostoma* y *Necator*^{36,37}. Para terminar, hay que mencionar que los parásitos, cuyo diagnóstico acabamos de revisar y que se resume en el esquema incluido, desarrollan efectos múltiples en el tracto gastrointestinal de individuos inmunocomprometidos. Así, muchos de los protozoos mencionados son agentes causales de importantes diarreas en pacientes inmunodeprimidos y los helmintos están siendo centro de diversos estudios inmunológicos para tratar de descifrar las complejas interacciones entre estas especies y el virus de la inmunodeficiencia humana, o para determinar el posible empleo de tratamiento con helmintos en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, como la enfermedad de Crohn³⁸.

Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

- Petri WA, Singh U. Diagnosis and management of amebiasis. *Clin Infect Dis*. 1999;29:1117-25.
- Weir C, Vesey G, Slade M, Ferrari B, Veal DA, Williams K. An immunoglobulin G1 monoclonal antibody highly specific to the wall of *Cryptosporidium* oocysts. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000;7:745-50.
- García LS, Shimizu RY. Evaluation of nine kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. *J Clin Microbiol*. 1997;35:1526-9.
- García LS, Shimizu RY, Bernard CN. Detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens using the triage parasite panel enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol*. 2000;38:3337-40.
- Tanyuksel M, Petri WA. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:713-29.
- Sharp SE, Suarez CA, Duran Y, Poppitti RJ. Evaluation of the triage micro parasite panel for detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, and *Cryptosporidium parvum* in patient stool specimens. *J Clin Microbiol*. 2001;39:332-4.
- Leo M, Haque R, Kabir M, Roy S, Lahlou RM, Mondal D, et al. Evaluation of *Entamoeba histolytica* antigen and antibody point-of-care tests for the rapid diagnosis of amebiasis. *J Clin Microbiol*. 2006;44:4569-71.
- García LS, García JP. Detection of *Giardia lamblia* antigens in human fecal specimens by a solid-phase qualitative immunochromatographic assay. *J Clin Microbiol*. 2006;44:4587-8.

Lectura rápida



Los avances llevados a cabo en la detección de helmintos intestinales no son uniformes. Así, hay que destacar que muchos helmintos se siguen detectando básicamente mediante estudios coprológicos de muestras seriadas, para asegurar, según las especies, el aislamiento de las formas de dispersión, y el análisis cuidadoso de su morfología característica. También, hay técnicas especiales que se adaptan a la biología de los helmintos.

La detección de coproantígenos en helmintiasis se emplea principalmente en estudios epidemiológicos de teniasis (*T. solium* y *T. saginata*). Para el resto de helmintos intestinales no hay la opción del diagnóstico por coproantígeno, aunque en el caso de los equinostómidos y ancilostómidos ya se ha descrito su desarrollo y aplicación a modelos experimentales.

Los ensayos serológicos en el diagnóstico de helmintiasis, mediante la detección de anticuerpos específicos en pacientes, presentan un nivel de desarrollo escaso. De todas las opciones reportadas, merecen destacar las descritas en teniasis y estrogiloidiasis.

La biología molecular ha tenido un impacto positivo en la identificación de los helmintos intestinales y, de manera especial, los métodos relacionados con la amplificación del ácido desoxirribonucleico genómico.



Bibliografía recomendada

Sandhu SK, Priest JW, Lammie PJ, Hubbard A, Colford JM, Eisenberg JMS. The natural history of antibody responses to *Cryptosporidium* parasites in men at high risk of HIV infection. *J Infect Dis.* 2006;19:1428-37.

Los autores realizan un estudio retrospectivo de criptosporidiasis en una población de individuos portadores del virus de la inmunodeficiencia humana, seguidos clínicamente en los últimos 8,5 años. Encuentran que la criptosporidiasis se detecta más frecuentemente a través de la determinación de anticuerpos, específicos por los antígenos r27 y 17-kDa, que por el seguimiento clínico habitual de los pacientes.

Haque R, Roy S, Siddique A, Mondal U, Rahman SM, Mondal D, et al. Multiple real-time PCR assay for detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, and *Cryptosporidium* spp. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;76:713-7.

Los autores describen la detección conjunta de las especies de protozoos más importantes utilizando una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. El interés del trabajo radica en la novedad de la técnica, que permite el seguimiento de la formación del amplicón a medida que avanza la reacción, y en la posibilidad del diagnóstico conjunto y específico de la especie de las 3 protozoosis que cursan con clínica similar.

Van Doorn HR, Koelewijn R, Hofwegen H, Gilis H, Wetsteyn JCFM, Wismans PJ, et al. Use of enzyme-linked immunosorbent assay and dipstick assay for detection of *Strongyloides stercoralis* infection in humans. *J Clin Microbiol.* 2007;45:438-42.

Los autores desarrollan un ELISA home made y un dipstick con antígenos del estrombilido humano, y lo ensayan con una colección de sueros de pacientes con estrombiloidiasis confirmada, así como una colección de sueros de pacientes con diferente tipo de infecciones, sueros de pacientes con procesos autoinmunitarios y suero de individuos sanos. También emplea como controles otros ensayos serológicos comerciales. Como conclusión indican que las pruebas diagnósticas empleadas son adecuadas para la detección específica y sensible de estrombiloidiasis intestinal y cutánea.

9. Hanson KL, Cartwright CP. Use of an enzyme immunoassay does not eliminate the need to analyze multiple stool specimens for sensitive detection of *Giardia lamblia*. *J Clin Microbiol.* 2001;39:474-7.
10. Zengzhu G, Bracha R, Nuchamowitz Y, Cheng-I W, Mirelman D. Analysis by enzyme-linked immunosorbent assay and PCR of human liver abscess aspirates from patients in China for *Entamoeba histolytica*. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3034-6.
11. ●● Sandhu SK, Priest JW, Lammie PJ, Hubbard A, Colford JM, Eisenberg JMS. The natural history of antibody responses to *Cryptosporidium* parasites in men at high risk of HIV infection. *J Infect Dis.* 2006;19:1428-37.
12. Faubert G. Immune response to *Giardia duodenalis*. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:35-54.
13. Paul J, Srivastava S, Bhattacharya S. Molecular methods for diagnosis of *Entamoeba histolytica*. *Exp Parasitol.* 2007;116:35-43.
14. Velásquez JN, Carnevale S, Guarnera EA, Labbé JH, Chertcoff A, Cabrera MG, et al. Detection of the microsporidian parasite *Enterocytozoon bienersi* in specimens from patients with AIDS by PCR. *J Clin Microbiol.* 1996;34:3230-2.
15. Carnevale S, Velásquez JN, Labbé JH, Chertcoff A, Cabrera MG, Rodríguez MI. Diagnosis of *Enterocytozoon bienersi* by PCR in stool samples eluted from filter paper disks. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000;7:504-6.
16. Sarfati C, Bougeois A, Menotti J, Liegeis F, Moyou-Somo R, Delaporte E, et al. Prevalence of intestinal parasites including microsporidia in human immunodeficiency virus-infected adults in Cameroon: A cross-sectional study. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74:162-4.
17. Tan TC, Suresh KG, Thong KL, Smith HV. PCR fingerprinting of *Blastocystis* isolated from symptomatic and asymptomatic human hosts. *Parasitol Res.* 2006;99:459-65.
18. ●● Haque R, Roy S, Siddique A, Mondal U, Rahman SM, Mondal D, et al. Multiple real-time PCR assay for detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, and *Cryptosporidium* spp. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;76:713-7.
19. ●● Wang Z, Vora GJ, Stenger DA. Detection and genotyping of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* by oligonucleotide microarray. *J Clin Microbiol.* 2004;42:3262-71.
20. Wang Z, Orlandi PA, Stenger DA. Simultaneous detection of four human pathogenic microsporidian species from clinical samples by oligonucleotide microarray. *J Clin Microbiol.* 2005;43:4121-8.
21. Garcia LS. *Diagnostic Medical Parasitology*. 4th ed. Washington, DC: ASM Press; 2001.
22. Allan JC, Craig PS. Coproantigen in taeniasis and echinococcosis. *Parasitol Int.* 2006;55 Suppl:S75-S80.
23. Toledo R, Espert AM, Muñoz-Antoli C, Marcilla A, Fried B, Esteban JG. Development of an antibody-based capture enzyme-linked immunosorbent assay for detecting *Echinostoma caproni* (Trematoda) in experimentally infected rats: kinetics of coproantigen excretion. *J Parasitol.* 2003;89:1227-31.
24. Toledo R, Espert AM, Muñoz-Antoli C, Marcilla A, Fried B, Esteban JG. Kinetics of *Echinostoma caproni* (*Trematoda: Echinostomatidae*) antigens in feces and serum of experimentally infected hamsters and rats. *J Parasitol.* 2004;90:752-8.
25. Bungiro RD, Cappello M. Detection of excretory/secretory coproantigens in experimental hookworm infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;73:915-20.
26. Wilkins PP, Allan JC, Verastegui M, Acosta M, Eason AG, Garcia HH, et al. Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* taeniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60:199-204.
27. Levine MZ, Calderon JC, Wilkins PP, Lane WS, Asara JM, Hancock K, et al. Characterization, cloning, and expression of two diagnostic antigens for *Taenia solium* tapeworm infection. *J Parasitol.* 2004;90:631-8.
28. ●● Van Doorn HR, Koelewijn R, Hofwegen H, Gilis H, Wetsteyn JCFM, Wismans PJ, et al. Use of enzyme-linked immunosorbent assay and dipstick assay for detection of *Strongyloides stercoralis* infection in humans. *J Clin Microbiol.* 2007;45:438-42.
29. Gonzalez 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.
30. Gonzalez LM, Montero E, Puente S, Lopez-Velez R, Hernandez 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.
31. Rodriguez-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-restriction fragment length polymorphism assay using a mitochondrial 12S rDNA fragment. *J Parasitol.* 2002;88:1007-11.
32. Trachsel D, Deplazes P, Mathis A. Identification of taeniid eggs in the faeces from carnivores based on multiplex PCR using targets in mitochondrial DNA. *Parasitology.* 2007;134:911-20.
33. Marcilla A, Bargues MD, Mas-Coma S. A PCR-RFLP assay for the distinction between *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*. *Mol Cell Probes.* 2002;16:327-33.
34. Nejsum P, Parker ED, Frydenberg J, Roepstorff A, Bøes J, Haque R, et al. Ascariasis is a zoonosis in Denmark. *J Clin Microbiol.* 2005;43:1142-8.
35. Pecson BM, Barrios JA, Johnson DR, Nelson KL. A real-time PCR for quantifying viable ascariid eggs using the first internally transcribed spacer region of ribosomal DNA. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72:7864-72.
36. De Gruijter JM, Van Lieshout L, Gasser RB, Verweij JJ, Brienen EA, Ziem JB, et al. Polymerase chain reaction-based differential diagnosis of *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus* infections in humans in northern Ghana. *Top Med Int Health.* 2005;10:574-80.
37. Verweij JJ, Pit DS, Van Lieshout L, Baeta SM, Dery GD, Gasser RB, et al. Determining the prevalence of *Oesophagostomum bifurcum* and *Necator americanus* infections using specific PCR amplification of DNA from faecal sample. *Trop Med Int Health.* 2001;6:726-31.
38. Lewthwaite P, Gill GV, Hart CA, Beeching NJ. Gastrointestinal parasites in the immunocompromised. *Curr Opin Infect Dis.* 2005;18:427-35.