



Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud Carrera de Medicina

**Año 2021
Trabajo Final de Carrera (Tesis)**

Diagnóstico serológico en hidatidosis: en búsqueda de un soporte antigénico estandarizado. Revisión sistemática y meta-análisis.

**Serological diagnosis in hydatidosis: Searching standardized antigenic support.
Systematic review and meta-analysis.**

Alumno:

Retamozo Ayelen Rocio.

*Ayelenroocio.Retamozo@alumnos.uai.edu.ar
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud
Universidad Abierta Interamericana*

Tutor:

Maglioco Andrea Florencia.

*andrea.maglioco@uai.edu.ar
Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud
Universidad Abierta Interamericana*

Diagnóstico serológico en hidatidosis: en búsqueda de un soporte antigénico estandarizado. Revisión sistemática y meta-análisis.

Serological diagnosis in hydatidosis: Searching standardized antigenic support. Systematic review and meta-analysis.

Autores: Retamozo Ayelen Rocío, Maglioco Andrea Florencia.

Resumen

Introducción: La hidatidosis es una zoonosis parasitaria mundialmente distribuida causada por el *Echinococcus granulosus*. En el hombre, el diagnóstico se basa en hallazgos clínicos, imágenes ecográficas y en segunda línea por la serología. El líquido hidatídico es la fuente de antígenos más utilizada en la serología, pero presenta alta variabilidad. Esta revisión analiza la utilidad diagnóstica de la serología para el diagnóstico de hidatidosis, en particular las técnicas de ELISA y Western Blot. **Material y métodos:** Revisión sistemática y meta-análisis de estudios con datos de validez diagnóstica. El diagnóstico de referencia fue la ecografía y/o la anatomopatología. Se garantizó la reproducibilidad en la selección y extracción de datos, se evaluó la calidad según la guía QUADAS-2 y se realizaron los análisis de resultados globales y SROC bajo un modelo de efectos aleatorios en MetaDisc1.4. **Resultados:** Se incluyeron 47 artículos publicados entre 1981 y 2019 con 2904 casos y 7252 controles. Se obtuvieron 38 artículos que utilizaron ELISA, 16 trabajos utilizaron Western Blot y 6 artículos presentaron ambas técnicas. Los trabajos presentaron alta heterogeneidad. Para ELISA se obtuvo $AUC=0,9400$ y $Q=0,8774$ y para Western Blot $AUC=0,9632$ y $Q=0,9092$ en SROC. **Conclusión:** ELISA y Western Blot presentan una buena utilidad diagnóstica.

Palabras Clave: *Echinococcus granulosus*; serología; humanos, diagnóstico de hidatidosis; quiste hidatídico

Abstract

Background: Hydatidosis is a worldwide distributed parasitic zoonosis caused by *Echinococcus granulosus*. In humans, the diagnosis is based on clinical findings, ultrasound images, and second-line serology. Hydatid fluid is the most widely used source of antigens in serology, but it shows high variability. This review analyzes the diagnostic accuracy of serology for the diagnosis of hydatidosis, particularly ELISA and Western Blot techniques.

Material and methods: Systematic review and meta-analysis of studies with data of diagnostic validity. The reference diagnosis was ultrasound and / or anatomopathology. The reproducibility in the studies selection and data extraction was guaranteed, the quality was evaluated according to the QUADAS-2 guide, global results and SROC were obtained under a random effects model in MetaDisc1.4. **Results:** Forty-seven articles published between 1981 and 2019 with 2904 cases and 7252 controls were included. Elisa was performed in 38 articles; Western Blot was performed in 16 articles and 6 articles included both techniques. The included articles presented high heterogeneity. The SROC parameters were $AUC = 0.9400$ and $Q = 0.8774$ for ELISA and $AUC = 0.9632$ and $Q = 0.9092$ for Western Blot. **Conclusion:** ELISA and Western Blot have good diagnostic utility.

Palabras Clave: *Echinococcus granulosus*; serology; human, diagnostic of hydatidosis; hydatid cysts

INTRODUCCIÓN

La hidatidosis o echinococcosis quística es una zoonosis parasitaria de distribución mundial (1) producida por el *Echinococcus granulosus*. Este parásito tiene un ciclo de vida complejo con distintos hospedadores. En el hospedador definitivo (perros domiciliarios y cánidos silvestres) se desarrolla en el intestino la forma adulta que libera los huevos al ambiente con la materia fecal (2). El hospedador intermediario (bovinos, ovinos, caprinos, cerdos y guanacos) se infecta al ingerir los huevos del parásito. El hospedador definitivo se infecta tras ingerir vísceras crudas del hospedador intermediario, cerrándose así el ciclo (3).

El hombre, hospedador accidental, adquiere la infección por la ingesta de agua o de alimentos contaminados con los huevos del parásito liberados por el hospedador definitivo, o por el contacto estrecho con perros parasitados. En el hospedador intermediario y en el hospedador accidental se desarrolla la fase larvaria (metacestode). En la fase larvaria, el parásito forma quistes constituidos por dos capas propias, la laminar acelular y la proliferativa, celular, de donde surgen por brotación embriones llamados protoescolices que se liberan al líquido hidatídico (4)(5). La capa externa, tercera capa, está formada por la reacción tisular del hospedero y es fibrosa avascular con o sin presencia de infiltración linfoplasmocitaria (6).

Se ha descrito el desarrollo de quistes hidatídicos en varias localizaciones, siendo tejido hepático (70%-80%) y pulmonar (20%-30%) las de mayor frecuencia (2).

El estudio molecular de ADN mitocondrial ha permitido distinguir 8 genotipos de *Echinococcus granulosus* (G1, G3-G8 y G10), el más frecuente en Argentina es el genotipo G1 asociado a la infección en ovejas, G5 asociado a bovinos y G6 asociado a camélidos y por último G7 asociado al ganado porcino(7).

Esta enfermedad afecta a 2-3 millones de personas en el mundo y produce costos en la salud pública y la industria ganadera (8). Las pérdidas económicas ocasionadas en salud pública se calcula para aquellos pacientes que necesitan tratamiento quirúrgico en 4605 dólares anuales por caso y 251 dólares para aquellos pacientes que no requieren cirugía (9).

En Argentina, la hidatidosis es una enfermedad de denuncia obligatoria tanto en animales como en humanos y esta zoonosis se encuentra distribuida en toda la extensión del país con alrededor de 500 casos anuales reportados en humanos (10).

El diagnóstico de hidatidosis se basa principalmente en hallazgos clínicos, epidemiológicos e imágenes y en segunda línea por las pruebas serológicas. El diagnóstico de certeza lo constituye la visualización directa por microscopía óptica de protoescolices o restos de su membrana.

El diagnóstico por imágenes comprende la ecografía, la resonancia magnética nuclear y la tomografía computada (11). Existen distintos autores que propusieron una estadificación clara ecográfica del quiste; la primera fue la clasificación de Gharbi (8) y más recientemente el grupo de trabajo informal de la OMS (11) ha establecido una nueva clasificación basándose en la de Gharbi.

La ecografía tiene alta sensibilidad en el hallazgo de quistes hepáticos (11) y permite su estadificación, determinando las pautas terapéuticas a seguir (la cirugía, el drenaje percutáneo y el uso de antiparasitarios) (1). Por ejemplo, los quistes con estadios CE1-CE3a, en hígado y pulmón, o los quistes pequeños y con paredes finas se deben tratar con antiparasitarios como el Albendazol (1). En algunos casos, estos estadios tempranos suelen no ser detectados por ecografía, las imágenes son confusas, o la consulta es tardía por lo que un diagnóstico serológico temprano permitiría ampliar las acciones preventivas, las conductas terapéuticas a seguir y reducir los costos asociados al tratamiento.

El diagnóstico serológico en hidatidosis involucra el reconocimiento de antígenos parasitarios por los anticuerpos del suero del paciente. Las pruebas más utilizadas actualmente son ELISA y Western blot, siendo el Western blot la técnica confirmatoria ante un resultado de ELISA positivo (13)

La fuente de antígenos más utilizada es el líquido hidatídico obtenido de los quistes de hospedadores intermediarios o antígenos derivados del mismo. Se destacan como componentes mayoritarios el antígeno B (AgB) y el antígeno 5 (Ag5). El AgB estaría involucrado en la modulación de la inmunidad del huésped (14) y su estructura varía según el genotipo del parásito (5); el Ag5 ha sido asociado al crecimiento del quiste por su alta concentración dentro del mismo (15). El líquido hidatídico es una fuente antigénica no estandarizada, ya que varía en su composición según el estadio y localización del quiste, las características del hospedador (5) y suele presentar baja especificidad.

En el campo de la serología de hidatidosis se evalúan constantemente nuevas opciones antigénicas con el fin de aumentar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico. El objetivo de este trabajo es analizar la utilidad diagnóstica de la serología, en particular las técnicas de ELISA y Western Blot, en el diagnóstico de la hidatidosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño

Revisión sistemática de la literatura con meta-análisis.

Protocolo de búsqueda y selección de trabajos científicos.

Para la búsqueda y selección de artículos se utilizaron las fuentes PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) y Google Scholar (<https://scholar.google.es/schhp?hl=es>) donde se extrajeron los artículos publicados al día 26/5/2020 a través de los booleanos AND y OR con las siguientes estrategias de búsqueda:

-("echinococcus granulosus" OR hydatidosis OR "cystic echinococcosis") AND (igG OR serology) para PubMed con la utilización del filtrado por especie: humanos y el idioma: inglés.

-("echinococcus granulosus" OR hidatidosis) AND (igG OR diagnóstico serológico) para Google Scholar con la utilización del filtrado por idioma español y se seleccionaron manualmente aquellos artículos que utilizaban sueros humanos.

Se incluyeron:

1. Estudios serológicos con las técnicas de ELISA y Western Blot.
2. Estudios serológicos que detecten IgG total.
3. Estudios realizados a pacientes con diagnóstico de hidatidosis confirmado por imagen ecográfica y/o anatomopatología.
4. Estudios que describan la localización del quiste y/o la estadificación del mismo y/o la edad del paciente; sin restricción de años de publicación.

Se excluyeron:

1. Estudios que no confirmen la presencia de la enfermedad mediante imagen ecográfica y/o anatomopatología.
2. Estudios en los que el total de los pacientes hayan sido tratados médica o quirúrgicamente previamente a la extracción de la muestra.
3. Estudios que no brinden datos que permitan obtener los valores de verdadero negativo, verdadero positivo, falso negativo y falso positivo.
4. Estudios que reporten menos de 10 pacientes.
5. Estudios que no se lean en su totalidad o que no sean en inglés o español.

Reproducibilidad en la selección de los estudios y recolección de los datos.

Los estudios fueron seleccionados y evaluados por dos revisores de manera independiente para garantizar la reproducibilidad de la selección de los trabajos y la recolección de los datos posteriores.

Evaluación de la calidad de los estudios.

Para valorar la calidad de los estudios incluidos se utilizó la guía QUADAS-2 (Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies) (16)

Obtención y análisis de la Información.

Se construyó una tabla 2x2 con los datos de verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos y falsos negativos reportados en cada uno de los trabajos.

Todos los análisis se realizaron bajo el modelo de efectos aleatorios en el software Meta-DiSc 1.4 (The meta-analysis of studies of evaluations of diagnostic and screening tests) (17) adicionando 0,5 a las celdas de estudios con cero. Se calcularon los valores de sensibilidad y especificidad de cada uno de los trabajos y sus intervalos de confianza del 95%. Se obtuvieron los valores de sensibilidad global y especificidad global para los métodos de serología analizados conjuntamente (Western blot y ELISA), para cada uno de los métodos serológicos analizados por separado y para las localizaciones de quiste más frecuente (hígado y pulmón). Se evaluó la heterogeneidad de los resultados de sensibilidad y especificidad mediante forest plot y los estadísticos Chi-square y la inconsistencia mediante I^2 .

La exactitud diagnóstica de los distintos métodos serológicos fue evaluada mediante el análisis del área bajo la curva (AUC) SROC (summary receiver operating characteristics) y el índice Q; por el método DerSimonian-Laird.

RESULTADOS

Selección de estudios

Se identificaron un total de 1.613 estudios y no se encontraron trabajos duplicados entre las bases utilizadas (PubMed y Google Scholar). Se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión para el filtrado manual según título y resumen de los 1613 trabajos y se excluyeron 1436 trabajos. Se revisaron 177 artículos completos de los cuales se excluyeron 130 trabajos que no lograron cumplir los criterios de inclusión y exclusión y se incluyeron en la revisión y en el meta-análisis un total de 47 artículos (Figura 1).

Descripción de estudios seleccionados

Los artículos incluidos en la revisión y meta-análisis fueron publicados entre los años 1981 y 2019 y evaluaron el diagnóstico serológico de la

hidatidosis a través de la detección de anticuerpos IgG utilizando distintas fuentes antigénicas. El total de los estudios incluyó 2904 pacientes con hidatidosis y 7252 muestras controles (pacientes sanos o con otras enfermedades asociadas a los órganos afectados por los quistes estudiados o con otras parasitosis).

En referencia a los antígenos utilizados para el análisis serológico se encontraron 28 trabajos que ensayaron líquido hidatídico o protoescolices, 9 trabajos que ensayaron antígenos purificados de líquido hidatídico, 10 trabajos que utilizaron productos comerciales y 10 trabajos que utilizaron distintos antígenos recombinantes o sintéticos. Se obtuvieron 38 artículos que utilizaron la técnica de ELISA, 16 trabajos que utilizaron la técnica de

Western Blot y 6 artículos en los que utilizaron ambas técnicas. La edad de los pacientes se evaluó en 13 estudios y la localización y estadificación del quiste en 20 y 10 estudios, respectivamente (Tabla 1).

Calidad de los trabajos seleccionados

Los estudios presentaron un nivel satisfactorio de calidad. Solo se halló, en referencia a la prueba índice, un trabajo calificado como riesgo incierto debido al uso de métodos antiguos para la determinación técnica del valor de corte (17) (Figura 2).

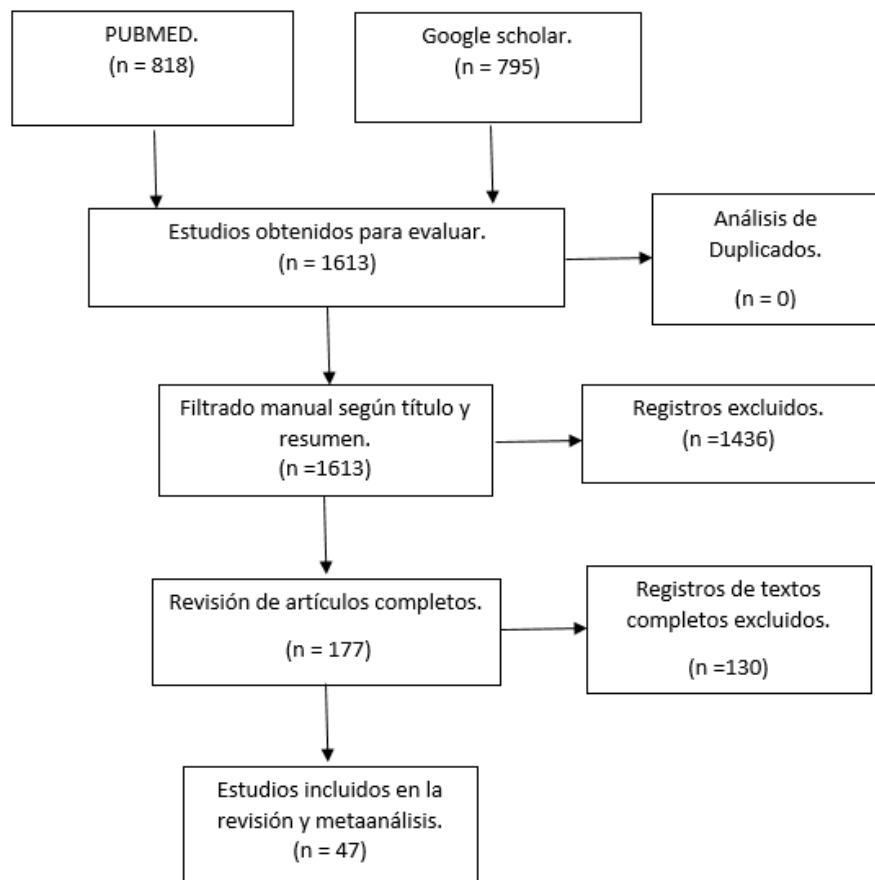


Figura 1. Diagrama de flujo de búsqueda y selección de artículos.

TRABAJOS CIENTIFICOS	TIPO DE ANTIGENO	METODO SEROLOGICO	EDAD	ESTADIFICACION	LOCALIZACION
Miranda E. et al. (2010) (18)	LH (caprino)	Western Blot	Registra	No registra	Registra
	LH ovino	Western Blot	Registra	No registra	Registra
Gomez C. et al. (2004) (19)	LH ovino 21/31KDa	Western Blot	No Registra	No registra	No Registra
	LH bovino 3KDa	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
	LH humano 38KDa	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
Hernández A. et al. (2018)(20)	LH ovino	ELISA	No registra	No registra	No Registra
	Ag.B2t	ELISA	No registra	No registra	No Registra
	Ag.2B2t	ELISA	No registra	No registra	No Registra
Tenguria R. et al. (2014)(21)	LH ovino	ELISA	Registra	No registra	No Registra
Han X. et al. (2019)(22)	rEgAgB1	ELISA	Registra	Registra	No Registra
	rEgAgB2	ELISA	Registra	Registra	No Registra
	rEgAgB3	ELISA	Registra	Registra	No Registra
	rEgAgB4	ELISA	Registra	Registra	No Registra
	rEgAgB5	ELISA	Registra	Registra	No Registra
Fathi S. et al. (2016)(23)	rEPC1	ELISA	No registra	No registra	No Registra
	ELISA Kit comercial (Pishtaz, Iran)	ELISA	No registra	No registra	No Registra
Rue M. et al (2010)(24)	LH ovino	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
Sadjjadi S. et al. (2009)(25)	Ag.B nativo	ELISA	No registra	No registra	No Registra
Sonmez G. et al. (2015)(26)	ELISA kit comercial (DRG,Alemania)	ELISA	Registra	No registra	No Registra
Vola A. et al. (2019)(27)	ELISA kit comercial (RIDASCREEN ,Alemania)	ELISA	No registra	Registra	No Registra
	Western blot (LDBIO)	Western Blot	No registra	Registra	No Registra
Park S. et al. (2015)(28)	LH	ELISA	Registra	No registra	No Registra
Hernández A. et al. (2008)(29)	LH ovino	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Ag.B2t	ELISA	No registra	No registra	Registra
	E14T	ELISA	No registra	No registra	Registra
	C317	ELISA	No registra	No registra	Registra
Chirag S. et al. (2015)(30)	LH ovino	ELISA	Registra	No registra	Registra
Savardashtaki A. et al. (2017)(31)	rEgAgB8/1	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Ag.B nativo	ELISA	No registra	No registra	Registra
	ELISA kit comercial (Euroimmune,Alemania)	ELISA	No registra	No registra	Registra
Jin Y. et al. (2013)(32)	LH ovino	ELISA	Registra	No registra	No Registra
Iraqi W. et al. (2016)(33)	LH ovino	Western Blot	No registra	No registra	No Registra

Reiterová K. et al. (2014)(34)	LH ovino	Western Blot	No registra	No registra	Registra
	Nativo Ag B	Western Blot	No registra	No registra	Registra
	Nativo Em 21	ELISA	No registra	No registra	Registra
	LH ovino	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Nativo Ag B	ELISA	No registra	No registra	Registra
Mamuti W. et al. (2002)(35)	LH ovino	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
	LH humano	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
	LH ratón	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
	LH ovino	ELISA	No registra	No registra	No Registra
	LH ratón	ELISA	No registra	No registra	No Registra
TRABAJOS CIENTIFICOS	TIPO DE ANTIGENO	METODO SEROLOGICO	EDAD	ESTADIFICACION	LOCALIZACION
Bauomi R. et al. (2014)(36)	IgANT PA 27,5 KDa	ELISA	No registra	No registra	Registra
El-SHAZLY A. et al. (2010)(37)	ELISA IgG (Bordier Affinity Products SA; Suiza)	ELISA	No registra	No registra	No Registra
Santivañez S. et al. (2012)(38)	P176	ELISA	Registra	No registra	Registra
Eris F. et al. (2009)(39)	LH	ELISA	No registra	No registra	Registra
	ELISA kit comercial (Vircell SL, España)	ELISA	No registra	No registra	Registra
Delunardo F. et al. (2009)(40)	Eg19	Western Blot	No registra	Registra	Registra
Barbieri M. et al. (1998)(41)	Nativo LH bovino	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Nativo Ag B	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Nativo Ag 5	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Nativo Ag 5 (PBS)	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Nativo Ag B-(PBS)	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Sintéticos 65PBS (BSA)	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Sintéticos GU4 (TFE)	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Sintéticos 89/122 (TFE)	ELISA	No registra	No registra	Registra
Shambesh M. et al. (1995)(42)	LH camello 100/130 Kda	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
	LH camello 8/16/ 24 Kda	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
	LH camello 38 Kda	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
Sadjjadi S. et al. (2007)(43)	LH oveja Ag B	ELISA	No registra	No registra	No Registra
Shapiro S. et al. (1992)(44)	LH BioMerieux 40 KDa	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
Zarzosa M. et al. (1999)(45)	LH (ovino)	ELISA	No registra	No registra	Registra
Wattal C. et al. (1986)(46)	LH (humano)	ELISA	No registra	No registra	Registra
	Ag Protoescolice (SSA)	ELISA	No registra	No registra	Registra
Verastegui M. et al. (1992)(47)	LH (bovino) 8 Kda	Western Blot	No registra	No registra	Registra
	LH (bovino) 16Kda	Western Blot	No registra	No registra	Registra
	LH bovino 21 Kda	Western Blot	No registra	No registra	Registra
	LH bovino	ELISA	No registra	No registra	Registra
Barbieri M. et al. (1993)(48)	Lipoproteína de LH de bovino	ELISA	No registra	No registra	Registra
Doiz O. et al. (2002)(49)	ELISA kits (IgG Vircell, España)	ELISA	Registra	No registra	Registra
Grimm F. et al. (1998)(50)	LH (bovino)	ELISA	No registra	No registra	No Registra

Gadea I. et al. (1999)(51)	LH (humano)	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
El-Ghareeb A. et al. (2016)(52)	ELISA-IgG (Abcam, EE.UU).	ELISA	Registra	No registra	No Registra
Moghadam Z. et al. (2013)(53)	rParamiocina	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
	Ag.protoescolices 60 KDa	Western Blot	No registra	No registra	No Registra
Tiaoying L. et al. (2010)(54)	rAgB	ELISA	No registra	Registra	No Registra
	rEm18	ELISA	No registra	Registra	No Registra
TRABAJOS CIENTIFICOS	TIPO DE ANTIGENO	METODO SEROLOGICO	EDAD	ESTADIFICACION	LOCALIZACION
Shweiki H. et al. (1992)(55)	Ag comercial para IEF-Diagnostico Pasteur-Francia	ELISA	Registra	No registra	Registra
Ayadi A. et al. (1995)(56)	LH (Humano) bandas 8/21/30/35/92Kda	Western Blot.	No registra	No registra	Registra
Poretti D. et al. (1999)(57)	LH	ELISA.	No registra	No registra	Registra
	LH- 8 Kda	Western Blot.	No registra	No registra	Registra
	LH- 8/29/34 Kda	Western Blot	No registra	No registra	Registra
Liance M. et al. (2000)(58)	Ag <i>E. Granulosus</i>	ELISA	No registra	No registra	Registra
Barbieri M. et al. (1994)(59)	HBLF	ELISA	No registra	No registra	Registra
Tawfeek G. et al. (2011)(60)	Nativo Ag B	ELISA	No registra	No registra	No Registra
	LH (ovino)	ELISA	No registra	No registra	No Registra
	Ag B 12Kda	ELISA	No registra	No registra	No Registra
Manterola C. et al. (2003)(61)	LH (ovino)	ELISA	Registra	No registra	Registra
	LH (ovino)	ELISA	Registra	No registra	Registra
Guisantes J. et. al. (1981)(18)	LH (ovino)	ELISA	No registra	No registra	Registra
Amilcar A. et al. (2006)(62)	LH (ovino)	ELISA	No registra	No registra	No Registra
Manterola C. et al. (2005)(63)	LH (ovino)	ELISA	Registra	No registra	Registra
	LH (ovino)	Western Blot	Registra	No registra	Registra

Tabla 1: Descripción de los estudios incluidos en la revisión y meta-análisis. Abreviaturas: LH: líquido hidatídico, se aclara origen entre paréntesis; Ag: antígeno; PBS: solución tampón fosfato; BSA: cero albumina bobina; TFE: trifluoroetanol; IEF: Inmunoelectroforesis.

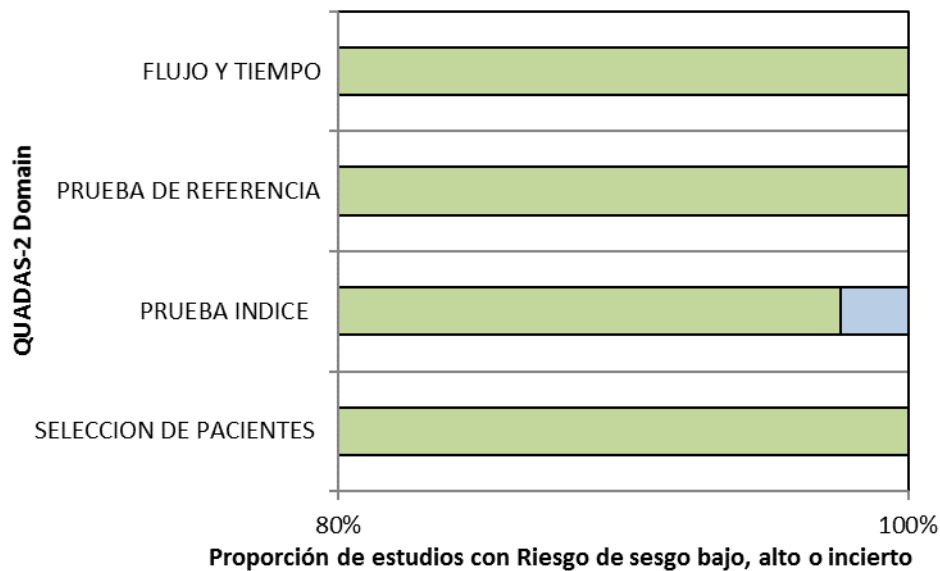


Figura 2. Proporción de estudios que cumplen con los criterios QUADAS-2. Se representa en azul el riesgo incierto, en verde bajo riesgo y en rojo el alto riesgo de sesgo.

Meta-análisis

Al analizar el total de los estudios incluidos se observó una sensibilidad global de 74% (IC95% 73 -75) y un valor de I^2 del 94.9%. Se observaron 8 trabajos por debajo del valor de la sensibilidad global y 28 trabajos por encima del mismo. Los menores valores de sensibilidad reportados fueron Delunardo F. et al. (41) y Barbieri M. et al. (42) con una sensibilidad del 10% (IC95% 5-18) y del 16% (IC95% 9-25), respectivamente. Los mayores valores de sensibilidad reportados fueron Ayadi A. et al. (57) y Guisantes J. et al. (18) con una sensibilidad del 98% (IC95% 93-100) y 99% (IC95% 93-100), respectivamente y Wattal C. et al. (47) con una sensibilidad del 100% (IC95% 92-100) en los dos soporte antigénicos que ensayo (Figura 3). Cuando se analiza la especificidad global se observó un valor de 88% (IC 95% 87-88) y un valor de I^2 del 97.2%. Se encuentran 11 trabajos por debajo del valor de especificidad global y 24 trabajos por encima de dicho valor. El menor valor de especificidad se vio reflejado en Liance M. et al. (59) con una especificidad del 8% (IC95% 3-18), Tiaoying L. et al. (55) con una especificidad del 13% (IC95% 8-19) utilizando antígeno rEm18 y una especificidad del 15% (IC95% 10-21) utilizando antígeno rAgB. El mayor valor de especificidad se encontró en Vola A. et al. (28) con un 100% de especificidad (IC95% 99-100) utilizando Western Blot comercial y 99% (IC95% 97-100) utilizando ELISA comercial. (Figura 4.)

Para un análisis mas detallado se analizaron los resultados de ELISA y Western Blot por separado.

Se obtuvo para el ELISA una sensibilidad global del 73% (IC95% 71-74) y un I^2 del 95.1%, solo 5 trabajos resultaron por debajo de este valor de sensibilidad y 27 trabajos por encima del mismo. El trabajo que tiene el menor valor de sensibilidad es Barbieri M. et al. (42) con una sensibilidad del 16% (IC95% 9-25) para el antígeno sintético 89/122 y una sensibilidad del 18% (IC95% 11-27) para el antígeno sintético GU4 mientras que Guisantes J. et al.(18) registró la mayor sensibilidad (100%, IC95% 93-100) (Figura 5). La especificidad global resultó en un 86% (IC95% 85-87) y un I^2 de 97.7%. Se encontraron 7 trabajos por debajo del valor de especificidad combinada y 15 trabajos por encima del mismo. Entre los trabajos con valor más bajo de especificidad se encontraron nuevamente Liance M. et al. (59) con una especificidad del 8% (IC95% 3-18), Tiaoying L. et al. (55) con una especificidad del 13% (IC95% 8-19) y 16% (IC95% 10-21) para cada antígeno utilizado. Luego para el valor más alto de especificidad se encontró a Wattal C. et al. (47) con un valor de especificidad del 100% (IC95% 98-100) y Barbieri M. et al. (42) con una especificidad del 100% (IC95% 97-100) (Figura 6).

En el análisis del método serológico Western Blot se observó una sensibilidad global del 77% (IC95% 75-79) y un I^2 de 94.6% con un total de 4 trabajos bajo el valor de sensibilidad global y un total de 6 trabajos sobre dicho valor. El menor valor de sensibilidad se encontró en Delunardo F. et al. (41) y en Moghadam Z. et al. (54) con una sensibilidad del 10% (IC95% 5-18) y 33% (IC95% 17-53), respectivamente (Figura 7). Se observó una especificidad global de 93% (IC95% 92-94) y un I^2 de 93.8%. Se encontraron 5 trabajos debajo del valor de especificidad global y 5 trabajos por encima de dicho valor. Los trabajos con menor especificidad reportados fueron

Shapiro S. et al. (45) y Reiterova K. et al. (35) con un 25% (IC95% 10-47) y 50% (IC95% 7-93) de especificidad, respectivamente. El trabajo con mayor especificidad fue Vola A. et al. (28) con una especificidad del 100% (IC95% 99-100) **(Figura 8)**

El área bajo la curva (AUC) de la curva SROC para el método de ELISA fue de 0,9400 y el índice Q* de 0,8774 **(Figura 9)**. Para el método de Western Blot se obtuvo un AUC de 0,9632 y un índice Q* de 0,9092 **(Figura 10)**.

Se agruparon los estudios por localización del quiste y se analizaron los datos de las localizaciones quísticas más frecuentes: hígado y pulmón. Se estudiaron 5 trabajos con localización pulmonar, 6 trabajos estudiaron localización hepática y 3 trabajos estudiaron ambas localizaciones. En el caso de la localización hepática, se encontró una sensibilidad global del 73% (IC95% 68-77) con I^2 del 96.2%. De los 6 trabajos analizados, Delunardo F. et al. (41) con una sensibilidad del 3% (IC95% 0-9) se halló por debajo del valor de sensibilidad global y Guisantes J. et al. (18) con una

sensibilidad del 100% (IC95% 91-100) y Wattal C et al. (47) con una sensibilidad del 100% (IC95% 84-100) con ambos antígenos utilizados se encontraron por encima del valor de sensibilidad global **(Figura 11)**. La especificidad global fue de 96% (IC95% 94-97) y se encontró en Verastegui M et al.(48) una especificidad de 79% (IC95% 67-89) en Wattal C. et al (47) con 100% (IC95% 98-100) **(Figura 12)**.

El análisis de la serología para la localización quística en pulmón dio como resultado una sensibilidad global del 73% (IC95% 67-78) y un I^2 del 87.5%. Verastegui M. et al. (48) registro los valores de menor sensibilidad 44% (IC95% 26-62) y 47 % (IC95% 29-65) al analizar la antigenicidad de las bandas de 21 KDa y 16 KDa, respectivamente.

Wattal C. et al. (47) registro nuevamente el valor más alto de sensibilidad, 100% (IC95% 85-100), para los dos antígenos utilizados **(Figura 13)**. La especificidad global fue de 97% (IC95% 96-98), siendo Verastegui M. et al. (49) el trabajo con menor especificidad (79%, IC95% 67-89), no registrándose ningún trabajo por encima del valor de especificidad global **(Figura 14)**.

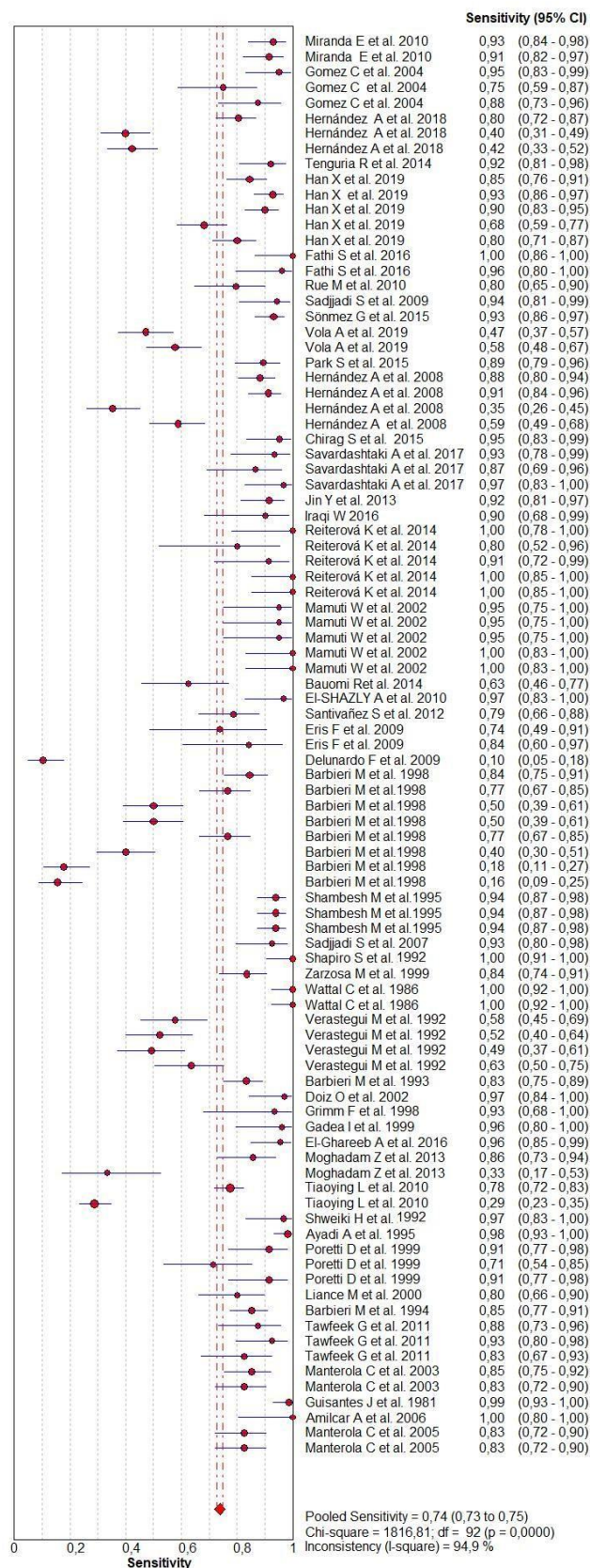


Figura 3. Forest plot de sensibilidad de todos los estudios incluidos.

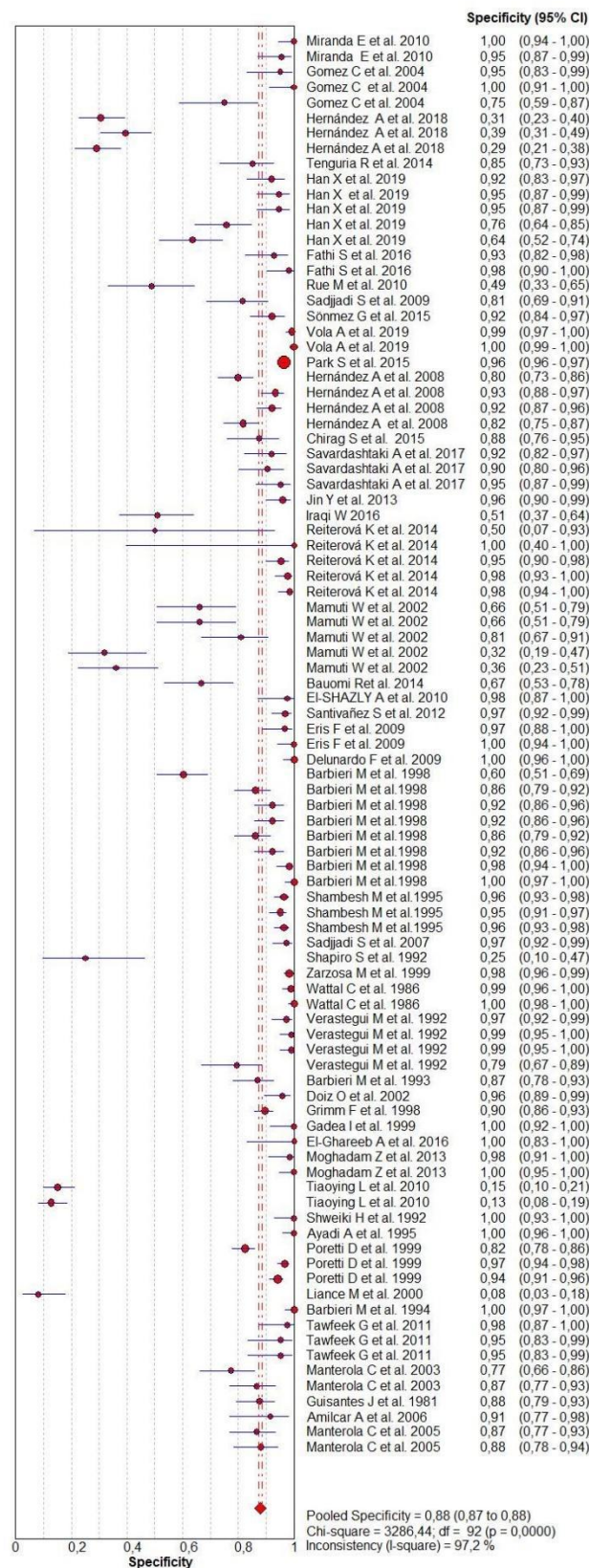


Figura 4. Forest plot de especificidad de todos los estudios incluidos.

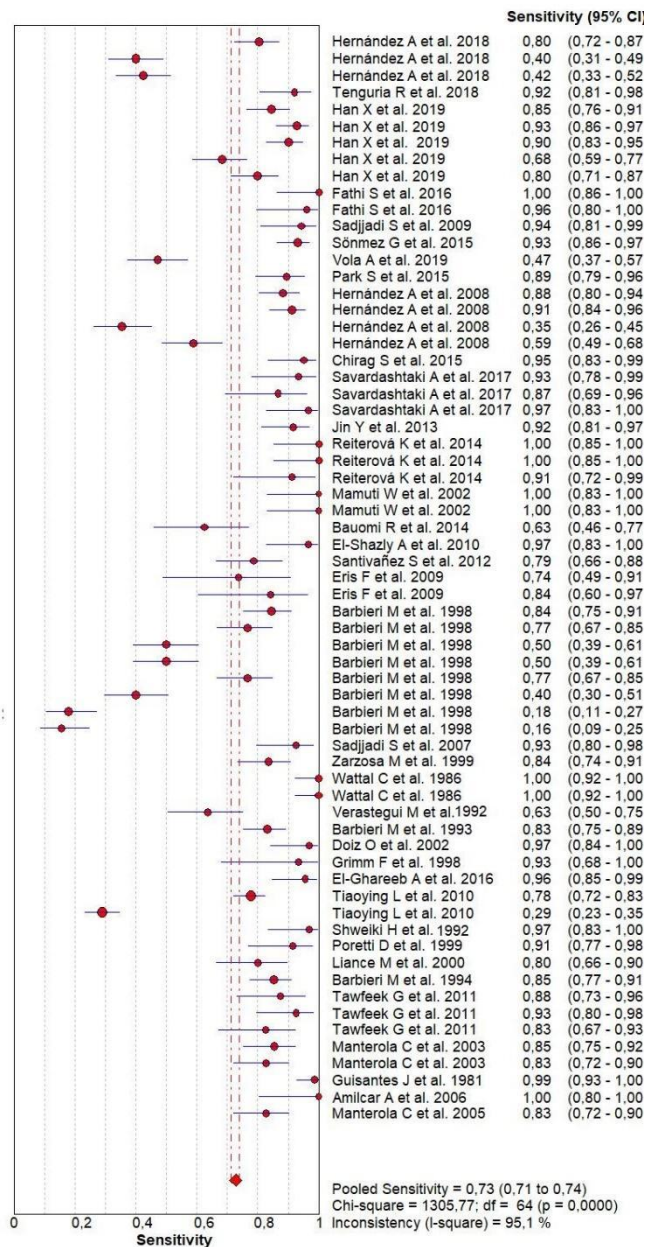


Figura 5. Forest plot de sensibilidad para los estudios que utilizaron ELISA.

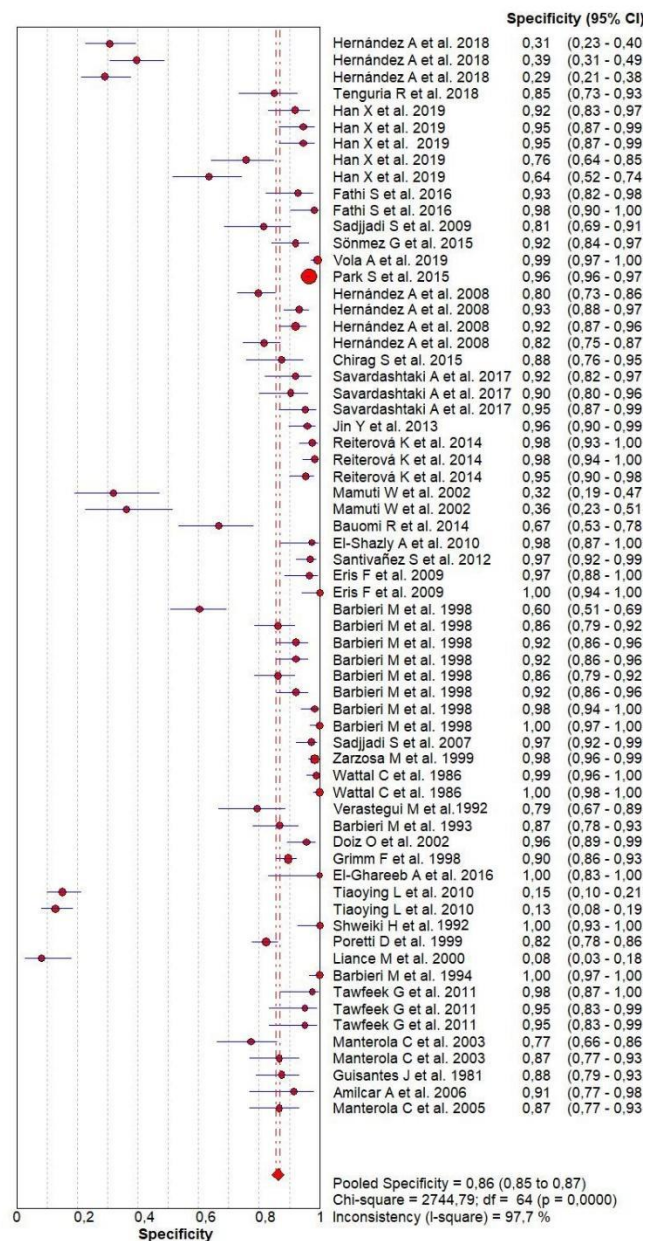


Figura 6. Forest plot de especificidad para los estudios que utilizaron ELISA.

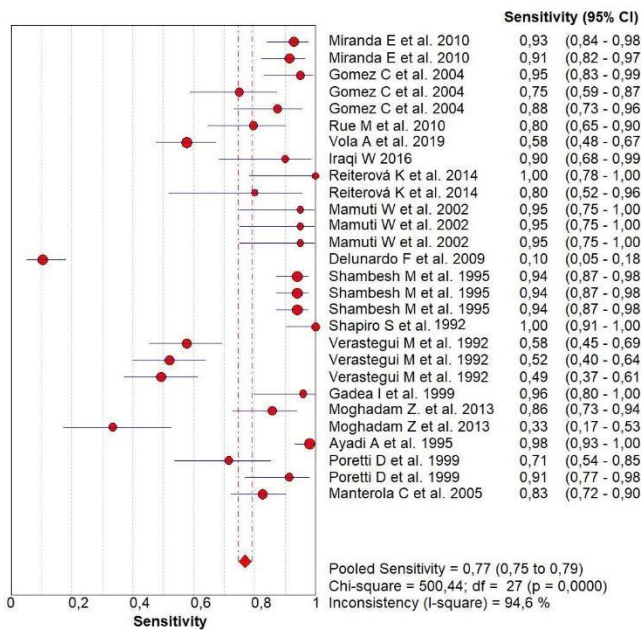


Figura 7. Forest plot de Sensibilidad para los estudios que utilizaron Western Blot.

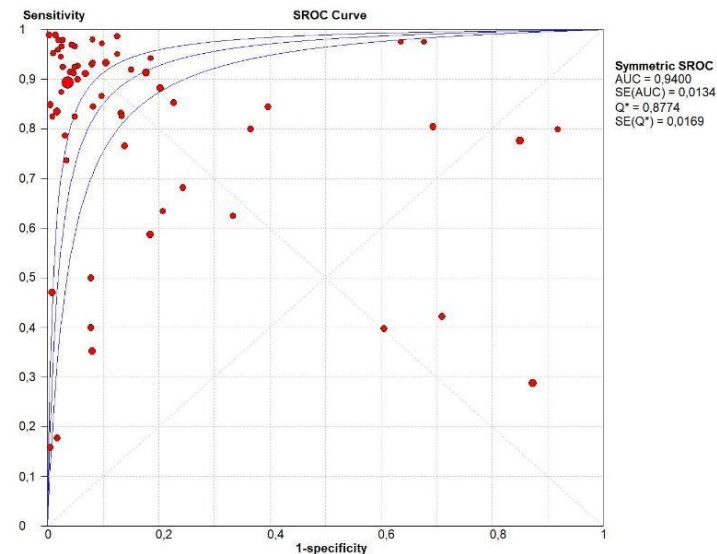


Figura 9. SROC (Summary receiver operating characteristics) para los estudios que utilizaron ELISA.

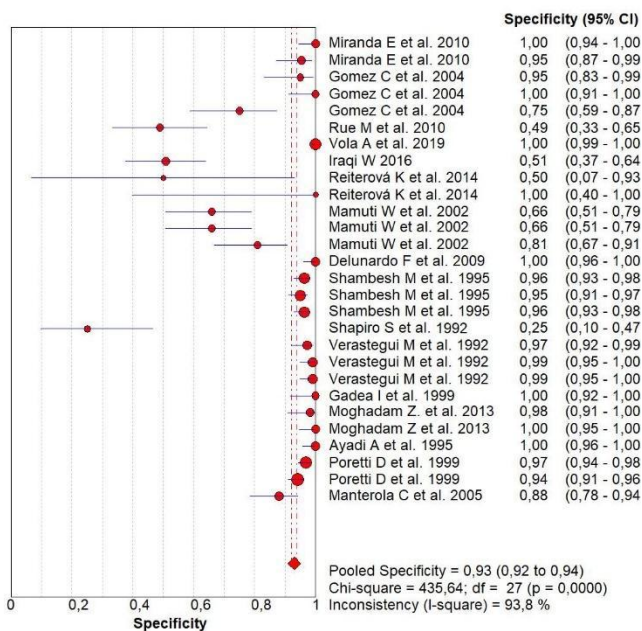


Figura 8. Forest plot de especificidad para los estudios que utilizaron Western Blot.

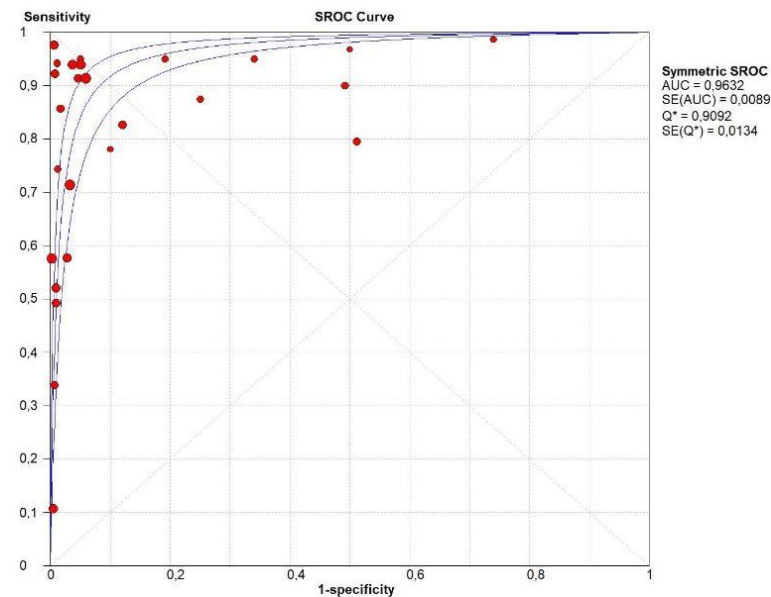


Figura 10. SROC (Summary receiver operating characteristics) para que utilizaron Western Blot.

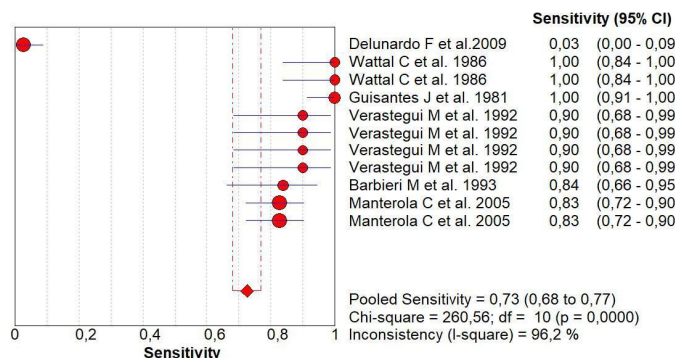


Figura 11. Forest plot de sensibilidad de los trabajos que analizaron localización quística en Hígado.

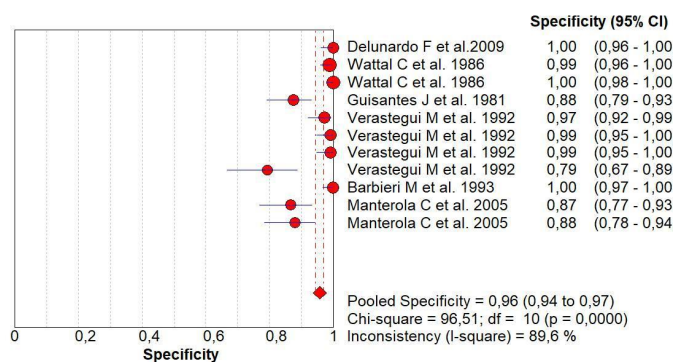


Figura 12. Forest plots de especificidad para los trabajos que analizaron localización quística en Hígado.

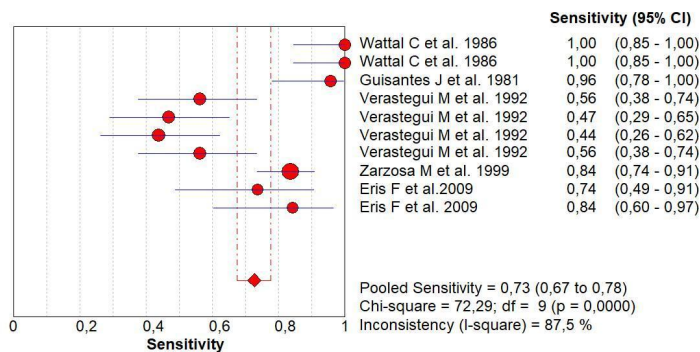


Figura 13. Forest plot de sensibilidad para los trabajos que analizaron localización quística en Pulmón.

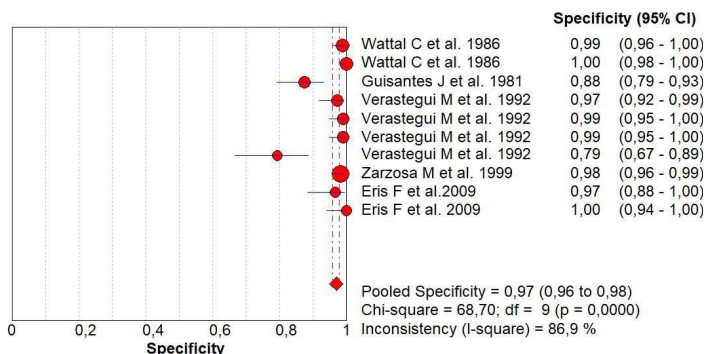


Figura 14. Forest plot de especificidad para los trabajos que analizaron localización quística en Pulmón.

DISCUSIÓN

En esta revisión sobre los métodos serológicos más utilizados actualmente para el diagnóstico de hidatidosis, ELISA y Western Blot, se incluyeron trabajos en los que se ensayó líquido hidatídico, antígenos purificados de material parasitario, antígenos recombinantes, antígenos sintéticos y kits de detección comerciales. La alta heterogeneidad observada en los estudios incluidos dificulta un análisis concluyente de los parámetros de sensibilidad y especificidad globales.

Las curvas SROC para cada uno de los métodos, ELISA y Western Blot, mostraron un buen rendimiento diagnóstico y exactitud en ambos métodos aun cuando los distintos estudios incluyeron utilizaron distintos antígenos.

Los trabajos que presentaron menor sensibilidad en el método ELISA utilizaron antígenos sintéticos, antígenos recombinantes o de *Echinococcus multilocularis*. Barbieri M. et al. (42) utilizó antígenos sintéticos derivados de Ag.B (GU4-TFE) y Ag.5 (89/22-TFE); Hernández A. (30) utilizó los antígenos recombinantes E14T y C317 que son antígenos de origen somático y los autores postularon que aquellos antígenos que no están en contacto directo con el huésped no serían útiles para el serodiagnóstico. Por otro lado, Tiaoying L. et al. (55) evaluó el antígeno rEm18 para el género *Equinococcus* y observó, en particular, para la detección de pacientes con *Echinococcus granulosus* una sensibilidad de 28.9%.

Los trabajos que presentaron mayor sensibilidad en el método de ELISA utilizaron líquido hidatídico y protoescolices como soporte antigénico o kits comerciales. Wattal C. et al. (47) utilizó antígenos de líquido hidatídico y protoescolices, ambos obtenidos de quistes humanos. Estas preparaciones antigénicas fueron detectadas por solo dos muestras de controles para el antígeno de líquido humano y por ningún control para el antígeno derivado de protoescolices. Guisantes J. et al. (18) también utilizando antígeno de líquido hidatídico, pero de origen bovino obtuvo una sensibilidad de 99% y una especificidad de 88% observándose un 20.8 % de reacciones cruzadas con *Taenia saginata* y *Fasciola hepática*. Los estudios que ensayaron antígenos comerciales mostraron una sensibilidad de 84% - 100%, a excepción del trabajo de Vola A. et al. (28) que reflejó una sensibilidad del 47%.

Los trabajos que presentaron menor sensibilidad en Western Blot analizaron un solo antígeno. Delunardo F. et al. (41) utilizó el antígeno recombinante Eg19 y Moghadam Z. et al. (54) la banda de 60 kDa detectada en extractos de protoescolices de ovino; en ambos trabajos no se detectaron falsos positivos. Si bien los valores de sensibilidad reportados fueron bajos, el antígeno Eg19 fue propuesto por los autores como un buen marcador diagnóstico de actividad parasitaria.

Los trabajos que presentaron sensibilidades más altas en Western Blot utilizaron líquido hidatídico y analizaron la presencia de una o más bandas para el diagnóstico de la enfermedad. Ayadi A. et al. (57) estudió la reactividad de las muestras de pacientes con hidatidosis frente a alguna de las bandas 8/21/20/92 kDa de líquido hidatídico y no halló falsos positivos para ninguna de las bandas, representando una buena especificidad. Por otro lado, Shapiro S. et al. (45) presentó una alta sensibilidad con la banda de 40 kDa reconocida en líquido hidatídico comercial pero con limitaciones en la especificidad, reportando 18 falsos positivos de 24 muestras controles.

La mayoría de los trabajos reportados utilizaron líquido hidatídico completo o antígenos purificados para analizar la sensibilidad en la detección de la enfermedad. En el caso de los trabajos que utilizaron

líquido hidatídico total como fuente de antígenos pudo observarse que el análisis de reactividad a más de un antígeno aumentó la sensibilidad y que no todos los pacientes reconocieron los mismos antígenos. Verastegui M. et al. (48) analizó el reconocimiento en líquido hidatídico, mediante Western Blot, de una banda de 21 kDa y de las bandas de 8 kDa y 16 kDa pertenecientes al patrón de reconocimiento del antígeno B y encontró una sensibilidad de 58% cuando analizó el reconocimiento de las 3 bandas simultáneamente y una sensibilidad de 65 % cuando analizó el reconocimiento de al menos una de las bandas. De igual manera Ayadi A et al.(57) y Poret D. et al.(58) mostraron como varía la cantidad de casos identificados al aumentar el número de bandas contempladas en el análisis.

La localización del quiste hidatídico puede ser relevante en la respuesta inmune del hospedador según los antígenos parasitarios que puedan asociarse a una u otra localización. En este sentido se han reportado diferencias en la permeabilidad de los quistes según su localización (65) y estudios recientes sobre el perfil proteómico de quistes de localización pulmonar y vertebral demostraron diferencias en su composición (66). En este trabajo se analizó la sensibilidad y especificidad del diagnóstico serológico asociado a las distintas localizaciones del quiste. Se encontraron valores similares de sensibilidad global y especificidad global para quistes ubicados en pulmón o en hígado. Como se mencionó anteriormente, este análisis incluyó trabajos de distintos autores y solo algunos de ellos evaluaron ambas localizaciones. En particular, Verastegui M. et al. (48) estudió ambas localizaciones y encontró mayor sensibilidad en el reconocimiento de las bandas de 8 kDa, 16 kDa y 21 kDa por los sueros de los pacientes con quiste hepático al utilizar líquido hidatídico de origen bovino, mientras que Wattal C. et al (1986) no encontró diferencias en sensibilidad entre ambas localizaciones utilizando líquido hidatídico y protoescolices de origen humano. Estas diferencias podrían atribuirse al origen diferente de los antígenos parasitarios utilizados. En particular, Verastegui M. et al. (48) analizó la reactividad de sueros de pacientes hidatídicos frente a líquido hidatídico obtenido de cerdo, bovino y ovino y concluyó que los distintos orígenes del quiste influyen en la reproducibilidad de los resultados.

El presente trabajo tiene como limitación que evalúa la utilidad de la serología en el diagnóstico de la hidatidosis en pacientes con la enfermedad confirmada por ecografía o por estudio anatomopatológico, no contemplando los casos de aquellos pacientes asintomáticos que no consultan o aquellos pacientes que no presentan hallazgos ecográficos por el tamaño o localización del quiste. Además, la escasa información presentada sobre los pacientes en los estudios individuales imposibilita la identificación de las causas de heterogeneidad hallados en los parámetros de sensibilidad y especificidad analizados. Por otro lado, los distintos autores ensayan diferentes antígenos y aún en el caso del líquido hidatídico que se encuentra más representado, el origen del mismo varía entre los distintos trabajos lo que dificulta un análisis separado por antígeno.

Los métodos ELISA y Western Blot mostraron un buen rendimiento diagnóstico y exactitud en la detección de hidatidosis en pacientes con presencia de quiste confirmada. Existen diversos factores que pueden influir en la correcta detección serológica de la enfermedad, algunos de ellos intrínsecos del hospedador y la respuesta inmune que genera ante el parásito y otros inherentes al método diagnóstico utilizado (15).

Al analizar los trabajos individuales, que utilizaron distintos antígenos, se encontraron algunos estudios que presentaron altos valores de sensibilidad o especificidad indicando que la serología puede ser una buena herramienta para el diagnóstico de la enfermedad utilizando los soportes antigénicos adecuados. Un mayor conocimiento de la respuesta inmune del hospedador frente al parásito y el uso de más de un antígeno para el diagnóstico de la enfermedad podrían mejorar el diagnóstico serológico actual.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Ninguno de los autores declara conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA

- Grosso G. Worldwide epidemiology of liver hydatidosis including the Mediterranean area. *WJG*. 2012;18(13):1425.
- Armiñanzas C, Gutiérrez-Cuadra M, Fariñas MC. Hidatidosis: aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos y terapéuticos. *Rev Esp Quimioter*. 2015; 28 (3): 116–24.
- Otero-Abad B, Torgerson PR. A Systematic Review of the Epidemiology of Echinococcosis in Domestic and Wild Animals. García HH, editor. *PLoS Negl Trop Dis*. 6 de junio de 2013;7(6):e2249.
- Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Tropica*. abril de 2010;114(1):1-16.
- Ahn C-S, Han X, Bae Y-A, Ma X, Kim J-T, Cai H, et al. Alteration of immunoproteome profile of Echinococcus granulosus hydatid fluid with progression of cystic echinococcosis. *Parasit Vectors*. 2015;8(1):10.
- Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in Immunology and Diagnosis of Hydatid Disease. *CMR*. enero de 2003;16(1):18-36.
- Kinkar L, Laurimäe T, Sharbatkhori M, Mirhendi H, Kia EB, Ponce-Gordo F, et al. New mitogenome and nuclear evidence on the phylogeny and taxonomy of the highly zoonotic tapeworm Echinococcus granulosus sensu stricto. *Infection, Genetics and Evolution*. agosto de 2017;52:52-8.
- Gharbi HA, Hassine W, Brauner MW, Dupuch K. Ultrasound examination of the hydatid liver. *Radiology*. mayo de 1981;139(2):459-63.
- Bingham GM, et al. The Economic impact of CE in Rio Negro province, Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 2016; 94(3):615-625
- Ejecutivo S. Informe Epidemiológico en la Región de América del Sur - 8 [Internet]. Paho.org.
- Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. *Bull World Health Organ*. 1996;74(3):231–42.
- Marcos Arezo, Eduardo Pacheco de Caldas et al. Prevención y Control de la Hidatidosis en el Nivel Local: iniciativa sudamericana para el control y vigilancia de la equinococosis quística hidatidosis. Organización Panamericana de la Salud - OPS/OMS. Río de Janeiro: PANAFTOSA - OPS/OMS, 2017.
- Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ, Müller N. Laboratory Diagnosis of Echinococcus spp. in Human Patients and Infected Animals. En: *Advances in Parasitology* [Internet]. Elsevier; 2017 .p. 159-257.
- Eckert J, Deplazes P. Biological, Epidemiological, and Clinical Aspects of Echinococcosis, a Zoonosis of Increasing Concern. *CMR*. enero de 2004;17(1):107-35.
- Ciapponi A. QUADAS-2: instrumento para la evaluación de la calidad de estudios de precisión diagnóstica. 2015;5.
- Zamora J, Abaira V, Muriel A, Khan KS, Coomarasamy A. Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. *BMC Medical Research Methodology* 2006, 6:31.
- Diagnostico AL, Hidatidosis DELA, Ramón FR. Guisantes, I. 1981;90:160–8.
- Miranda E, Velarde franko, Somocurcio J, Ayala E. Evaluación de dos pruebas de inmunoblot con antígeno hidatídico de caprino y ovino para el diagnóstico de equinococosis humana. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2010;27(2):209–14.
- Juan Carlos Gómez de la Torre Pretell. Valor diagnóstico de inmunoblot con líquido hidatídico humano, frente a antígeno ovino y bovino. *Patología Clínica. Hospital Central de la Fuerza Aérea del Perú*. 2004.
- Hernández-González A, Sánchez-Ovejero C, Manzano-Román R, González Sánchez M, Delgado JM, Pardo-García T, et al. Evaluation of the recombinant antigens B2t and 2B2t, compared with hydatid fluid, in IgG-ELISA and immunostrips for the diagnosis and follow up of CE patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(9):1–21.
- Tenguria RK, Naik MI. Original papers Evaluation of human cystic echinococcosis before and after. *Ann parasitol*. 2014;60(4):297–303.
- Han X, Kim JG, Wang H, Cai H, Ma X, Duong DH, et al. Survey of echinococcoses in southeastern Qinghai Province, China, and serodiagnostic insights of recombinant Echinococcus granulosus antigen B isoforms. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2019;12(1):1–11. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3569-6>
- Fathi S, Jalousian F, Hosseini SH, Parsa H, Kordafshari S. A study of cross-reactivity between recombinant EPC1 antigen of echinococcus granulosus in serum from patients with confirmed cystic echinococcosis infection and other parasitic infections. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;94(6):1313–7.
- De La Rue ML, Yamano K, Almeida CE, Ilesich MP, Fernandes CD, Goto A, et al. Serological reactivity of patients with Echinococcus infections (E. granulosus, E. vogeli, and E. multilocularis) against three antigen B subunits. *Parasitol Res*. 2010;106(3):741–5.
- Sadjjadi SM, Sedaghat F, Hosseini SV, Sarkari B. Serum antigen and antibody detection in echinococcosis: Application in serodiagnosis of human hydatidosis. *Korean J Parasitol*. 2009;47(2):153–7.
- Tamer SG, Dündar D, Uzuner H, Baydemir C. Evaluation of immunochromatographic test for the detection of antibodies against Echinococcus granulosus. *Med Sci Monit*. 2015;21:1219–22.
- Vola A, Manciuoli T, De Silvestri A, Lissandrin R, Mariconti M, Siles-Lucas M, et al. Diagnostic performances of commercial ELISA, indirect hemagglutination, and western blot in differentiation of hepatic echinococcal and non-echinococcal lesions: A retrospective analysis of data from a single referral centre. *Am J Trop Med Hyg*. 2019;101(6):1345–9.

28. Park SJ, Han SS, Anvarov K, Khajibaev A, Choi MH, Hong ST. Prevalence of serum IgG antibodies to cystic echinococcus antigen among patients in an Uzbekistan emergency hospital. *Korean J Parasitol.* 2015;53(6):699–703.
29. Hernández-González A, Muro A, Barrera I, Ramos G, Orduña A, Siles-Lucas M. Usefulness of four different *Echinococcus granulosus* recombinant antigens for serodiagnosis of unilocular hydatid disease (UHD) and postsurgical follow-up of patients treated for UHD. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15(1):147–53.
30. Chirag S, Fomda BA, Khan A, Malik AA, Lone GN, Khan BA, et al. Detection of hydatid-specific antibodies in the serum and urine for the diagnosis of cystic echinococcosis in patients from the Kashmir valley, India. *J Helminthol.* 2015;89(2):232–7.
31. Savardashtaki A, Sarkari B, Arianfar F, Mostafavi-Pour Z. Immunodiagnostic value of echinococcus granulosus recombinant B8/1 subunit of antigen B. *Iran J Immunol.* 2017;14(2):111–22.
32. Jin Y, Anvarov K, Khajibaev A, Hong S, Hong ST. Serodiagnosis of echinococcosis by ELISA using cystic fluid from Uzbekistan sheep. *Korean J Parasitol.* 2013;51(3):313–7.
33. Iraqi W. Diagnostic value of semi-purified antigens of hydatid cyst fluid in human cystic echinococcosis. *Acta Parasitol.* 2016;61(1):144–50.
34. Reiterová K, Auer H, Altintaş N, Yolasigmaz A. Evaluation of purified antigen fraction in the immunodiagnosis of cystic echinococcosis. *Parasitol Res.* 2014;113(8):2861–7.
35. Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakaya K, Nakao M, Lightowlers MW, et al. Usefulness of hydatid cyst fluid of echinococcus granulosus developed in mice with secondary infection for serodiagnosis of cystic Echinococcosis in humans. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002;9(3):573–6.
36. Bauomi IR, El-Amir AM, Fahmy AM, Zalat RS, Diab TM. Evaluation of purified 27.5 kDa protoscolex antigen-based ELISA for the detection of circulating antigens and antibodies in sheep and human hydatidosis. *Journal of Helminthology.* Cambridge University Press; 2015;89(5):577–83.
37. El-Shazly AM, Saad RM, Belal US, Sakr T, Zakae HA. Evaluation of ELISA and IHAT in serological diagnosis of proven cases of human hydatidosis. *J Egypt Soc Parasitol.* 2010;40(2):531–8.
38. Santivañez SJ, Arias P, Portocarrero M, Rodriguez S, Gonzalez AE, Gilman RH, et al. Serological diagnosis of lung cystic hydatid disease using the synthetic p176 peptide. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(6):944–7.
39. Eris FN, Akisu C, Aksoy U. Evaluation of two ELISA and two indirect hemagglutination tests for serodiagnosis of pulmonary hydatid disease. *Korean J Parasitol.* 2009;47(4):427–9.
40. Delunardo F, Ortona E, Margutti P, Perdicchio M, Vacirca D, Teggi A, et al. Identification of a novel 19 kDa *Echinococcus granulosus* antigen. *Acta Trop.* 2010;113(1):42–7.
41. Barbieri M, Fernández V, González G, Luaces VM, Nieto A. Diagnostic evaluation of a synthetic peptide derived from a novel antigen B subunit as related to other available peptides and native antigens used for serology of cystic hydatidosis. *Parasite Immunol.* 1998;20(2):51–61.
42. Shambesh MK, Craig PS, Gusbi AM, Echtuish EF, Wen H. Immunoblot evaluation of the 100 and 130 kDa antigens in camel hydatid cyst fluid for the serodiagnosis of human cystic echinococcosis in Libya. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1995;89(3):276–9.
43. Sadjjadi SM, Abidi H, Sarkari B, Izadpanah A, Kazemian S. Evaluation of enzyme linked immunosorbent assay, utilizing native antigen B for serodiagnosis of human hydatidosis. *Iran J Immunol.* 2007;4(3):167–72.
44. Shapiro SZ, Bahr GM, Hira PR. Analysis of host components in hydatid cyst fluid and immunoblot diagnosis of human *Echinococcus granulosus* infection. *Ann Trop Med Parasitol.* 1992;86(5):503–9.
45. Zarzosa MP, Ordun A, Alonso P, Cuervo M, Prado A, Bratos MA, et al. Evaluation of Six Serological Tests in Diagnosis and Postoperative Control of Pulmonary Hydatid Disease Patients. 1999;8893(99):255–62.
46. Wattal C, Malla N, Khan IA, Agarwal SC. Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of pulmonary echinococcosis. *J Clin Microbiol.* 1986;24(1):41–6.
47. Verastegui M, Moro P, Guevara A, Rodriguez T, Miranda E, Gilman RH. Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot test for diagnosis of human hydatid disease. *J Clin Microbiol.* 1992;30(6):1557–61.
48. Barbieri M, Sterla S, Battistoni J, Nieto A. High performance latex reagent for hydatid serology using an echinococcus granulosus lipoprotein antigen fraction purified from cyst fluid in one step. *Int J Parasitol.* 1993;23(5):565–72.
49. Doiz O, Benito R, Gil J, Rojas A, Carmen Rubio M, Osuna A. Pre- and postsurgical detection of IgG, IgM, and IgA specific to hydatidosis by ELISA with purified antigen enriched with the 5/B antigen complex. *J Clin Lab Anal.* 2002;16(6):295–8.
50. Grimm F, Maly FE, Lü J, Llano R. Analysis of specific immunoglobulin G subclass antibodies for serological diagnosis of echinococcosis by a standard enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1998;5(5):613–6.
51. Gadea I, Ayala G, Diago MT, Cuñat A, García De Lomas J. Immunological diagnosis of human cystic echinococcosis: Utility of discriminant analysis applied to the enzyme-linked immunoelectrotransfer blot. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6(4):504–8.
52. El-Ghareeb AS, Waked NM, Al-Feky HM. Clinical and parasitological studies on pulmonary and hepatic hydatid cysts in hospitalized children and adults. *J Egypt Soc Parasitol.* 2016;46(1):9–18.
53. Moghadam ZK, Ghaffarifard F, Khalilpour A, Aziz FA, Saadatnia G, Noordin R. IgG4 detection of echinococcus granulosus paramyosin is a useful diagnostic test for human hydatidosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2013;20(4):501–5.
54. Li T, Ito A, Chen X, Sako Y, Qiu J, Xiao N, et al. Specific IgG Responses to Recombinant Antigen B and Em18 in Cystic and Alveolar Echinococcosis in China. *Clin VACCINE Immunol* [Internet. Available from: <http://cvi.asm.org/>
55. Shweiki HM, Bahr GM, Salama MS, Behbehani K, Hira PR. Analysis of the in vitro lymphoproliferative responses and antibody levels to the arc-5 antigen in patients with cystic hydatid disease. *Ann Trop Med Parasitol.* 1992;86(6):621–9.
56. Ayadi A, Dutoit E, Sendid B, Camus D. Specific diagnostic antigens of *Echinococcus granulosus* detected by western blot. *Parasite.* 1995;2(2):119–23.
57. Poretto D, Felleisen E, Grimm F, Pfister M, Teuscher F, Zuercher C, et al. Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60(2):193–8.

58. Liance M, Janin V, Bresson-Hadni S, Vuitton DA, Houin R, Piarroux R. Immunodiagnosis of *Echinococcus* infections: Confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western Blot. *J Clin Microbiol.* 2000;38(10):3718–21.
59. Barbieri M, Severi MA, Pérez MI, Battistoni J, Nieto A. Use of specific antibody and circulating antigen serum levels in the hydatid immunodiagnosis of asymptomatic population. *Int J Parasitol.* 1994;24(7):937–42.
60. Tawfeek GM, Elwakil HS, El-Hoseiny L, Thabet HS, Sarhan RM, Awad NS, et al. Comparative analysis of the diagnostic performance of crude sheep hydatid cyst fluid, purified antigen B and its subunit (12 Kda), assessed by ELISA, in the diagnosis of human cystic echinococcosis. *Parasitol Res.* 2011;108(2):371–6.
61. Manterola Delgado C, Cuadra C. A, Fonseca S. F, Bustos M. L, Hinostroza S. J. Utilidad de DD5 y ELISA-IgG como pruebas diagnósticas específicas en pacientes con hidatidosis hepática. *Rev Chil Cir.* 2003;55(1):25–9.
62. Flores L. A, Rodríguez H. P. Estandarización de la prueba de elisa para el inmunodiagnóstico de hidatidosis humana empleando antígenos de producción local. Vol. 29, *Gaceta Médica Boliviana.* 2006. p. 5–10.
63. Manterola C, Cuadra Á, Muñoz S, Sanhueza A, Bustos L, Vial M, et al. In a diagnostic test study the validity of three serodiagnostic test was compared in patients with liver echinococcosis. *J Clin Epidemiol.* 2005;58(4):401–6.
64. Vidor E, Piens M-A, Abbas M, Petavy A-F. Biochimie du liquide hydatique (*Echinococcus granulosus*). Influence de la localisation sur la perméabilité des kystes. *Ann Parasitol Hum Comp.* 1986;61(3):333-40.
65. Zeghir-Bouteldja R et al. Comparative proteome profiling of hydatid fluid from Algerian patients reveals cyst location-related variation in *Echinococcus granulosus*. *Acta Trop* 2017.