

Nº 229
251.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

*Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia*

EVALUACION EXPERIMENTAL DE LA CAPACIDAD DE
PROTECCION DE UN INMUNOGENO (ANTIGENOS DE
Taenia crassiceps) CONTRA LA CISTICERCOSIS PORCINA
POR Taenia solium.

T E S I S
Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
p r e s e n t a
LUIS FELIPE RODARTE COVARRUBIAS



Asesores:
MVZ ALINE SCHUNEMANN DE ALUJA
DRA. EDDA SCIUTTO CONDE

México, D. F. 1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**EVALUACION EXPERIMENTAL DE LA CAPACIDAD DE PROTECCION DE UN
INMUNOGENO (ANTIGENOS DE Taenia crassiceps) CONTRA LA
CISTICERCOSIS PORCINA POR Taenia solium.**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales
de la
Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para obtención del Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Por

LUIS FELIPE RODARTE COVARRUBIAS

Asesores:

MVZ. ALINE SCHUNEMANN DE ALUJA
Dra. EDDA SCIUTTO CONDE

México, D.F.

- 1992 -

CONTENIDO

	<u>Página</u>
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
2.1 ANTECEDENTES HISTORICOS.....	4
2.2 CICLO DEL PARASITO.....	5
2.3 CONSIDERACIONES ACERCA DEL CONTROL DE LA TRANSMISION DE LA TENIASIS-CISTICERCOSIS.....	7
2.4 ASPECTOS MORFOLOGICOS DE LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA <i>Taenia solium</i>	11
2.4.1 EL CESTODO DE <i>Taenia solium</i>	11
2.4.2 LOS HUEVOS DE <i>Taenia solium</i>	12
2.4.3 EL METACESTODO DE <i>Taenia solium</i>	12
3. HIPOTESIS.....	14
4. OBJETIVO.....	14
5. MATERIALES Y METODOS.....	15
5.1 ANTIGENO.....	15
5.2 ANIMALES.....	15
5.3 INMUNIZACION.....	15
5.4 DESAFIO.....	15
5.5 SACRIFICIO Y MUESTREO.....	16
5.6 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
6. RESULTADOS.....	18
6.1 CAPACIDAD DE INDUCIR PROTECCION POR INMUNIZACION. CARGA PARASITARIA.....	18
6.2 VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS.....	18
6.3 DISTRIBUCION DE LA CARGA PARASITARIA.....	18
6.4 DETERMINACION DE NIVELES DE ANTICUERPOS ANTICISTICERCOS.....	19

7.	DISCUSION.....	20
8.	LITERATURA CITADA.....	24
9.	CUADROS Y FIGURAS.....	29
	Cuadro 1. NUMERO Y PORCENTAJE DE LOS CISTICERCOS EN LOS 16 CERDOS INFECTADOS CON HUEVOS DE <i>Taenia solium</i>	30
	Cuadro 2. EFECTO DEL INMUNOGENO EN LA VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS.....	31
	Cuadro 3. DISTRIBUCION ANATOMICA PROMEDIO DE LOS CISTICERCOS EN LOS 16 CERDOS INFECTADOS CON HUEVOS DE <i>Taenia solium</i>	32
	Cuadro 4. PORCENTAJE DE CISTICERCOSIS DE <i>Taenia solium</i> EN LA MASA MUSCULAR CON RESPECTO AL NUMERO TOTAL DE LOS 16 CERDOS.....	33
	Cuadro 5. DETECCION DE ANTICUERPOS ANTI-CISTICERCOS DE CERDO EN CUATRO SANGRIAS (D.O. ELISA).....	34
	Fig. 1 CICLO DE VIDA DE <i>Taenia solium</i>	36
	Fig. 2 CARGA PARASITARIA EN NUMERO Y PROMEDIO TOTAL DE CISTICERCOS EN LOS 16 CERDOS.....	37
	Fig. 3 PORCENTAJE DE VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS EN EL GRUPO EXPERIMENTAL.....	38
	Fig. 4 PORCENTAJE DE VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS EN EL GRUPO TESTIGO.....	39
	Fig. 5 DISTRIBUCION DE CISTICERCOS EN TOTAL EN LAS REGIONES MUSCULARES DE LOS 16 CERDOS.....	40
	Fig. 6 DISTRIBUCION DE CISTICERCOS VIABLES EN LAS REGIONES MUSCULARES DE LOS 16 CERDOS..	41
	Fig. 7 DISTRIBUCION DE CISTICERCOS DEGENERADOS EN LAS REGIONES MUSCULARES DE LOS 16 CERDOS.....	42
	Fig. 8 PORCENTAJE DE CISTICERCOS EN LAS REGIONES MUSCULARES DE LOS 16 CERDOS.....	43
	Fig. 9 PROMEDIO DE ANTICUERPOS ANTI-CISTICERCOS DE LOS 16 CERDOS.....	44

RESUMEN

RODARTE COVARRUBIAS LUIS FELIPE. Evaluación experimental de la capacidad de protección de un inmunógeno (antígenos de Taenia crassiceps) contra la cisticercosis porcina por Taenia solium. (Bajo la dirección de Aline Schunemann de Aluja y Edda Sciutto Conde).

El objetivo de este trabajo de tesis consistió en la evaluación de la posibilidad de modificar la susceptibilidad innata del cerdo a la cisticercosis por vacunación, analizando la capacidad de inducir protección de un inmunógeno constituido por antígenos de *Taenia crassiceps*. Se trabajó con 16 cerdos híbridos libres de cisticercosis; en 2 grupos de 8 cerdos cada uno. Se inmunizó al grupo experimental con una dosis de 0.4 mg/kg con adyuvante completo de Freund Volumen/volumen (v/v). Al grupo testigo se le aplicó solución salina con adyuvante completo de Freund v/v. Se desafió cada cerdo con 5 proglótidos grávidos de *Taenia solium*, aproximadamente 250,000 huevos maduros. Se realizaron 4 sangrados para detectar anticuerpos contra cisticercos por medio de la prueba de Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA). En el 1ro. y 2do. sangrado los cerdos presentaron niveles de anticuerpos compatibles con animales sanos. Al 3er. y 4to. sangrado presentaron un aumento significativo en los niveles de anticuerpos de 0.019 a 0.957 en los testigo y de 0.073 a 0.913 en los inmunizados. Se realizó la necropsia y recolección de muestras, se contabilizaron los cisticercos en ellas, obteniendo 1955 en los animales inmunizados y 4173 en los testigos, lo que representa 53.15% menos cisticercos en

los animales inmunizados de los cuales, el 88.70% fueron viables, mientras que en los animales del grupo testigo solo fue viable el 99.57% disminuyendo en un 10.87% la viabilidad de los cisticercos por inmunización. Los resultados sugieren que este inmunógeno brinda protección significativa ($P < 0.05$) contra la cisticercosis porcina, si bien queda aún por confirmar su eficiencia y optimizar su producción a fin de recomendar su aplicación.

INTRODUCCION

El concepto de teniasis-cisticercosis comprende a tres entidades distintas, causadas por el cestodo *Taenia solium*:

1. La teniasis, una infección intestinal no fatal en el hombre (9):

2. La cisticercosis humana que es en cambio un padecimiento crónico con una alta morbilidad, debido principalmente a la localización cerebral del metacestodo, pudiendo ser también ocular, diseminada o mixta (23).

3. La cisticercosis porcina, infección generalmente asintomática que puede afectar diferentes tejidos y órganos del cerdo (9,24).

ANTECEDENTES HISTORICOS.

Numerosos autores han observado al metacestodo de la *Taenia solium* desde los tiempos de Hipócrates (460-377 a. de J.C.), el cual alude por primera vez su presencia. Aristófanes (445-386 a. de J.C.), destaca la presencia de unas vesículas en la lengua del cerdo. Aristóteles (384-322 a. de J.C.), en su historia de animales realiza una descripción del parásito (16).

Laennec (1781-1826), da el nombre de *cisticercus*, el cual viene de las raíces griegas *kystic*, vesícula y *kercos*, cola. Rudolphi, en 1809 le pone como apellido *cellulosae* por la gran afinidad que tiene por el tejido conectivo, y describe así la forma larvaria de la *Taenia solium* (7,16).

Beneden, en 1853 por primera vez relaciona al cisticercos con la *Taenia solium*. Küclenmeister en 1855 y Leuckart en 1856, son los primeros en demostrar el ciclo biológico del parásito. Weinberg, en 1909 es el primero en examinar una reacción de fijación de complemento en cerdos para el diagnóstico de cisticercosis. Pesson y Silveira, en 1930 usan la prueba de fijación de complemento en fluido cerebroespinal de humanos con buenos resultados (16).

CICLO DEL PARASITO.

El parásito adulto, se localiza en el intestino delgado del hombre, mide entre 1.5 a 5.0 metros de largo (5,7,9). Los proglótidos grávidos son eliminados pasivamente con las heces (5), en número de hasta 5 por día, con 50,000 huevos aproximadamente en cada proglótido (2,3,7,9,17,21).

El cerdo es el huésped intermediario de este parásito y se infecta al ingerir excremento humano con huevos de *Taenia solium* eliminados por un teniásico. En vista de la costumbre generalizada de defecar al ras del suelo, la contaminación del medio ambiente (suelos y aguas) es un factor crítico en la transmisión de la teniasis-cisticercosis en México. Existen estudios que comprueban la presencia de huevos de diferentes parásitos, así se ha detectado la presencia de *Taenia sp* (3) en las aguas negras del Distrito Federal, mismas que se utilizan en el riego de hortalizas y cultivos. Al ingerir el hombre o el cerdo huevos de *Taenia solium* con aguas, frutas y verduras contaminadas, éstos pueden desarrollarse al estado larvario o de cisticerco (3).

En el cerdo la larva se aloja tanto en tejido muscular como en el nervioso, mientras que en el ser humano se informa de su presencia casi exclusiva en el encéfalo (23). La infección en el hombre no afecta el ciclo de transmisión del parásito, dado que el ser humano no practica el canibalismo (ver figura 1).

Observando el ciclo, es claro que las prácticas de defecación al aire libre, tan frecuentes en medios rurales de México, así como el manejo para el desecho de heces y las condiciones y hábitos de higiene resultan críticas.

Cuando el hombre ingiere carne de cerdo parasitada los cisticercos pueden desarrollarse en tenias en el intestino delgado, y estas adquieren capacidad infectiva después de 10 semanas (3,21). La tenia puede detectarse 62 a 72 días después de la infección por la expulsión de los primeros proglótidos o huevos en heces (5). La viabilidad de los cisticercos y la eficiencia de la transformación en tenias no ha sido evaluada, pero la mala cocción de la carne favorece ésta etapa de transformación.

**CONSIDERACIONES ACERCA DEL CONTROL DE LA TRANSMISION DE
LA TENIASIS-CISTICERCOSIS.**

Al revisar algunas de las medidas de control de la teniasis-cisticercosis consideradas para su aplicación en zonas endémicas. Las condiciones socioeconómicas de algunas regiones de nuestro país favorecen la manutención del ciclo de vida de la teniasis-cisticercosis. Es de suponer que modificando estas condiciones se podría incidir en su ciclo, para lo que se requiere la tecnificación de la crianza del cerdo, y cambios de conducta al respecto del desecho de heces y de la higiene. Aún suponiendo que estas alternativas tuvieran aplicación inmediata, no parece realista esperar resultados a corto plazo. Distintas alternativas de control se han sugerido, para incidir en este problema de salud, entre las que figuran:

1) El tratamiento masivo a personas teniásicas: Esta alternativa ha sido practicada en diferentes naciones en forma obligatoria entre ellas en Rusia y experimentalmente en pequeñas poblaciones aisladas (6). Los resultados obtenidos sugieren que ésta medida por si sola no resultaría suficiente para controlar la teniasis, ya que meses después del tratamiento masivo se volvió a restablecer el ciclo, quizás motivado por la incorporación de nuevos individuos infectados y/o por contaminación de los cerdos con huevos aún viables en distintos nichos ecológicos propicios para su conservación durante largo plazo.

2) La educación y concientización de la población: Entre estas medidas se incluyen crear conciencia en la población de la importancia de que no se defeque al aire libre, se construyan letrinas, y se adquieran buenos hábitos de higiene, así como el no consumir carne que no esté bien cocida. Considerando que estas prácticas están muy relacionados con la situación socioeconómica de la población, es poco probable que tuviesen éxito a corto plazo (3).

3) Modificar los métodos de crianza rústica de cerdos que favorecen el contacto entre el cerdo y las excretas humanas: Esta medida presenta muy pocas posibilidades de éxito a corto plazo ya que en ella también están involucrados cambios conductuales de las personas asociadas a las necesidades económicas de sustento con escasos recursos (3).

4) La inspección en pie y de la canal de cerdos: Es obligatoria por ley en rastros oficiales, así como en los mercados de animales vivos pero con mucha frecuencia no se reporta (3). Debe prohibirse la matanza en forma clandestina. La comercialización sin escrúpulos de los animales parasitados a los que se les puncionan o desprenden las vesículas localizadas en la lengua, provocan un grave problema de salud pública (3). Esto permite que se restablezca el ciclo del parásito, ya que la carne con metacestodos continua su comercialización como subproductos cárnicos ejemplo de ello son los embutidos (3).

Sin embargo, una gran cantidad de la carne que se consume proviene de cerdos de traspatio, es por ello que no llegan a rastro, en especial para evitar la detección de la infección y por el autoconsumo al que están destinados. Este problema adquiere importancia considerando que en México el 40% del total de la producción porcina corresponde a la crianza de cerdos de traspatio que son aproximadamente 4'480,000 cerdos (14).

5) Modificar la incidencia de cisticercosis porcina a través de la respuesta inmune, favoreciendo la respuesta inmune anti-cisticerco por inmunización temprana de los cerdos: El interferir con el curso de enfermedades infecciosas por inmunización se remonta a los orígenes de la inmunología, Pasteur citado por Tizard, (22). La prevención de la cisticercosis porcina por medio de este procedimiento, podría modificar el ciclo de transmisión del parásito. Dado que la mayor incidencia de cisticercosis porcina se encuentra en cerdos criados de manera rústica, el uso de un inmunógeno se enfocaría, en especial, a animales de traspatio, la prevención por inmunización sería una medida realista, porque no requiere modificar las formas de crianza rústica.

Los estudios de protección inmunológica contra *Taenia solium* utilizando los propios antígenos del metacéstodo o de las oncosferas parecen ser prometedores (18). Sin embargo, la escasa disponibilidad de tenias y de sus oncosferas han obstaculizado las investigaciones sistemáticas a fin de optimizar un inmunógeno y evaluarlo a nivel de campo.

Recientemente se han obtenido evidencias respecto a la capacidad de inducción de inmunoprotección cruzada entre distintos cestodos (12). Más concretamente se ha obtenido información de que existe protección cruzada entre *Taenia solium* y *Taenia crassiceps*, metacestodos del cerdo/hombre y ratón/zorro, respectivamente (18). Esta información podría ser de utilidad a fin de considerar fuentes alternas de material a utilizar para la inmunización (12), en especial considerando la capacidad de crecimiento del cisticerco murino que permite gran disponibilidad de antígenos.

Estas observaciones fundamentan la evaluación de los antígenos del cisticerco de ratón, en la prevención por inmunización de la cisticercosis porcina por *Taenia solium*.

**ASPECTOS MORFOLOGICOS DE LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA
Taenia solium.**

EL CESTODO DE Taenia solium.

La *Taenia solium* se caracteriza por ser un gusano plano, segmentado, mide entre 1.5 a 5m de largo (5,7,9), o hasta 8m (3,7) y de 7 a 10 mm de ancho (7), presenta un escólex o cabeza cuboide de 1.5 a 2 mm, constituida por un rostelo armado con dos hileras de ganchos cuyo número varía de 22 a 32 y 4 ventosas semiesféricas musculares (5,7). Estas ventosas son los órganos que utiliza para su fijación en la pared del intestino delgado del humano que parásita. Presenta un cuello a través del cual se une la cadena estrobilar, constituida por numerosos proglótidos, y que se reproducen en la región distal del cuello de la tenia (3,7).

Los proglótidos se clasifican de acuerdo a la cercanía con el cuello, en proglótidos inmaduros, maduros y grávidos (3,7).

Los proglótidos inmaduros son de tamaño variable (3) y en ellos las unidades reproductivas no se encuentran completamente desarrolladas. Los proglótidos maduros son considerados como unidades reproductivas independientes debido a la presencia de órganos masculinos y femeninos (3,7). Los proglótidos grávidos están totalmente diferenciados, miden entre 7 a 12 mm por 5 a 6 mm y presentan de 275 a 575 testículos que confluyen en un atrio genital (3). El ovario es trilobulado situado en la base del útero en el extremo posterior del proglótido que desemboca a través de la vagina al mismo atrio genital (3).

LOS HUEVOS DE Taenia solium.

Los huevos, contenidos en los proglótidos grávidos, se encuentran en diferentes estados de madurez y solo el 50% contienen oncosferas invasoras. Los huevos inmaduros pueden madurar fuera del huésped y permanecer viables e infestantes en aguas negras, ríos y pasturas por semanas o meses (3).

Los huevos de *Taenia solium* son muy similares a los de otros ténidos e idénticos a los de *Taenia saginata*. Poseen varias envolturas, la más externa es el vitelo o cápsula, que forma un sincicio a partir de un grupo de células. La siguiente es el embrióforo, formado por pequeños bloques proteicos unidos entre sí por un material cementante. Esta envoltura además de ser la más importante en la protección de la oncosfera, confiere a los huevos su apariencia estriada característica. El embrióforo es producido por la célula embrióforal. Finalmente la membrana oncosferral rodea directamente a la oncosfera o embrión hexacanto que posee 3 pares de ganchos (3,7,10).

EL METACESTODO DE Taenia solium.

El *Cysticercus cellulosae* se caracteriza por ser una vesícula oval o redonda con un fluido transparente en su interior, varía de tamaño desde 0.5 a 2 cm de diámetro mayor (3), con una membrana opalina a través de la cual se visualiza el escólex (13,19). Con microscopía óptica la vesícula es delgada sin ondulaciones con un rudimentario estróbilo (13). Se puede apreciar el rostelo armado con doble corona de ganchos y 4 ventosas (3,7,13,19). En microscopía

electrónica pueden verse múltiples prolongaciones filiformes, denominadas microtricas (3,13).

El cisticerco de la *Taenia solium* presenta además del *Cysticercus cellulosae* otra forma alternativa del mismo parásito llamado *Cysticercus racemosus* el cual presenta vesículas multilobuladas (3).

HIPOTESIS.

Un inmunógeno elaborado con *Taenia crassiceps*, brindará protección contra el metacestodo de *Taenia solium* en el cerdo.

OBJETIVO.

Evaluar la eficiencia de un inmunógeno elaborado con antígenos de *Taenia crassiceps* contra la cisticercosis porcina a fin de interferir en el ciclo de transmisión de la teniasis cisticercosis.

MATERIAL Y METODOS.

ANTIGENO. El antígeno utilizado como inmunógeno consiste en un extracto de cisticercos de *Taenia crassiceps*. Los cisticercos se obtuvieron a partir de ratones BALB/c hembras después de 60-90 días de infectadas por vía peritoneal (18). Los parásitos se lavaron, se homogeneizaron y se mantuvieron en solución salina a 4°C. El antígeno se elabora de acuerdo con la técnica descrita por Scitutto, et al. (18).

ANIMALES. Se utilizaron 16 cerdos, híbridos, de 2 meses de edad, vacunados contra la fiebre porcina clásica a los 45 días de edad. Los cerdos fueron adquiridos en una granja comercial libre de teniasis-cisticercosis.

INMUNIZACION. Ocho animales fueron inmunizados y 8 se utilizaron como testigos. Los cerdos del grupo experimental se inyectaron con el inmunógeno a una dosis de 400 µg de antígeno por kg de peso con adyuvante completo de Freund v/v por vía subcutánea en la base de la oreja. A los cerdos testigo se les aplicó adyuvante completo de Freund y solución salina v/v.

DESAFIO. Se obtuvo una *Taenia solium* de un paciente tratado con Yomesan*.

Ochenta proglótidos grávidos se cortaron en fragmentos de 2x2 mm aproximadamente, esta mezcla se llevó a un volumen final de 160 ml con solución salina. 16 cerdos se inocularon por vía oral con 10 ml de la mezcla antes mencionada

* Niclosamida Laboratorios BAYER, S.A.

adicionada con el alimento (1). A fin de homogeneizar el inóculo se agitó la solución antes de tomar la dosis de 10 ml de este modo cada cerdo recibió el homogeneizado correspondiente a 5 proglótididos que equivale aproximadamente a 250,000 huevos.

SACRIFICIO Y MUESTREO.

Sesenta y ocho y setenta y dos días después del desafío, los animales fueron insensibilizados con pistola de émbolo oculto tipo "Schermer" y sacrificados por desangrado.

Se efectuaron las necropsias y se realizó el muestreo tomando partes representativas de las siguientes regiones musculares: maseteros, lengua y diafragma en su totalidad, 200g de lomo derecho e izquierdo, intercostales derecho e izquierdo, y 400g de pierna derecha e izquierda, espaldilla derecha e izquierda.

Se evaluó el grado de parasitosis del cerdo cuantificando el número de parásitos en las muestras de carne obtenidas realizando para ello cortes de 0.2 cm^2 aproximadamente de espesor y contando los cisticercos presentes. Se registraron como vesiculares, coloidales, caseosos o calcificados (3,4), tanto en los animales inmunizados como en los testigos. Las larvas vesiculares se interpretaron como viables y como degeneradas a las coloidales, caseosas y calcificadas.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

El experimento se realizó de acuerdo al siguiente cronograma:

1. El día 0 corresponde al nacimiento de los 16 cerdos en experimentación.

2. El día 45 se les aplicó la vacuna contra la fiebre porcina clásica.

3. Al día 47 se realizó el primer sangrado para ver niveles de anticuerpos contra cisticercos.

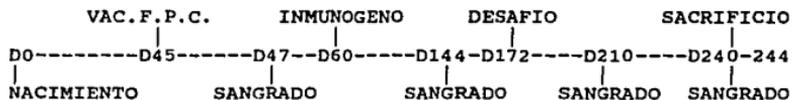
4. Al día 60 se les aplicó el inmunógeno contra la cisticercosis a 8 animales.

5. Al día 144 se realizó el segundo sangrado para ver niveles de anticuerpos contra cisticercos.

6. Al día 172 se realizó el desafío con huevos de *Taenia solium* a los 16 cerdos.

7. Al día 210 se realizó el tercer sangrado para ver niveles de anticuerpos contra cisticercos.

8. Del día 240 al 244 se realizó el cuarto sangrado para ver niveles de anticuerpos contra cisticercos y la necropsia de los 16 cerdos.



Con el suero obtenido de cada sangrado se realizaron pruebas de ELISA (20) para determinar los niveles de anticuerpos.

RESULTADOS

CAPACIDAD DE INDUCIR PROTECCION POR INMUNIZACION.

CARGA PARASITARIA.

En el grupo experimental la carga parasitaria fue de 1955 cisticercos, menor que en el grupo testigo donde fue de 4173 cisticercos. Esta reducción representa el 53.15% (cuadro 1) (fig. 2 y 5).

VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS.

De los animales testigos (Fig. 4) se recuperaron parásitos con un promedio de viabilidad de 99.57% mientras que, de los animales inmunizados (Fig. 3) se recuperaron parásitos con promedio de viabilidad de 88.70%. Estos resultados sugieren que la inmunización disminuyó la viabilidad promedio de los parásitos recuperados en 10.87% (cuadro 2) (Fig. 6 y 7).

DISTRIBUCION DE LA CARGA PARASITARIA.

En el cuadro 4 y Fig. 8 se expresa el porcentaje de cisticercos recuperados de las masas musculares examinada de animales testigos e inmunizados previo al desafío.

La diferencia del número de parásitos entre el lado izquierdo y derecho del cerdo no fue significativa ($P > 0.05$). La carga parasitaria en promedio de los 8 animales testigos (cuadro 3) fue calculada en número de larvas por kg de peso: maseteros (5.82), diafragma (5.69), espaldilla (3.88), lengua (3.66), pierna (2.78) intercostales (2.05) y lomo (1.61).

Mientras que, en los 8 animales inmunizados (cuadro 3) fue calculada en número de larvas por kg de peso: maseteros (2.29), diafragma (2.80), espaldilla (2.05), lengua (1.79), pierna (1.08) intercostales (0.96) y lomo (0.75).

DETERMINACION DE NIVELES DE ANTICUERPOS ANTICISTICERCOS.

Los sueros de los cerdos antes de iniciar el experimento presentaron valores muy bajos de anticuerpos compatibles con animales sanos (cuadro 5).

La inmunización de los cerdos no modificó significativamente ($P > 0.05$) los niveles de anticuerpos 84 días después de la inmunización.

El desafío de los cerdos con huevos y su desarrollo a cisticerco aumentó significativamente ($P < 0.05$) los niveles de anticuerpos de 0.019 a 0.698 en los animales testigos y de 0.073 a 0.836 en los animales inmunizados (Fig. 9).

Después del desafío con el desarrollo de los cisticercos aumentaron los títulos de anticuerpos de 0.698 a 0.957 en los animales testigos y de 0.836 a 0.913 en los animales inmunizados ($P > 0.05$) (Fig. 9).

Los resultados sugieren, que la protección asociada a inmunización no estaría mediada por la presencia de anticuerpos al menos de una manera directa.

DISCUSION

El inmunógeno obtenido de un extracto de cisticerco de *Taenia crassiceps* a una dosis de 0.4mg/kg de peso protegió contra la cisticercosis porcina reduciendo la carga parasitaria esperada en un 53.15%.

Esta disminución de la carga parasitaria presente en la musculatura del cerdo inducida por inmunización, es alentador en la posibilidad de interrumpir el ciclo de transmisión de este parásito, así al ser menor el número de cisticercos en los cerdos infectados será probablemente menor la posibilidad de ingestión de cisticercos viables que puedan transformarse en tenias.

Sin embargo, queda aún por evaluar cuanto debería reducirse la carga parasitaria en el cerdo cisticercoso a fin de incidir en el ciclo de su transmisión. Sobre todo, si se considera que un cisticerco viable es suficiente para transformarse en tenia potencialmente productora de millones de huevos.

En este sentido, sería conveniente simular por computación estas posibilidades a fin de considerar la recomendación de este inmunógeno como vacuna con una eficiencia del 50%.

De confirmarse la eficiencia de este inmunógeno y considerarse su aplicación, se requeriría de producción en gran escala. Es en este sentido, la importancia de que este inmunógeno se prepare con antígenos de *Taenia crassiceps*.

Estos antígenos se pueden producir en el ratón, a partir de cisticercos que se reproducen rápidamente en la cavidad peritoneal y permite la obtención de aproximadamente 20 g de antígeno por ratón después de 3 meses de infección.

El diseño experimental que se realizó en este trabajo de tesis es el resultado de la optimización de los diseños previos de vacunación, con los que no se obtuvo protección del huésped, sino por el contrario se facilitó la parasitosis. Estos diseños incluyeron dosis más altas de antígenos (4 mg/kg de peso) 1ra. y 2da. dosis, a más temprana edad de la inmunización, períodos más cortos entre inmunógeno y desafío y la inmunización contra la cisticercosis más cercana a la vacunación contra la Fiebre Porcina Clásica (11,15). Aunque no hemos dilucidado cuales de estos factores puedan haber sido los más críticos en la modificación del efecto deseado, esta experiencia habla del riguroso y delicado control inmunológico de la relación entre hospedero y parásito y hace aún más crítico, la confirmación de las condiciones experimentales con los que el inmunógeno indujo protección. En esta confirmación, será de gran importancia estudiar la protección a diferentes intervalos de tiempo entre inmunización y desafío (11,15). La variable de tiempo entre desafío e inmunización en el diseño reportado en esta tesis es muy prolongada (4 meses), y si bien lo esperable sería que a tiempos más cortos el inmunógeno proteja mejor, no se ha evaluado sistemáticamente (11). Además en este sentido en el ratón, se ha observado que la inmunización y la

infección producen una inmunosupresión temprana reversible (11) que facilita la instalación del parásito, será entonces, muy relevante evaluar diferentes intervalos de tiempo entre desafío e inmunógeno.

Para la producción de este inmunógeno a fin de su aplicación deben considerarse otros aspectos de control como son:

Verificación de la seguridad, potencia del inmunógeno (vacuna, bacterina, toxoide, etc.). Las pruebas de seguridad incluyen la confirmación de la identidad del organismo utilizado, comprobando la ausencia de otros gérmenes (o sea, la pureza), además de una prueba de toxicidad y esterilidad. así como considerar la forma de distribución adecuada (22).

Si bien la eficiencia de vacunación empieza a señalar como interesante a este inmunógeno sería muy importante optimizar la capacidad de protección de este inmunógeno a fin de aumentar la posibilidad de incidir en el ciclo de transmisión.

Con este fin se esta contemplando la identificación de los antígenos inmunodominantes a fin de utilizarlos purificados individualmente o de manera combinada para aumentar la eficiencia de vacunación. Esta fase se esta realizando utilizando el modelo murino a fin de evaluar estos antígenos en el cerdo en un futuro cercano.

Como observaciones adicionales de los resultados obtenidos en este trabajo se puede citar:

La influencia del sexo, si bien en la cisticercosis murina las hembras son más susceptibles que los machos, en la cisticercosis porcina no se observaron diferencias. Sin embargo, los cerdos machos fueron previamente castrados y se ha observado que la castración, al menos en el ratón, anula definitivamente la diferencia de susceptibilidad asociados al sexo (8).

LITERATURA CITADA.

1. Aluja, S.A. de: Experimental Infection of pigs with *T. solium* eggs. Memorias 13th WAAVP Conference, Berlin, 1989.
2. Aluja, S.A. de: Frequency of porcine cysticercosis in Mexico. In: Cysticercosis, Present State of Knowledge and Perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, D. and Beltran, F. p. 53-62. Academic Press, New York, 1982.
3. Aluja, S.A. de, Escobar, A., Escobedo, F., Flisser, A., Laclette, J.P., Larralde, C., Madrazo, I., Velázquez, V. y Willms, K.: Cisticercosis. Una recopilación actualizada de los conocimientos básicos para el manejo y control de la cisticercosis causada por *Taenia solium*. Fondo de Cultura Económica, México, 1987.
4. Aluja S.A. de. and Vargas, G.: The Histopatology of Porcine Cysticercosis. Vet Parasitol, 28 65-77 (1988).
5. Corwin, R.M., DiMarco, N.K., McDowell, A.E. and Pratt, S.E.: Internal Parasites. In: Diseases of Swine. 6th. edition. Edited by Leman, A.D., Straw, B., Glock, R.D., Mengeling, W.L., Penny, R.H.C. and Scholl, E. p. 646-664. The Iowa State University Press. AMES, IOWA, U.S.A. 1986.
6. Cruz, M., Davis, A., Dixon, H., Pawlowski, Z.S. and Proano, J.: Operational studies on the control of *Taenia solium* Taeniasis-cysticercosis in Ecuador. Bull of the World Health Organization, 67 (4): 401-407, Geneva, 1989.

7. Fragoso, G.G., Lemus, R.D. y Trueva, Z.L.: Inmunología de la cisticercosis murina causada por el cisticerco de *Taenia crassiceps* variedad ORF. Tesis de licenciatura. Fac. de Química Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1988.

8. Huerta, L., Terrazas, L.I., Sciutto, E. and Larralde, C.: Immunological mediation of gonadal effects on experimental murine cisticercosis caused by *Taenia crassiceps* metacestodes. J. Parasitol., 78 (3). 471-476 1992.

9. Keilbach, N.: Teniasis-Cisticercosis un estudio de población. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zootec. División de Estudios de Posgrado Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1989.

10. Lacllette, J.P., Ornelas, Y., Merchant, M.T. and Willms, K.: Ultrastructure of the Surrounding Envelopes of *Taenia solium* Eggs. In: Cysticercosis, Present State of Knowledge and Perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacllette, J.P., Larralde, C., Ridaura, D. and Beltran, F. p. 375-387. Academic Press, New York, 1982.

11. Larralde, C., Aluja, S.A. de, Keilbach, N., Sciutto, E., Rodarte, C.L.F., Govezensky, T., Díaz, M.L., Hernández, M. y Padilla, A.: Efecto de la vacunación de cerdos contra la cisticercosis experimental. Memorias del XXVI Congreso Nacional AMVEC. Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos Mérida, Yucatán. Agosto 1991.

12. Larralde, C., Flisser, A. and Montfort, R.P.: Vaccination against cysticercosis: Perspectives on the immunological prevention of human disease. In: Cysticercosis, Present State of Knowledge and Perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacllette, J.P., Larralde, C., Ridaura, D. and Beltran, F. p. 53-62. Academic Press, New York, 1982.

13. Loaiza, L.V.H.: Estudio anatomico-topografico de distribución del metacestodo *Taenia solium* en encéfalos de cerdo. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1991

14. Mazón, R.J.: La porcicultura mexicana ante el TLC. Desarrollo Porcicola No. 0 Sep. de 1991 p. 13-16 y 32. (1991).

15. Molinari, J.L., Meza, R., Suárez, B., Palacios, S., Tato, P. and Retana, A.: *Taenia solium*: Immunity in Hogs to the Cysticercus. Experimental Parasitol 55, 340-357 (1983)

16. Nieto, D: Historical notes on cisticercosis. In: Cysticercosis, Present State of Knowledge and Perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacllette, J.P., Larralde, C., Ridaura, D. and Beltran, F. p. 1-7. Academic Press, New York, 1982.

17. Rivera, L.: Correlación Clínico-Immunológica en pacientes con Neurocisticercosis. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Div. de Est. Sup., Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1980.

18. Sciutto, E., Fragoso, G., Trueba, L., Lemus, D., Montoya, R.M., Díaz, M.L., Govezensky, T., Lomeli, C., Tapia, G. and Larralde, C.: Cysticercosis vaccine: cross protecting immunity with *T. solium* antigens against experimental murine *T. crassiceps* cysticercosis. Parasite Immunology 12, 687-696 1990.

19. Slais, Jaroslav.: Morphology of the scolex of *Cyticercus cellulosa* in brain cysticercosis. In: Cysticercosis, Present State of Knowledge and Perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J.P., Larralde, C., Ridaura, D. and Beltran, F. p. 235-259. Academic Press, New York, 1982.

20. Snyder, D.B. and Marquardt, W.W.: Enzyme immunoassay for poultry disease monitoring. In: A laboratory manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. 3th edition. Edited by The American Association of Aviar Pathologists p. 201-207. University of Pennsylvania, U.S.A. 1989.

21. Tay, J., Lara, r., Velasco, O. y Gutiérrez, M.: Parasitología Médica 2da. ed. Ed. Francisco Méndez Cervantes. México, D.F. 1985.

22. Tizard, I.: Inmunología Veterinaria. 2da. ed. Interamericana. México, D.F. 1987.

23. Zenteno, A.G.: A classification of human cysticercosis. In: Cysticercosis, Present State of Knowledge and Perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, D. and Beltran, F. p. 107-126. Academic Press, New York, 1982.

24. Zürn, F.A.: Die tierischen Parasiten auf und in dem Körpern unserer Haussäugetiere. pp. 174-183. 2a. ed. Weiner, Alemania 1982.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

29

CUADROS
Y
FIGURAS

Cuadro 1.

NUMERO Y PORCENTAJE DE LOS CISTICERCOS EN LOS
LOS CISTICERCOS EN LOS
18 CERDOS INFECTADOS
CON HUEVOS DE *Taenia solium*.

# DE CIST.	1955	% DE CIST.	48.85
GRUPO TESTIGO		GRUPO TESTIGO	
# DE CIST.	4173	% DE CIST.	100.00
GRUPO EXPERIMENTAL		GRUPO EXPERIMENTAL	
	% DE CIST.	53.15	
	DE DIFERENCIA		

Cuadro 2.

**EFFECTO DEL INMUNOGENO EN LA
VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS**

	VIABLES	DEGENERADOS	TOTAL*	% VIABLES
	147	41	188	78.19
	112	82	194	57.73
GRUPO	178	18	196	90.82
EXPERIMENTAL	193	10	203	95.07
	130	0	130	100.00
	292	52	344	84.88
	147	14	161	91.30
	535	4	539	99.26
Total	1734	221	1955	88.70
Promedio	216.75	27.63	244.38	88.70
± D.S.	140.02	28.38	134.45	104.15
	586	0	586	100.00
	607	0	607	100.00
GRUPO	282	0	282	100.00
TESTIGO	632	8	640	98.75
	611	0	611	100.00
	478	3	481	99.38
	376	0	376	100.00
	583	7	590	98.81
Total	4155	18	4173	99.57
Promedio	519.38	2.25	521.63	99.57
± D.S.	128.65	3.41	130.05	98.93

*Número total de cisticercos recuperados por cerdo individualmente.

Viables: Vesiculares

Degenerados: coloidales, caseosos, calcificados

D.S. = Desviación Estandar

Cuadro 3.

**DISTRIBUCION ANATOMICA PROMEDIO
DE LOS CISTICERCOS EN LOS 16 CERDOS
INFECTADOS CON HUEVOS DE *Taenia solium***

	MASET.	LENG.	DIAF.	ESPAL.	INTER.	LOMO	PIERNA
VIABLES							
CONTROLES	5.77	3.66	5.69	3.87	2.05	1.58	2.75
INMUNIZADOS	2.25	1.61	2.09	1.90	0.90	0.63	0.94
DEGENERADOS							
CONTROLES	0.05	0.00	0.00	0.01	0.00	0.03	0.03
INMUNIZADOS	0.04	0.18	0.71	0.15	0.06	0.12	0.14
TOTAL							
CONTROLES	5.82	3.66	5.69	3.88	2.05	1.61	2.78
INMUNIZADOS	2.29	1.79	2.80	2.05	0.96	0.75	1.08

VIABLES = VESICULARES.

DEGENERADOS = COLOIDALES, CASEOSOS Y CALCIFICADOS.

Cuadro 4.

PORCENTAJE DE CISTICERCOS DE
Taenia solium
EN LA MASA MUSCULAR CON RESPECTO AL NUMERO TOTAL
DE LOS 16 CERDOS

	MASET.	DIAFRAG.	ESPAL.	LENGUA	PIERNA	INTER.	LOMO
GRUPO TESTIGO	22.83	22.32	15.22	14.35	10.91	8.04	6.31
GRUPO EXPERIMEN	19.54	23.89	17.49	15.27	9.21	8.19	6.4

EL 100% CORRESPONDE A:

GRUPO TESTIGO 4173

GRUPO EXPERIMEN 1955

Cuadro 5.

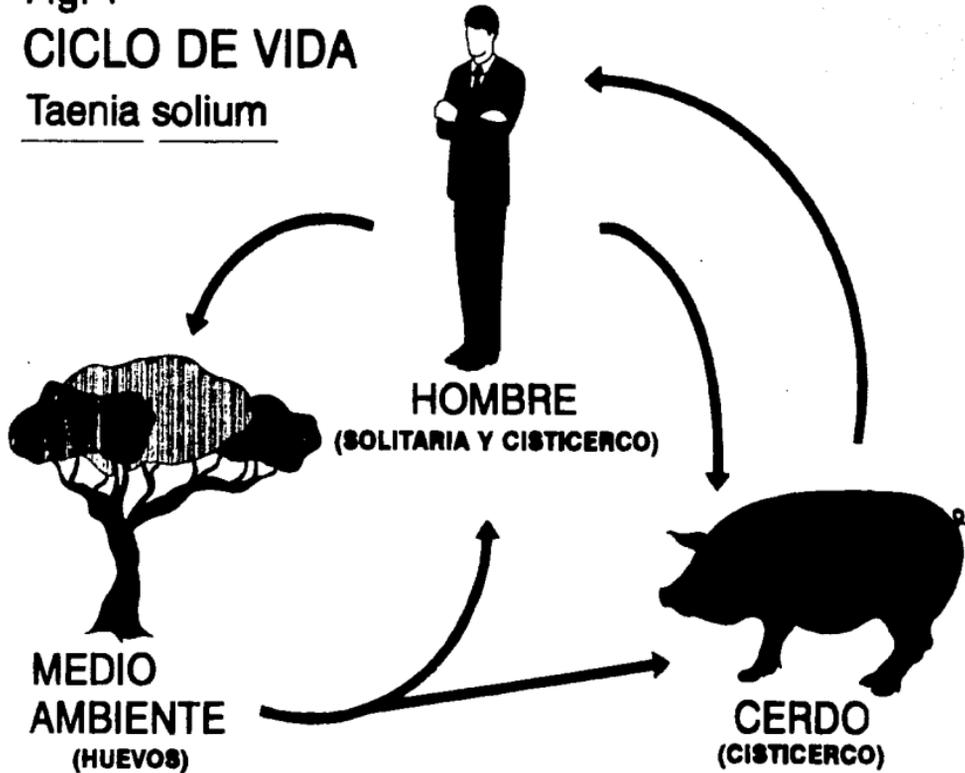
**DETECCION DE ANTICUERPOS ANTI-CISTICERCO
DE CERDO EN CUATRO SANGRIAS (D.O. ELISA)**

	1er. NO VAC./NO DES.	2do. VAC./NO DES.	3er. VAC./DES.	4to. VAC./DES.
GRUPO EXPERIMENTAL	0.028	0.035	0.981	1.216
	0.022	0.034	0.939	0.770
	0.022	0.112	0.232	0.980
	0.021	0.024	0.596	0.574
	0.062	0.117	1.188	1.195
	0.041	0.041	0.887	0.908
	0.028	0.108	0.657	0.372
	0.015	0.115	1.210	1.288
PROMEDIO ± D.S.	0.030	0.073	0.836	0.913
	0.015	0.043	0.328	0.326
GRUPO TESTIGO	0.025	0.021	0.349	0.381
	0.023	0.016	0.178	0.959
	0.013	0.019	1.086	1.325
	0.018	0.026	0.410	0.801
	0.014	0.015	2.060	0.597
	0.024	0.021	0.786	1.283
	0.018	0.016	0.574	1.692
	0.022	0.017	0.137	0.618
PROMEDIO ± D.S.	0.020	0.019	0.698	0.957
	0.005	0.004	0.635	0.444

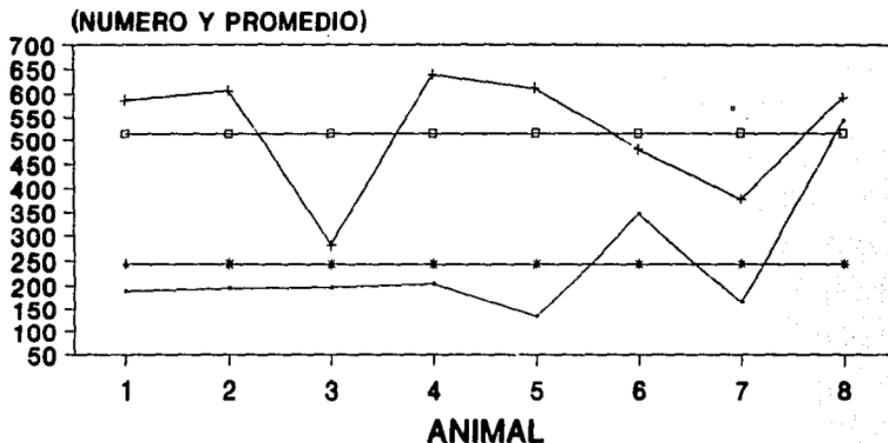
GRUPOExperimental: inmunizado con adyuvante completo de Freund + antígenos de *T. crassiceps* v/v

Testigo: inmunizados con adyuvante completo de Freund + solución salina v/v

Fig. 1
CICLO DE VIDA
Taenia solium



**Fig. 2 CARGA PARASITARIA
EN NUMERO Y PROMEDIO TOTAL DE
CISTICERCOS EN LOS 16 CERDOS**



---*--- GRUPO EXPERIMENTAL

—+— GRUPO TESTIGO

-*- PROMEDIO G. EXP.

—□— PROMEDIO G. TES.

Fig. 3 PORCENTAJE DE VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS EN EL GRUPO EXPERIMENTAL

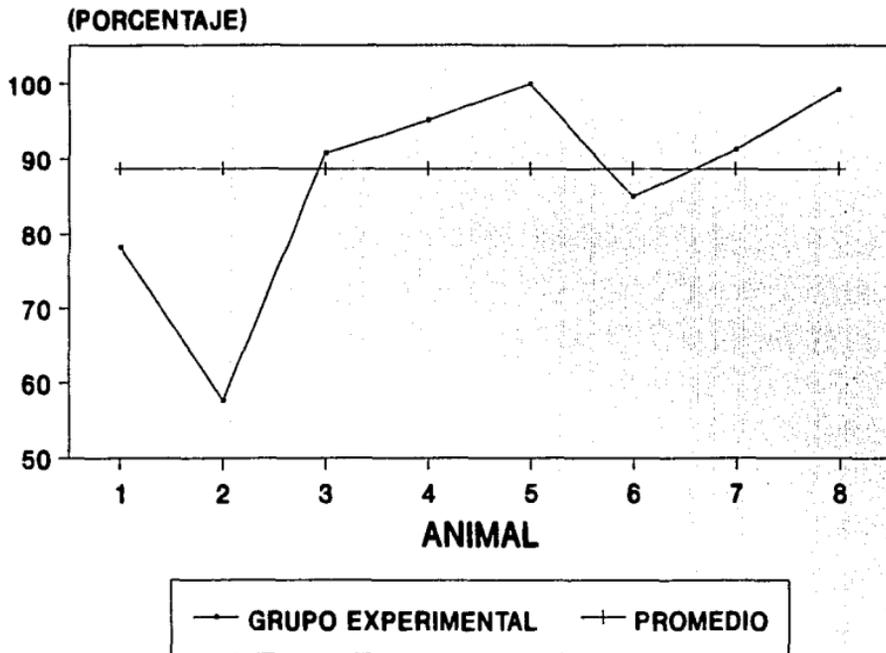
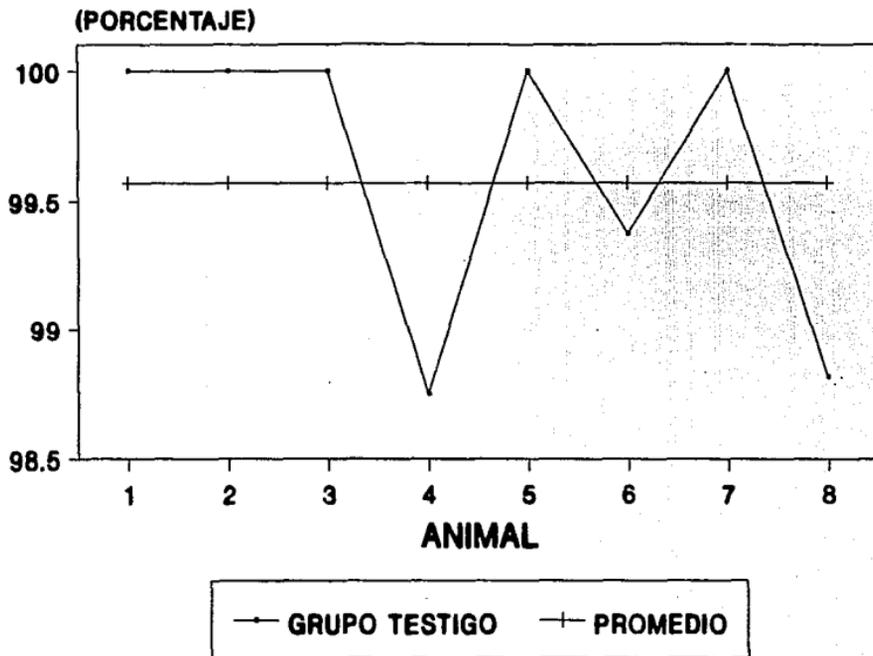


Fig. 4 PORCENTAJE DE VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS EN EL GRUPO TESTIGO



**Fig. 5 DISTRIBUCION DE CISTICERCOS
EN TOTAL EN LAS REGIONES MUSCULARES
DE LOS 16 CERDOS**

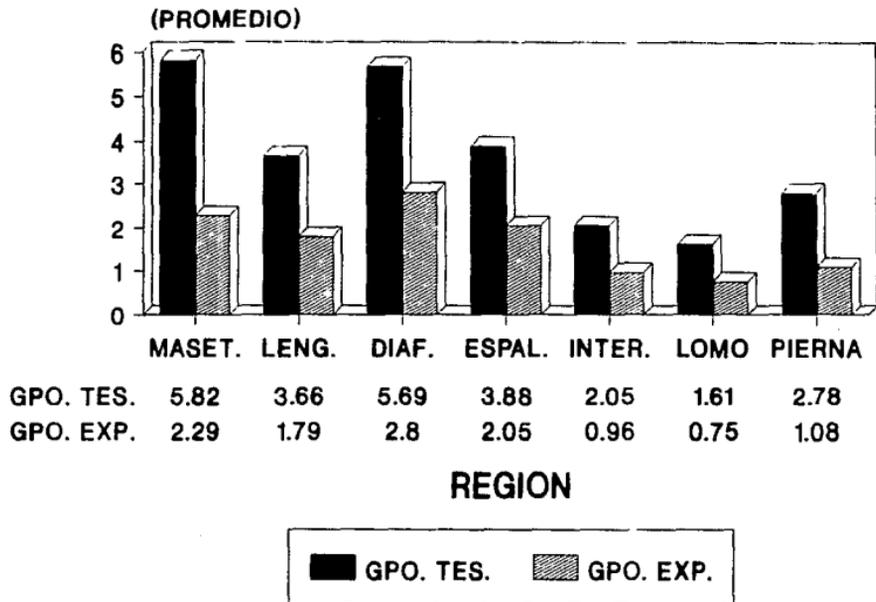
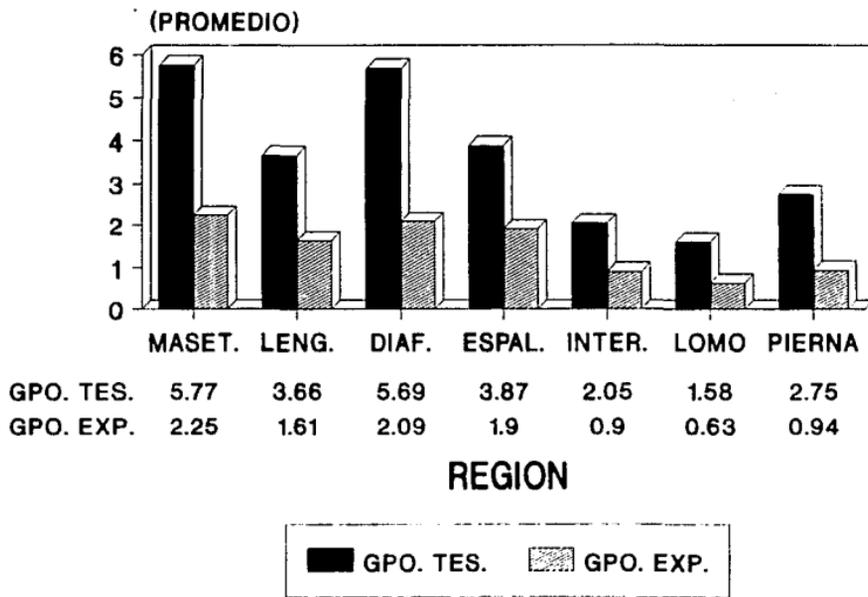
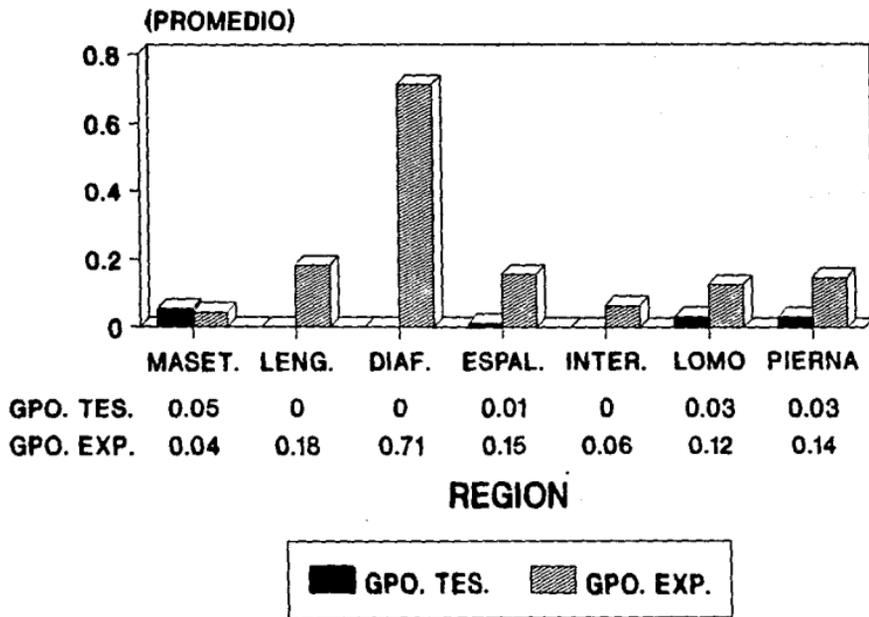


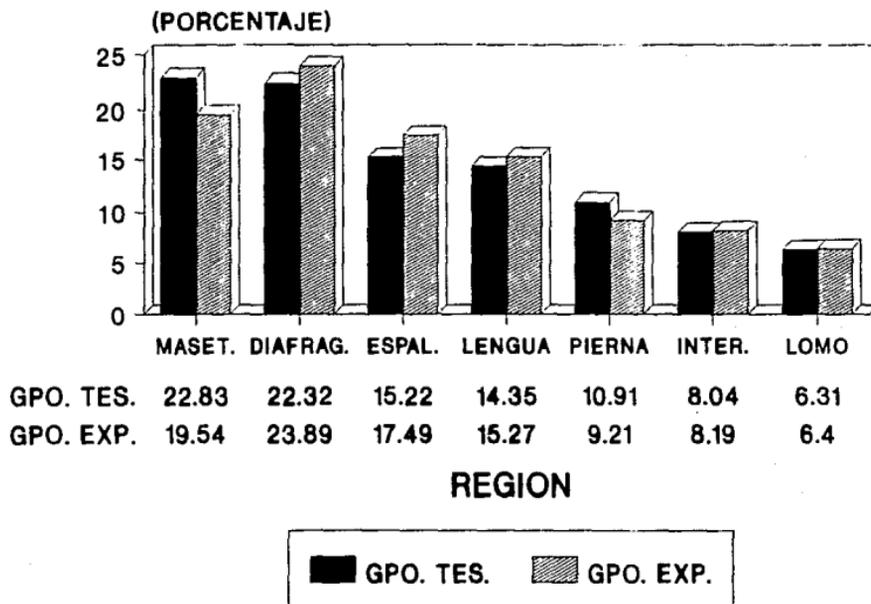
Fig. 6 DISTRIBUCION DE CISTICERCOS VIABLES EN LAS REGIONES MUSCULARES DE LOS 16 CERDOS



**Fig. 7 DISTRIBUCION DE CISTICERCOS
DEGENERADOS EN LAS REGIONES MUSCULARES
DE LOS 16 CERDOS**



**Fig. 8 PORCENTAJE DE CISTICERCOS
EN LAS REGIONES MUSCULARES
DE LOS 16 CERDOS**



**Fig. 9 PROMEDIO DE ANTICUERPOS
ANTI-CISTICERCO DE LOS 16 CERDOS**

