



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"Efecto sobre los metacestodos *Cisticercus*
cellulosae de una vacuna de péptidos sintéticos
aplicada a cerdos".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :

Gabriela Nava Balderas.



Director de Tesis: M.V.Z. Alicia Schunemann de Aluja



2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Efecto sobre los metacestodos *Cisticercus cellulosae* de una vacuna de péptidos sintéticos aplicada a cerdos"

realizado por la Srita. Gabriela Nava Balderas.

con número de cuenta 9406385-3 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario

MVZ. Aline Schunemann de Aluja

Aline S. de Aluja

Propietario

Dra. Edda Sciutto Conde

Edda Sciutto Conde

Propietario

Dr. Agustín Plancarte Crespo

Plancarte

Suplente

M. en C. Isabel Cristina Cañeda Guzmán

Cañeda

Suplente

Dra. Gladis Fragoso Glz

Gladis Fragoso

Consejo Departamental de Biología

[Firma]
 M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIVERSIDAD DE BSENANZA DE BIOLOGIA

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de la MVZ. Aline S. de Aluja, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, bajo la asesoría de la MVZ. Aline Schunemman de Aluja.

Este trabajo de tesis fue financiado por PAPIIT, clave de proyecto IN206301. "Inmunoterapia contra la cisticercosis utilizando el péptido sintético GK1".

La alumna Gabriela Nava Balderas con número de cuenta 9406385 – 3 recibió beca, clave del proyecto IN206301

Dedicatorias

A mis padres por todo su cariño y comprensión.
Por toda la ayuda brindada, por la libertad y confianza que siempre me han dado.
Pero sobre todo por su apoyo incondicional.

A mis hermanos Teresa, Enrique y Daniel, por los momentos compartidos, por las risas, juegos, alegrías y hasta corajes que nos han envuelto. Por ser parte de mi vida.

A todos mis tíos, los que están y no están. A Elena, a Rogelio, a Alicia y a las Guadalupe.
A mis lindos primitos Luisito, Huguito, Jessy, Mary y Pepe.

A mis amigos – hermanos que he topado en el camino recorrido y han compartido momentos únicos. Daniel, Edgar, Mario y Aldo. Gracias por darle sentido a la vida.

A los guerreros y guerreras que le dieron el toque mágico a la carrera: Cynthia, Maripili, Anidia, Lucy, Vanessa, Rodrigo, Lalo, al amigo Juan, Arturo, Leonardo, Irán, Sergio, y demás que se me pasaron pero no por eso no son importantes.

A mis amigos que conservo del CCH, Marco y David

Y todo lo poco o mucho que hago es para el ser más lindo e importante ...

Para ti Naty

Agradecimientos

A la Dra. Aline S. de Aluja por la oportunidad brindada, por permitirme ser parte de su laboratorio e integrarme a su equipo de trabajo, por su apoyo incondicional, su paciencia, enseñanzas, por haberme permitido conocerla en el ámbito profesional y sobre todo por la confianza dada.

A la Sra. Isabel Aguilar por su tiempo y disposición, por su ayuda a la más mínima duda y por la amistad brindada.

A la técnica Maribel Nieto, por su amistad y confianza, por la ayuda técnica y personal, por sus valiosos consejos y por todo el tiempo compartido.

A la MVZ Nelly Villalobos por las enseñanzas, consejos, jaladas de orejas, por integrarme al laboratorio y al trabajo que en el se realiza, por el apoyo brindado, por su confianza, por permitirme conocerla no solo en el ámbito profesional sino también en el personal, por compartirme sus conocimientos y anécdotas, pero sobre todo por ser especial y única .

Al Dr. José Juan Martínez Maya por su ayuda y asesoría en el análisis estadístico de este trabajo. Al Físico Martín Alarcón por su amistad, tiempo, paciencia y ayuda en el análisis estadístico.

Al Dr. Agustín Plancarte por los comentarios realizados a este trabajo, por su apoyo, tiempo y conocimientos compartidos.

Al Sr. Aureliano García por su ayuda incondicional en las necropsias de los cerdos utilizados.

Al Sr. Virgilio Nava por el cuidado de los animales empleados en este trabajo.

Y a todos los que estuvieron presentes en las necropsias de los cerdos y facilitaron la obtención de los cisticercos de cada uno de ellos.

INDÍCE

I. Resumen	2
II. Introducción	3
I.I Clasificación	4
I.II Ciclo biológico	4
I.III Morfología	8
I.IV Antecedentes	14
II. Hipótesis	19
III. Objetivos	19
III.I Metas	19
IV. Material y Métodos	20
V. Resultados	22
VI. Discusión	28
VIII. Conclusión	30
IX. Referencias	31

Resumen

Las larvas de *Taenia solium* en el sistema nervioso central del hombre originan la neurocisticercosis (NC). La NC es una enfermedad degenerativa que puede ocasionar la muerte. En el cerdo, la cisticercosis (larvas de *T. solium* en los tejidos extracerebrales), es relevante por ser este huésped un eslabón en el ciclo biológico de *T. solium*, además de ocasionar pérdidas económicas a los poricultores, por el decomiso de la carne infectada.

Se han utilizado diversas vacunas contra la cisticercosis porcina, su eficacia se informa como el porciento (%) de protección. El % de protección es el cociente obtenido del número de huevos infectivos entre los establecidos. Sin embargo, no se sabe si los cisticercos establecidos se encuentran dañados y por lo tanto incapaces de sobrevivir en su siguiente huésped. Con la finalidad de analizar este punto se utilizaron cisticercos de cerdos vacunados y tratados con SP₃vac y cisticercos de cerdos tratados con GK1. Los cisticercos de los diferentes grupos fueron colocados en solución salina al 0.85 % y bilis de cerdo durante 24 horas a 37 °C para conocer su porcentaje de evaginación, otros parásitos fueron inoculados en hámsters para conocer el porcentaje de desarrollo a tenias. Los resultados indicaron que los cisticercos obtenidos de los cerdos tratados con SP₃vac se tuvieron un 38% de evaginación y un 22 % se desarrollaron al estadio de tenia. Cuando estos datos se analizaron por la prueba estadística de formación de escenarios mostraron un 0.0004 de probabilidad de que alguno de estos cisticercos llegue a la fase de adulto, es decir 4 cisticercos de 10,000.

Los cisticercos recuperados de los cerdos tratados con GK1 y vacunados con SP₃vac no mostraron ninguna diferencia con los controles. Los métodos empleados para analizar la viabilidad de los cisticercos recuperados, nos permitió analizar de forma más eficaz el efecto de los inmunógenos en los cerdos.

I. INTRODUCCION

La cisticercosis porcina, una zoonosis parasitaria, se caracteriza principalmente por la infección de los músculos y del sistema nervioso central del cerdo por el estado larvario de *Taenia solium* (1). Esta parasitosis fue conocida desde la antigua Grecia, donde se observó primero la forma larvaria antes de la forma adulta. Los primeros indicios médicos que se tienen sobre esta enfermedad, son del año 460 a.C. comunicados por Hipócrates.

Aristófanes y Aristóteles describieron las formas larvianas en la lengua del cerdo (2), además Aristóteles señaló la presencia de cisticercos en las masas musculares del cerdo, mencionando: "*los cerdos con la carne blanda tienen vejigas que son como copos de granizo en la región de muslos, cuello y lomos, estas son las zonas en que normalmente aparecen. Si son pocos la carne es magra; si son muchos la carne se vuelve blanda y rellena de fluido seroso. A los cerdos que sufren esta enfermedad se les reconoce con facilidad, las vejigas pueden verse en la superficie interna de la lengua donde son particularmente abundantes*". Llama a estos cerdos "leprosos" y afirma que el cerdo es el único animal que presenta ésta enfermedad (2,3). Tristote realizó también una descripción de éstas formas larvianas en las fibras musculares del cerdo (2).

Se cree que Moisés prohibió a los hebreos el consumo de la carne de cerdo por la presencia del metacéstodo (3). En el Córán se encuentran algunas indicaciones higiénicas orientadas a la prevención y sanidad, como son el aseo de manos y el uso de arena limpia para la deposición de las heces. Posteriormente al pueblo judío se les prohibió el consumo de *carne mortea, sangre derramada o carne de cerdo*, la cual fue considerada como una suciedad (4).

En el primer siglo de la Era Cristiana, Plínico y Columela hacen referencia a éste parásito. En el año 1000 d. C., un árabe, Jbn Sena describe la forma adulta junto con otros parásitos humanos (2). En 1550 Paranoli es el primero en describir la presencia de los metacéstodos en el hombre. En 1558 Rumler y Gessner publican el primer caso de neurocisticercosis, encontrando a un metacéstodo alojado en la dura madre del cerebro de un epiléptico (5).

El nombre de "*cisticercus*" proviene de las palabras griegas "*kystic*" y "*kercos*" que significan vejiga y cola, respectivamente y fue dado por Laennec. Rudolphi lo sobrenombro "*cellulosae*" por su gran afinidad por el tejido conectivo (5).

En 1683 Redi fue el primero en relacionar los conocimientos que se tenían sobre este céstodo y precisó que el cisticerco era la etapa larvaria de *Taenia solium* (6). En el siglo XVIII, Linneo clasifica a la forma larvaria como *Cisticercus cellulosae* y a la forma adulta como *Taenia solium*, tomando a la etapa larvaria como un individuo distinto de la forma adulta (7). Hacia 1853 P. J. Van Beneden da a conocer la relación existente entre los estadios de este céstodo. (2). Vosgien, Van Beneden, Haubner, Leuckart entre otros, empezaron a producir cisticercos en los cerdos dándoles a comer proglotidos grávidos de *T. solium*. Sin embargo, no fue hasta 1856 que Kuchenmeister comprueba y establece el ciclo biológico del parásito al darle de comer cisticercos a un condenado a muerte para corroborar la presencia del céstodo en su intestino delgado (6).

En México y el resto de América Latina, el cisticerco de *T. solium* fue conocido en la época de la conquista, cuando los españoles introdujeron al cerdo. Los naturales del territorio mexicano le dieron el nombre de *zahuatl* que significa "grano" (3) y hasta la fecha se ha conservado este nombre en algunas partes del país (8).

I.I Clasificación

Subreino: *Metazoarios*, Phylum: *Plathelminthos*, Clase: *Cestoidea*, Subclase: *Cestoda*, Orden: *Cyclophyllidea*, Familia: *Taeniidae*, Género: *Taenia*
Especie: *Taenia solium* (9)

I. II Ciclo biológico

Son parásitos obligados carentes de aparato digestivo y circulatorio, su ciclo es indirecto con la intervención de dos hospederos, uno definitivo para la fase adulta y el otro intermediario o provisional para la fase larvaria (10).

La forma adulta se conoce comúnmente como tenia o solitaria. Se trata de un endoparásito alojado en el yeyuno del ser humano (11), el único portador u hospedero natural de la forma adulta (12). Este céstodo crece mediante un proceso llamado estrobilación, en el cual los segmentos más distales al escolex son desprendidos del resto del parásito y son conocidos como proglotidos maduros y grávidos (13); se dice que cada

protolito contiene alrededor de 30 a 50 mil huevos en su interior, los cuales son arrojados al ambiente mediante la excreción de la materia fecal del hospedero (14).

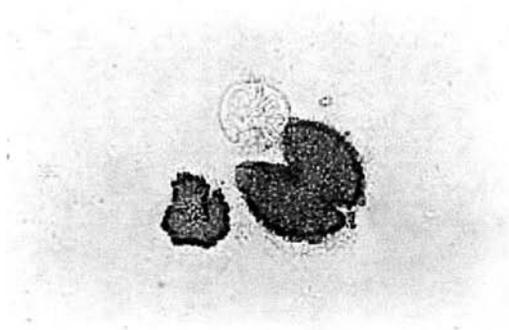


Figura 1. Se observa la liberación de una oncosfera de *Taenia spp.* de sus capas envolventes.

El hombre al comer carne de cerdo cruda o insuficientemente cocida con metacistos, desarrolla la teniosis. La larva en el intestino delgado es activada por las enzimas digestivas y jugos biliares, ocasionando su evaginación (15) y permitiendo la sujeción del roseto con sus ganchos y ventosas a la pared intestinal. Una tenia adulta e infectiva se desarrolla de 5 a 12 semanas después de la infección (16) (Figura 2). El hombre es el único hospedero natural de la forma adulta infectiva. Se han logrado desarrollar tenias inmaduras mediante la inmunosupresión en hámsteres y en chinchillas gusanos infectivos (17).

El hombre y el cerdo consumen los huevos del parásito en forma accidental, por contaminar éstos sus alimentos y bebidas (11). Los huevos al pasar por el tracto digestivo son activados por enzimas proteolíticas y el jugo biliar (15), transformándose en oncosferas (embriones liberados) (figura 1). De esta forma llegan al intestino delgado penetrando la mucosa para alcanzar al sistema circulatorio y linfático, el cual se encarga de distribuirlos a las masas musculares y al sistema nervioso central principalmente (11), donde se instalan en forma de metacístodos o cisticercos (18). En los cerdos infectados experimentalmente después de tres a cuatro meses de la ingestión de los huevos se puede observar la presencia de los cisticercos en sus tejidos (6). En algunas ocasiones los

metacéstodos se encuentran en el hígado (19), en el ojo, en los ganglios y en el tejido subcutáneo (12, 20).

El cerdo es el huésped intermediario más frecuente en este ciclo, probablemente por el consumo de su carne, pero se han encontrado larvas de *T. solium* en jabalíes, perros, gatos, ratas, monos, ovejas y ciervos (21). En el hombre se instalan preferentemente en el sistema nervioso central donde pueden ocasionar graves trastornos clínicos, causando el padecimiento que comúnmente se denomina neurocisticercosis (22).

El metacéstodo es conocido e identificado en muchos pueblos, comunidades y poblaciones de la República Mexicana (18), así como en países de América Central y América del Sur (18, 23, 24), países de Europa (25) Asia y de Africa (26) donde se consume la carne de cerdo. En últimas décadas, en los países desarrollados donde se tenía controlada esta parasitosis, se han detectado casos recientes, por lo que se considera como una enfermedad reemergente (25, 27).

En la República Mexicana el parásito es conocido con diversos nombres, tales como: zahuate, grano, granillo, granizo, tomate, tomatillo, tomallo, alegría, ladilla, alfilerillo, fresilla, sapo, sapillo, viruela, laceria por citar algunas (1, 3, 8), actualmente es denominado metacéstodo de *Taenia solium*.

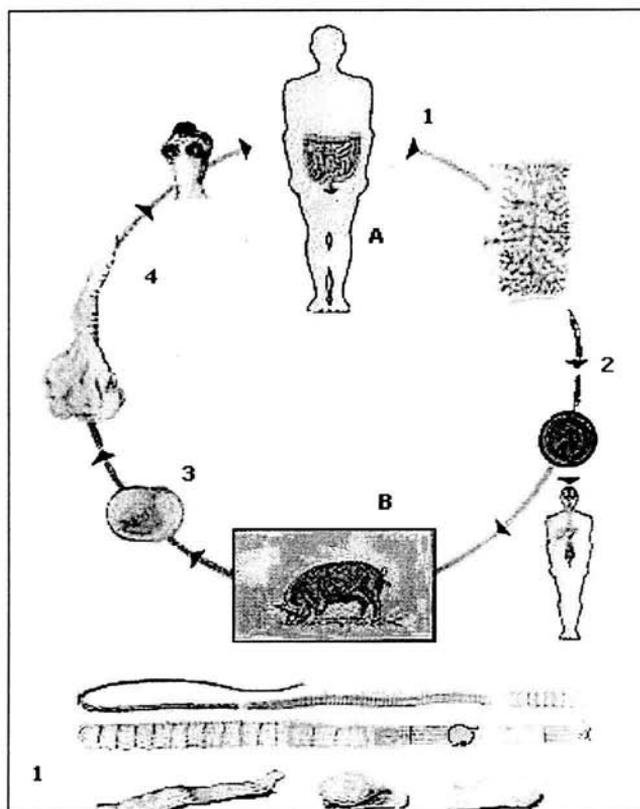


Figura 2. Ciclo biológico de *Taenia solium*.

El ciclo biológico de *T. solium* es indirecto debido a la presencia de dos hospederos, uno intermedio para la etapa larvaria (B) que en este caso es el cerdo y el hospedero definitivo para la forma adulta (A), el hombre.

1) La forma adulta o solitaria se encuentra en el intestino delgado del hombre, ésta crece y libera segmentos llamados proglotidos llenos de huevos en las heces del portador. 2) Los huevos quedan expuestos en el ambiente y de forma accidental pueden llegar a ser consumidos por el hombre causándole neurocisticercosis. El cerdo es un coprófago natural e ingiere las heces contaminadas. Las capas que recubren a los huevos son desintegradas y dejan expuestos a los embrioforos, los cuales son activados para liberar a las oncosferas, éstas logran penetrar la mucosa intestinal y viajar vía sanguínea y linfática para distribuirse en las masas musculares, tejido conectivo y SNC para desarrollarse a la etapa larvaria, cisticerco. 3) El hombre ingiere carne de cerdo cruda o mal cocida

infectada con cisticercos. 4) El cisticerco es activado por las enzimas digestivas y jugos biliares provocando la evaginación de su escolex para su fijación en la pared intestinal y desarrollarse a tenia (9).

I. III Morfoiogia:

Morfológicamente los metacéstodos de *Taenia solium* tienen una forma vesiculosa y monocefálica, formada por un escolex invaginado, rodeado de un líquido semitransparente (10). El pequeño escolex del metacéstodo al igual que el de la tenia, esta armado con una doble corona de ganchos y cuatro ventosas. El escolex del metacéstodo se encuentra rodeado por tejido conectivo y muscular, formando el canal espiral y el canal de entrada, que darán origen al cuello y el estrobilo de la tenia (7). La membrana que separa a metacéstodo del hospedero es un tegumento citoplásmico y sincicial, presenta prolongaciones digitiformes llamadas microticas o microvilli que permiten la adsorción de diversas moléculas como los nutrientes (28) (Figura 3).



Figura 3. Corte histológico de un metacéstodo de *Taenia solium* teñido con H - E. Se observa la membrana vesicular que rodea a la larva, el canal de entrada, el canal espiral; en el centro el escolex invaginado en el cual se logran apreciar los ganchos.

Existen descritas cuatro etapas de evolución de los metacéstodos que definen distintos aspectos macroscópicos, interpretándose como fases secuenciales en forma natural en los hospederos intermediarios:

- a) Etapa vesicular o quística: Es la etapa más temprana reconocible, el parásito tiene una membrana traslúcida bien definida, está lleno de líquido claro y transparente, con el escolex invaginado en su interior. Los tejidos que alojan a la larva en esta etapa no muestran cambios morfológicos importantes.
- b) Etapa coloidal. Se observa que la membrana de la vesícula está engrosada y se ha formado una cápsula de tejido conectivo, en esta etapa se observan dos membranas, una por parte del metacéstodo y otra por parte del hospedero; el contenido deja de ser líquido transparente y adopta el estado de una sustancia gelatinosa blanquecina de aspecto hialino, el escolex aún puede ser identificado en el interior.
- c) Etapa nodular granular. El cisticerco aparece en forma de nódulo reducido encapsulado, su contenido es totalmente opaco y el escolex no es reconocible como tal, confundiéndose con el resto del contenido del nódulo.
- d) Etapa nodular calcificada. Solo es distinguible un nódulo totalmente calcificado envuelto en una cápsula de tejido conectivo de espesor variable. (11, 29)

La forma adulta de *Taenia solium* mide usualmente de 2 a 3 metros de longitud con 800 a 1000 segmentos (proglotidos), aunque se han reportado tenias de hasta 7 metros (30). Es un parásito intestinal con un cuerpo aplanado dorsoventralmente de color blanco – amarillento o gris claro, consta de tres regiones: (Figura 4)

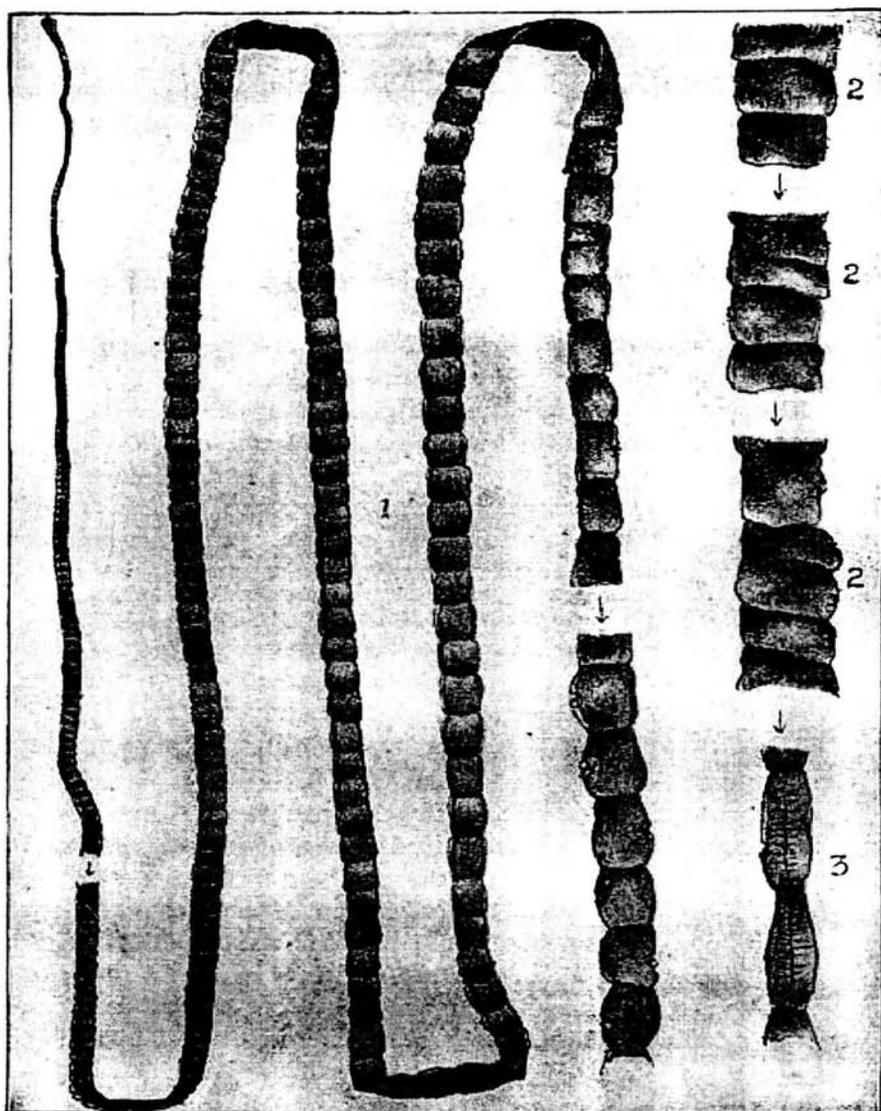


Figura 4. Imagen de una tenia adulta. En la parte izquierda superior se encuentra el escolex del tamaño de la cabeza de un alfiler, seguido por el cuello que da continuidad al estrobilo, este último se diferencia por el grado de maduración de los segmentos o proglotidos. La parte señalada con el número 2 muestra a los segmentos jóvenes y maduros, a partir de la parte marcada con el 3, a los proglotidos grávidos. (31)

- El escolex que es la región anterior consta de un rostelo armado con una doble corona de ganchos (22 – 26) y cuatro ventosas, forman el sistema de sujeción.
- El cuello se encuentra inmediatamente después del escolex, es de tamaño muy pequeño y se caracteriza por ser una zona de crecimiento vegetativo porque contiene células germinales que dan origen a la formación de proglótidos jóvenes e indiferenciados.
- El estrobilo se caracteriza por ser la zona más larga del cestodo y está formado por todos los proglótidos de la tenia. En la parte anterior se localizan los proglótidos jóvenes o inmaduros y en la parte media hacia la zona distal (con referencia al escolex) se encuentran los maduros y grávidos, respectivamente.

Cada proglótido es una unidad "independiente" reproductivamente hablando, ya que en cada segmento se presentan estructuras reproductoras masculinas y femeninas debido al estado monoico del parásito (13) (Figura 5).

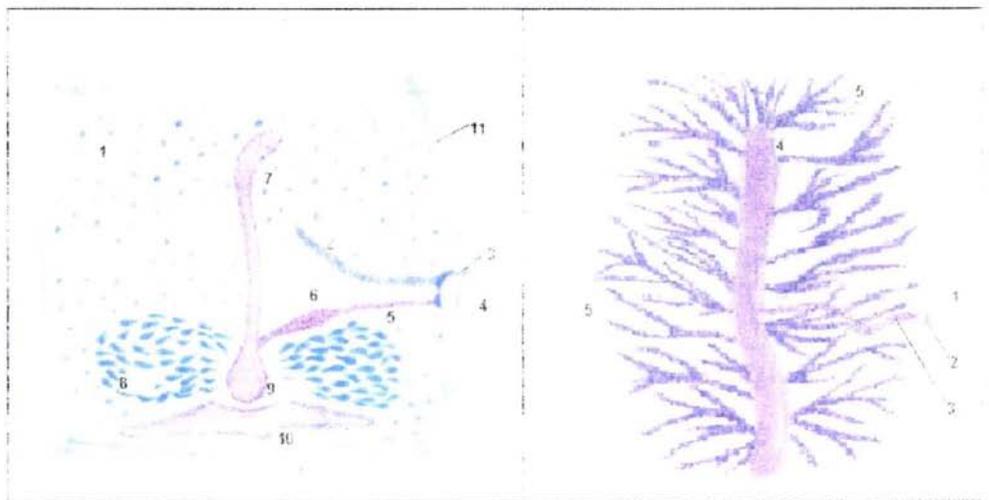


Figura 5. a). Estructura de un segmento maduro de *Taenia sp.*

1. Testículos. 2. Espermiducto. 3. Bolsa del cirro. 4. Poro genital. 5. Vagina. 6. Reservorio seminal. 7. Útero. 8. Ovario. 9. Glándula de Mehlis (ootipo). 10. Viteloducto. 11. Sistema osmorregulador.

Figura 5. b). Estructura de un segmento grávido de *Taenia solium*.

1. Poro genital. 2. Bolsa del cirro. 3. Espermiducto. 4. Utero. 5. Ramas uterinas con huevos (9)

Al tratarse de un parásito hermafrodita, se cree que la fertilización de los huevos se lleva a cabo cuando los oocitos maduros salen del ovario y se localizan en el ootipo, una estructura que se comunica con la vagina. Los numerosos testículos se unen por medio de los conductos deferentes para formar un ducto espermático que a su vez se diferencia finalmente en un cirro, estructura "copuladora" que desemboca en el poro genital donde también se encuentra conectada la vagina con un receptáculo seminal unido al ootipo, donde tiene lugar la fecundación (30).

Los huevos contenidos en los proglotidos maduros y grávidos se encuentran en diferentes grados de maduración, ya que no todos los huevos son viables, se dice que algunos pueden madurar varias semanas o meses después de ser liberados y permanecer viables en aguas negras, ríos o pasturas (32, 33).

Los huevos están formados por varias capas, la más externa es la cápsula, le sigue una membrana sub - capsular, después se localiza la capa vitelina, el embrióforo, la membrana oncosférica y finalmente la oncosfera provista de seis ganchos (15), es posible que gracias a todas estas envolturas los huevos presentan una gran longevidad y resistencia al ambiente (Figura 6).

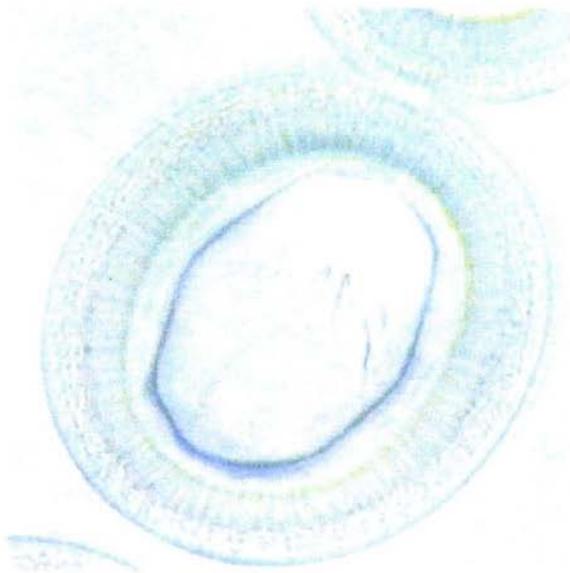


Figura 6. Huevo de *Taenia sp.* (34).

En esta fotografía se observan todas las capas que cubren a la oncosfera, así como los ganchos característicos del huevo de *Taenia solium*.

El estadio adulto de *Taenia solium* se caracteriza por tratarse de organismos aceiomados (35) que no presentan aparato digestivo ni circulatorio, sin embargo se observa una gruesa capa externa que cubre todo el cuerpo del cestodo y recibe el nombre de tegumento; la cual microscópicamente está formada de microtricos, prolongaciones celulares utilizadas para la absorción.

El sistema osmorregulador o excretor está constituido por dos canales dorsolaterales y dos ventrolaterales, conectados por un canal transversal en el extremo posterior de cada proglótido. Se forman canales secundarios que terminan en células flama. El líquido colectado por estas células es lanzado a los tubos de mayor calibre para llegar al exterior en el último proglótido (13).

El centro nervioso se encuentra en el escolex formado por un ganglio, de donde se originan dos troncos que se extienden a lo largo del estróbilo y otros dos pequeños troncos inervan el escolex (13).

I. IV Antecedentes

La importancia de esta zoonosis, radica en que el ser humano es el hospedero intermediario accidental (14) debido a la ingestión de huevos de *T. solium* que se puedan encontrar en frutas, verduras, legumbres, bebidas y otros alimentos contaminados. El fecalismo a ras de suelo es el principal factor para la contaminación del medio. El riego de cultivos con aguas negras, la fertilización de las tierras con materia fecal humana, y la falta de higiene personal y alimenticia, son las causas más frecuentes para estar en contacto con los huevos del parásito y ser infectados por ellos (36). En el caso del ser humano los cisticercos que se alojan en el sistema nervioso central ocasionando la neurocisticercosis, padecimiento clínicamente muy heterogéneo debido a la sintomatología inespecífica de quien lo padece (22). En el período de 1946 a 1979, de 21,597 autopsias realizadas en el Hospital General de México, se encontró a la neurocisticercosis en un 2.9% de ellas con historia de manifestaciones clínicas así como de casos asintomáticos (14). Los síntomas clínicos en las formas activas de este padecimiento son muy variables, dependiendo de la combinación de factores como: la topografía de las lesiones (ya sea en parénquima cerebral, en espacios subaracnoideos o en ventrículos), la intensidad de la respuesta inflamatoria, el número y grado de viabilidad de los parásitos (37).

La cisticercosis del sistema nervioso central es la enfermedad más importante de las enfermedades neurológicas humanas de origen parasitario y es una de las principales causas de epilepsia, originando graves consecuencias físicas, sociales y psicológicas en quien la padece y en sus familiares (38).

En México recientemente las estadísticas oficiales informan de un promedio anual de 500 casos de cisticercosis con una tasa nacional cruda de 0.6 por 100 mil habitantes; no se registran diferencias por sexo y los grupos de edad de los pacientes más afectados van desde los 15 a los 44 años (39); sin embargo, las estadísticas de la SSA no capturan todos los casos debido a que muchos de ellos no son diagnosticados.

En 1993 la Organización Mundial de la Salud, catalogó a *Taenia solium* como un parásito potencialmente erradicable por las siguientes razones: a) su ciclo de vida necesita del hombre como único hospedero definitivo, b) las tenias adultas son la única fuente de infección de los cerdos (hospedero intermediario), c) se puede controlar la transmisión del parásito de los cerdos a las personas, y d) no se han encontrado reservorios de la forma adulta en especies silvestres (38).

La teniosis y la cisticercosis son enfermedades parasitarias controlables y previsible mediante acciones conjuntas de los sectores público, social y privado, ya que se puede ofrecer información educativa al respecto en conjunto con una vigilancia epidemiológica eficaz; la atención médica oportuna y adecuada, la verificación sanitaria eficiente de la carne en los rastros, la dotación de agua potable entubada en las localidades y la disposición sanitaria de las excretas, evitando el riego de sembradíos hortofrutícolas con aguas negras y promoviendo la educación para la salud de los manejadores y expendedores de alimentos (40).

Los programas de control y desparasitación para la Teniosis – Cisticercosis, consisten en aplicar tratamiento masivo con una dosis de praziquantel (10 mg/kg de peso) a los habitantes de comunidades endémicas y darles pláticas de educación para la salud (39). Sin embargo en ciertas comunidades hay gente que prefiere la carne contaminada con los metacéstodos por su "especial sabor" (8), impidiendo que las medidas preventivas y la erradicación mediante la concientización de las personas sean eficientes, debido a las costumbres, hábitos y demás aspectos culturales que prevalecen en una población.

Por otra parte se han detectado casos de NCC en personas que viven en ciudades o poblaciones no endémicas, asociando el riesgo de contagio debido al contacto de residentes e inmigrantes de áreas endémicas que trabajan como empleados domésticos y son portadores de una tenia y en menor grado el turismo originario de pueblos endémicos (30, 41).

Por todo lo anterior, numerosos grupos de investigación han trabajado en la elaboración de una vacuna eficaz y económicamente accesible que evite la implantación de las oncosferas.

En 1983 Molinari y col. vacunaron a cerdos con un extracto crudo de cisticercos obtenidos de cerdos infectados naturalmente, los cuales fueron desafiados vía oral con 8400 huevos de *T. solium*. Las necropsias de estos cerdos consistieron en un examen macroscópico de sus tejidos y órganos; realizaron también un estudio histopatológico de los cisticercos encontrados en el grupo inoculado y en el grupo control. Observaron que los cerdos inmunizados presentaban una menor cantidad de cisticercos y éstos se encontraban en un grado de destrucción mayor por parte del hospedero, en comparación con los cerdos del grupo control (42).

En 1990, Pathak y Gaur utilizaron antígenos de oncosferas (*excretory – secretory antigens*) para vacunar a cerdos. Encontrando un 94.9% de reducción de infección comparada con el grupo control, lo que implicó una protección positiva (43).

Otro estudio similar lo realizó el equipo de trabajo de Johnson en Australia (44), inmunizando ovejas con antígenos clonados por técnicas de biología molecular de oncosferas de *Taenia ovis*, lo cual les confirió cierta protección.

Sciutto y col. han utilizado el modelo experimental murino para desarrollar la cisticercosis con *T. crassiceps*, debido a la similitud antigénica entre los parásitos, la facilidad en el manejo de los animales empleados y la reducción del tiempo experimental. El ciclo natural de este céstodo tiene como hospederos intermedios a ratones, los cisticercos de *T. crassiceps* se alojan en la cavidad peritoneal de éstos y los cisticercos pueden reproducirse asexualmente por medio de gemación polar múltiple, lo que permite prescindir del parásito adulto, el cual se encuentra en forma natural en zorros y perros. Con este modelo se asegura una mejor manipulación de los cisticercos con menos variables por manejar. La inmunidad cruzada que presentan estos parásitos (*T. solium* y *T. crassiceps*) y lo mencionado anteriormente hacen que el modelo experimental murino sea conveniente para los trabajos de elaboración de una vacuna contra la cisticercosis porcina. (45)

Sciutto y col. utilizaron cisticercos de *T. solium* y *T. crassiceps*, lo que permitió obtener una gran cantidad de antígenos, ofreciendo la posibilidad de identificar en forma rápida y accesible cuáles del conjunto total inducían una inmunidad más eficaz (46). Gracias al análisis de Western blot de estos antígenos se observó una homología entre los céstodos, al ser reconocidos un elevado número de antígenos de *T. crassiceps* por sueros humanos y murinos positivos a *T. solium* y *T. crassiceps*, respectivamente. Inicialmente se identificaron doce fracciones diferentes de antígenos con pesos moleculares en el rango de 220 KD a 8KD, ocho de éstos causaron una disminución en la carga del parásito de *T. crassiceps* (# de larvas en cada animal) comparada con ratones no inmunizados estadísticamente significativa; de estos ocho se reevaluaron tres por presentar la mayor capacidad protectora, observando que presentaban una alta expresión en las primeras fases del establecimiento de los cisticercos (47).

En un estudio colateral, se identificaron 5 antígenos recombinantes fuertemente reconocidos por los sueros de cerdos infectados de forma experimental con huevos de *T. solium*. Los antígenos son proteínas de 56 kD (KETc1, 4, 7), 74 kD (KETc 11) y 78 kD (KETc 12). Los experimentos de vacunación en donde se emplean estos 5 antígenos

recombinantes indicaron que los de 56 KD y los de 78 KD brindaban una protección efectiva al hospedero, mientras que KETc 11 (74 KD) facilitaba en muchos casos la implantación del parásito (48).

Además se observó que KETc 7 ofreció una protección efectiva en ratones por medio de vacunación. Este antígeno consta de una secuencia de 100 aa, en el cual se encontraron varios epitopes con un índice de antigenicidad alto: Gk1, Gk2, y Gk3. Al reevaluarse estos antígenos por separado se observó que el único que confería una protección efectiva fue Gk1 en dosis de 50 µg adicionado en el adjuvante saponina (49). Por tal motivo, GK1, KETc 1 y KETc 12, se produjeron en forma sintética utilizando los procedimientos de síntesis química tradicional (50). La vacuna, *Synthetic Tri Peptide Vaccine* (S₃Pvac), fue probada en 240 cerdos (120 vacunados, 120 control) de dos comunidades rurales del estado de Puebla, México, que presentaban todas las condiciones para que los cerdos pudieran contraer cisticercosis de forma natural (cría de cerdos en forma rústica, fecalismo al aire libre, deficientes condiciones sanitarias, bajo índice de higiene personal, consumo de carne de cerdo local y ausencia de inspección sanitaria de la carne). Al cabo de 10 a 12 meses post – vacunación, se sacrificaron los animales, realizando una inspección cuidadosa de los músculos esqueléticos, lengua, corazón, masetero e hígado de cada animal. Se obtuvo un resultado positivo en la eficacia de la vacuna, ya que se encontró un menor porcentaje de prevalencia de cerdos cisticercosos y una menor cantidad de cisticercos por cerdo en los animales vacunados (51).

Analizando a S₃Pvac como vacuna y S₃Pvac y GK1 con un efecto terapéutico (ya que Almoth Wright describe que una vacuna no solo debe tener la función de prevenir contra un agente patógeno sino también debe tener la capacidad de combatirlo) se desarrolló el siguiente diseño experimental (52):

Se formaron cuatro grupos experimentales con 5 animales cada uno. A los cerdos del primer grupo (G1) se les aplicaron dos dosis de S₃Pvac a los dos y tres meses de edad desafiándolos un mes después de la segunda dosis y sacrificándolos tres meses después con el fin de conocer el efecto protector. Los tres grupos restantes de cerdos se desafiaron simultáneamente a los vacunados y los tratamientos fueron aplicados después del desafío. En el G2 se evaluó el efecto terapéutico de la vacuna; en otro grupo (G3) solo se inyectó uno de los péptidos (GK1) de la vacuna y el cuarto grupo (G4) fue tomado como control.

Los resultados indican que en el grupo control (G4) con siete meses de infección y al cual se le aplicó saponina como tratamiento, se recuperaron en un rango de 34 a 606 parásitos en su mayoría vesiculares (980 / 1039) y solo el 5.67% dañados (coloidales más caseosos).

En el grupo vacunado de tres meses de infección (G1), se determinó un rango de 7 a 545 parásitos con 9.7% de ellos dañados macroscópicamente.

Respecto al efecto terapéutico de los dos inmunógenos utilizados, S₃Pvac redujo significativamente la cantidad de parásitos esperados así como aumento a 61% el porcentaje de cisticercos dañados. El tratamiento con solo el péptido GK1 no modificó ni la cantidad ni el grado de daño de los parásitos instalados.

Con la finalidad de conocer el efecto de la inmunización con los péptidos sintéticos sobre los metacéstodos de las masas musculares de los cerdos tratados, el presente trabajo evaluó a través de pruebas *in vitro* e *in vivo* la viabilidad de los metacéstodos colectados.

II. Hipótesis

- ❖ Los metacéstodos de *Taenia solium* obtenidos de cerdos inmunizados con péptidos sintéticos mostrarán una disminución en su capacidad de evaginación y desarrollo a tenias.

III. Objetivo General

- Demostrar la capacidad de evaginación y maduración al estadio de adulto de los cisticercos de cerdos que recibieron tratamiento con S₃Pvac y Gk1

III. I Metas

- Inducir la evaginación a los cisticercos obtenidos de los cerdos con los diferentes tratamientos.
- Inducir la teniosis en hámsters con cisticercos obtenidos de los cerdos con los diferentes tratamientos.

IV. Material y Métodos

a) Obtención de los cisticercos

Los metacéstodos vesiculares fueron obtenidos de cerdos que recibieron algún tratamiento con S₃Pvac, Gk1 y animales control. Los metacéstodos hallados en grados coloidales y caseosos no fueron evaluados asumiendo que eran no viables debido al daño macroscópico presentado.

b) Prueba de evaginación (*in vitro*):

Se colocaron metacéstodos de cada uno de los cerdos en cajas de Petri con solución salina al 0.85% y con jugo biliar de cerdo en una concentración de 10 : 1 durante 24 horas en una estufa eléctrica (Riossa NOM) a 37 °C; dependiendo del grado de infección se utilizaron para evaluar la evaginación del 23 al 43% de los cisticercos vesiculares recuperados. Transcurrido las 24 horas, los cisticercos fueron retirados y lavados con agua para eliminar el exceso de bilis y se realizó una inspección minuciosa de cada uno de ellos con el fin de observar cuantos de ellos habían evaginado (Figura 6), considerándolos vivos y con la probable capacidad de convertirse a tenias en un hospedero adecuado (53, 54).

Para comparar los resultados de las evaginaciones entre los cerdos con los diferentes tratamientos se expresaron como la relación entre el número de cisticercos evaginados y el total de cisticercos inducidos a evaginación.

c) Prueba de Viabilidad (*in vivo*):

Para la prueba de viabilidad se utilizaron 62 hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*), de 6 a 8 semanas de edad de sexos indistintos; obtenidos del bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM, del bioterio del Instituto Nacional de Neurología y del bioterio del CINVESTAV del IPN, todos pertenecientes a la misma cepa (CHCM) y distribuidos en forma azarosa. Estos fueron inmunodeprimidos vía intramuscular con 80 µg de acetato de metilprednisolona (Depo – Medrol 2 mg/ml) (55), para ser inoculados a cada uno por vía oral con cinco metacéstodos. En el cuadro II se observa el número de hámsters que se ocuparon para cada cerdo y

los cerdos que no presentaron una cantidad suficiente de metacéstodos para poder llevar a cabo esta prueba.

Cuadro II. Número de hámsteres empleados para cada cerdo

# de cerdo	# hámsters empleados	# de cerdo	# hámsters empleados
Grupo 1 Vac S₃Pvac		Grupo 3 Trat GK1	
1	5	1	5
2	5	2	5
3	5	3	5
4	3	4	0
5	0	5	5
Total	18	Total	20
Grupo 2 Trat S₃Pvac		Grupo 4 Control	
1	5	1	5
2	0	2	5
3	0	3	0
4	0	4	5
5	5	5	5
Total	10	Total	20

Cada hámster fue infectado con 5 cisticercos

Todos los roedores fueron alojados en un anexo de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, se mantuvieron en condiciones controladas en el mismo espacio y tipo de alimento, y al cabo de un mes post – inoculación se les practicó la eutanasia.

La necropsia consistió en realizar una inspección cuidadosa del intestino delgado de cada roedor en búsqueda de tenias.

Los datos obtenidos de las pruebas *in vitro* e *in vivo* fueron analizados mediante el programa Epi Info 6 Version 6.04d, comparándose las proporciones en dichas pruebas mediante el análisis de X cuadrada, y para analizar los resultados forma global se realizó una distribución de riesgo con base en la formación de escenarios (árbol de probabilidad).

V. Resultados

Los resultados de evaginación se resumen en el cuadro III, en donde se muestra el número de metacéstodos encontrados en media canal, el número de metacéstodos expuestos a evaginar, las larvas evaginadas y el porcentaje de evaginación. Los cisticercos considerados como evaginados fueron aquellos en el que el escolex fue claramente visible al realizar una inspección minuciosa macroscópicamente de los ejemplares (Figura 6).



Figura 6 a)



Figura 6 b)

a) Se observa un metacésto de *Taenia solium* evaginado después de haber sido colocado en solución salina y bilis a 37 °C por 24 horas. El escolex y el cuello de la larva salen de la bolsa vesicular. b) Se observan cisticercos no evaginados a los cuales se les considera muertos

Cuadro III. Resultados obtenidos de la prueba de evaginación

# de cerdo	Cisticercos vesiculares en ½ canal	Cisticercos inducidos a evaginación	Cisticercos evaginados	% de evaginación
G1				
Vac S₃Pvac				
1	538	100	79	79
2	276	108	95	87.96
3	78	10	10	100
4	42	2	2	100
5	–	–	–	–
Total	934	220	186	84.5
G2				
Trat S₃Pvac				
1	*195	111	11	9.9
2	1	0	0	0
3	–	–	–	–
4	–	–	–	–
5	205	64	56	87.5
Total	401	175	67	38.3
G3				
Trat GK1				
1	451	109	77	70.64
2	431	140	119	85
3	133	46	21	45.65
4	–	–	–	–
5	85	39	34	87.18
Total	1100	334	251	75.15
G4				
Control				
1	581	123	91	74
2	112	54	30	55.5
3	25	3	0	0
4	244	85	61	71.76
5	18	4	4	100
Total	980	269	186	69.15

* Cisticercos en etapa coloidal joven

Al comparar las proporciones de evaginación se encontró que el menor porcentaje correspondió a los cisticercos alojados en el grupo 2. $p < 0.001$

En el cuadro IV se muestran los resultados obtenidos de las necropsias realizadas a los hámsters que fueron inoculados con los metacéstodos de los diferentes grupos de tratamientos, las tenias recuperadas y un porcentaje de desarrollo a tenias. Este último dato se refiere a la relación del número de metacéstodos inoculados en hámsters entre el número de tenias recuperadas.

En la figura 7 se observa una tenia recuperada del intestino delgado de uno de los hámsters inoculados.



Figura 7. Fotografía de *Taenia solium* (55 cm de longitud aprox.) extraída de un hámster inmunodeprimido. Se observa claramente el escolex y el estrobilo formado solamente por proglotidos inmaduros. Escala 1 : 1.5

Cuadro IV. Resultados obtenidos en la inducción de la teniosis en hámsteres

# de cerdo	# Cisticercos inoculados	Tenias recuperadas	% de desarrollo a tenias
G1			
Vac S₃Pvac			
1	25	17	68
2	25	11	44
3	25	9	36
4	15	1	6.6
5	-	-	-
Total	90	38	42.2
G2			
Trat S₃Pvac			
1	25	1	4
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	25	10	40
Total	50	11	22
G3			
Trat GK1			
1	25	19	76
2	25	18	72
3	25	19	76
4	-	-	-
5	25	14	56
Total	100	70	70
G4			
Control			
1	25	14	56
2	25	10	40
3	-	-	-
4	25	18	72
5	-	-	-
Total	75	42	56

Al comparar las proporciones de los resultados en las necropsias se observó diferencias entre los tres grupos $\chi^2 = 34.5$ $p < 0.0001$

Para las pruebas realizadas se tomaron los metacéstodos en etapa vesicular, aunque se colocaron algunos en etapa coloidal con la finalidad de conocer su viabilidad mediante el porcentaje de evaginación (cuadro V).

Cuadro V. Resultados de la prueba de evaginación a metacéstodos encontrados en etapa coloidal

# de cerdo (G1 Vac S ₃ Pvac)	Total de coloidales en ½ canal	Cisticercos inducidos a evaginación	Cisticercos Evaginados	% de evaginación
2	25	7	7	100
4	6	1	1	100
Total	31	8	8	100

Larvas colectadas de un cerdo del grupo 2 fueron clasificadas macroscopicamente como coloidales jóvenes, ya que presentaban la membrana vesicular algo engrosada, sin embargo al quitar la cápsula, el cisticerco se observaba con el líquido vesicular claro y no con un aspecto hialino (11, 29), mostrando una apariencia vesicular, por lo tanto éstas larvas fueron consideradas para las pruebas de evaginación y de inoculación en hámsteres.

En el cuadro VI se muestra el diseño experimental con base en la formación de escenarios. Se consideran las proporciones dadas en cada prueba: total de cisticercos encontrados en media canal, total de larvas vivas (vesiculares), porcentaje de evaginación y porcentaje de desarrollo a tenias, con estos datos se obtiene la probabilidad final de que un cisticerco de éstos grupos llegue a implantarse en forma de tenia, mediante el producto de cada uno de los eventos realizados en un hospedero experimental. (Cuadro VI)

Cuadro VI. Muestra la probabilidad del desarrollo a tenias mediante el producto de las proporciones en cada evento

Tratamiento	Cisticercos implantados	Cisticercos viables	Cisticercos evaginados	Tenias desarrolladas	Probabilidad
Grupo 1 Vac S₃Pvac	0.0207	0.902	0.845	0.422	0.0066
Grupo 2 Trat S₃Pvac	0.0113	0.389	0.383	0.22	0.0004
Grupo 3 Trat GK1	0.023	0.966	0.7515	0.7	0.012
Grupo 4 Control	0.0207	0.943	0.6915	0.56	0.0075

VI. Discusión

La Teniosis – Cisticercosis es un problema de salud que puede afectar a cualquier tipo de persona, no importando clases sociales, culturales o étnicas. Tampoco se distingue un patrón de edad o de género (56). En diversas regiones geográficas de la Tierra (16, 23, 24, 25, 26, 27), esta parasitosis es conocida, no solo por la presencia de las larvas en las masas musculares de los cerdos sino también en los seres humanos. Los cisticercos se distribuyen en los músculos (26), ojos (57), hígado y de preferencia en el sistema nervioso central, ocasionando en este último sitio graves trastornos patológicos (22, 35). En México el principal factor de epilepsia diagnosticada es debido a la neurocisticercosis (58). Es por ello que implementar una vacuna contra la cisticercosis porcina podrá interrumpir el ciclo biológico de este céstodo, lo que ocasionaría la disminución de larvas y por lo tanto menor número de tenias adultas (40, 41, 42, 43, 44, 45). Otra forma de romper el ciclo biológico de *Taenia solium* es mediante la desparasitación de personas teniasicas (37), pero muchas veces no acceden a someterse a los tratamientos indicados y en caso de acceder pueden volver a infectarse lo que ocasiona que el ciclo natural se mantenga. La difusión de información, la desparasitación en la población, la colocación de letrinas y en el mejor de los casos de baños con drenaje lo que permitiría también la obtención de agua, en comunidades en donde la parasitosis es endémica ayudaría a disminuir los casos de cisticercosis porcina evitando pérdidas económicas y la transmisión de la enfermedad (1, 11); sin embargo se ha observado que los habitantes de las comunidades donde la parasitosis es endémica tan solo llevan estas medidas por un tiempo y luego las abandonan por diversos motivos, en los que muchas veces están implicadas las tradiciones y costumbres lo que hace casi imposible controlar esta parasitosis y por otra parte, hace falta la consistencia por parte de las autoridades y el mantener una continuidad en las medidas preventivas y educativas a aplicar.

En trabajos previos se habían obtenido indicadores de la posible capacidad terapéutica de la vacuna. En este estudio se evaluó a través de dos diferentes metodologías la viabilidad de los cisticercos vesiculares en cerdos infectados, tratados y no tratados con diferentes inmunógenos (S₃Pvac y GK1)

El grupo 2 Tratamiento S3Pvac presentó la cantidad más baja de cisticercos de todos los grupos, sugiriéndonos que S₃Pvac podría ser un compuesto terapéutico. En las pruebas de

evaginación y de viabilidad, los animales de este grupo presentaron los porcentajes más bajos, indicando que los metacéstodos colectados de estos cerdos se encontraban en un grado avanzado de destrucción. Cabe mencionar que solo se pudieron coleccionar metacéstodos de dos cerdos de este grupo para realizar las pruebas de evaginación y de viabilidad, ya que en los otros 3, los cisticercos se encontraban en su mayoría en estado caseoso, lo que refiere a que el tratamiento con S₃Pvac fue efectivo.

Larvas de uno de éstos cerdos (# 5) aumentaron de manera considerable los porcentajes mostrados ya que al parecer el tratamiento aplicado en este animal no afectó la viabilidad de los metacéstodos. Los cisticercos tomados del otro cerdo (# 1), como ya se había mencionado fueron clasificados macroscópicamente como coloidales jóvenes, mostrando un bajo porcentaje de evaginación (9.9%) y de desarrollo a tenias (4%), lo que nos indica que estas larvas de alguna forma fueron inactivadas por el tratamiento aplicado (Cuadros III y IV), y al comparar éstos resultados de evaginación con los obtenidos mostrados en el cuadro V de cisticercos coloidales (11, 29), se observa claramente que sí existe un efecto directo en los metacéstodos obtenidos de éste cerdo.

El tratamiento usado en la inmunización con el péptido GK1 no modifica ni el número ni la viabilidad de los cisticercos implantados respecto al control resultando ineficiente para tratamiento cisticida.

Los metacéstodos del grupo 1 aunque no son comparables en este trabajo por su prematura colecta tienden a mostrar una ligera disminución en la prueba de inoculación al presentar solo el 42 % de desarrollo a tenias, menos del 50 %, haciendo pensar que sí se hubieran dejado el mismo tiempo que el resto de los grupos, los resultados hubiesen sido diferentes; ya que en la prueba de evaginación el porcentaje es alto debido a que los metacéstodos vesiculares empleados se encontraban en una etapa más joven en comparación con el resto de los cisticercos estudiados, sugiriendo que los péptidos apenas empezaban a tener un efecto sobre ellos.

Los datos arrojados por el modelo estadístico hacen ver de forma notoria el efecto directo que tiene el tratamiento del grupo 2 (S₃Pvac) sobre los metacéstodos colectados. La probabilidad de que llegue a convertirse una larva obtenida de cerdos con este tratamiento es 10 veces menor que en el resto de los tratamientos aplicados (cuadroVI). Aunque se trata de un modelo experimental en el cual el hospedero debe de ser inmuno – deprimido, se observa una clara diferencia entre la eficacia del tratamiento del grupo 2 y

el grupo control, haciendo pensar que en el ciclo natural del parásito, las larvas de cerdos tratados con S3Pvac tendrán una probabilidad menor de llegar a la etapa adulta y se empezaría a atacar de forma directa esta zoonosis.

VII. Conclusión

El aplicar la S₃Pvac como tratamiento cisticida a cerdos infectados reduce su viabilidad y posiblemente reduzca el número de parásitos dañando una fracción en los cisticercos instalados no permitiendo su detección macroscópica. La aplicación de S₃Pvac aunada a medidas complementarias (pláticas informativas, medidas preventivas y de control), permitirá empezar a combatir de manera eficaz el problema Teniosis – Cisticercosis.

IX. Referencias

1. Acevedo – Hernández A. Economic impact of porcine cysticercosis. En Flisser A, Willms K, Lacleste J P, Larralde C. et al. Cysticercosis. Present State of Knowledge and Perspectives. Academic. Press, New York. 1982; 63 – 67.
2. Rodríguez, R.R. Contribución al estudio de la cisticercosis porcina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México. 1962. 15-35.
3. Gómez, J.L. Enfermedad del cisticerco en el puerco. Gaceta Médica de México. Imprenta de Ignacio Escalante. 1889. México. Tomo XXIV. No. 4. 57-64.
4. http://escuela.med.puc.cl/publ/Cuadernos/1994/pub_02_94.html
Lasso J. Contribución a la Historia de Cisticercosis Cerebral. Cuadernos de Neurología. Universidad Católica de Chile. Vol. XXI.
5. Nieto, D. Historial notes on cysticercosis. En Flisser A, Willms K, Lacleste J P, Larralde C. et al. Cysticercosis. Present State of Knowledge and Perspectives. Academic. Press, New York. 1982; 1 – 7.
6. Gómez Alanís, A. Dos casos de cisticercosis cutáneo – muscular en el hombre. An Inst. Invest, Cientif (Monterrey).1994. 1 (1). 79 – 93 (10)
7. Slais Jaroslav. 1970. The Morphology and Pathogenicity of the Bladder Worms. *Cysticercus cellulosae* and *Cysticercus bovis*. Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences. Czechoslovakia.
8. Zedillo, G.; Bobadilla Vela, I. Historia de la cisticercosis porcina en México. Archivo de Investigación Médica. México. 1987. Vol 18. No. 2. 77-90
9. Cheng, T. General Parasitology. Harcourt Brace Haranovich, Publishers. New York. 1986.
10. Saiz Moreno L.1976. Las zoonosis. Aspectos sanitarios, económicos y sociales. Epidemiología. Diagnostico y Profilaxis. Ed. Aedos. Barcelona.
11. Aluja A, Escobar A, Escobedo F, Flisser A, Lacleste J P, Larralde C, Madrazo I, Velázquez V, 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
12. Abdussalam, M. El problema de la Teniasis – Cisticercosis. VII Reunión interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis. Organización Panamericana de la salud. 1975. Publicación científica No. 295. 117-129.
13. Cordero del Campillo. Parasitología y Enfermedades parasitarias de animales domésticos. Ed Limusa. México. 1990.

14. Acha, P.N.; Szyfres, B. Teniasis y cisticercosis. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud. 2º Ed. . Publicación científica No. 503. 763-774.
15. Smyth, J. D. The biology of cestode life – cycles. Technical Communication Number 34 of the Commonwealth Bureau of Helminthology, St. Albans, Herts, England. Commonwealth Agricultural Bureaux Farnham Royal, Bucks, England. 1963.
16. Flisser, A. Teniasis and Cysticercosis due to *Taenia solium*. Progress in Clinical Parasitology. 1994.Vol 4. 77- 115
17. Maravilla, P.; Avila, G.; Cabrera, V.; Aguilar,L.; Flisser, A. Comparative development of *Taenia solium* in experimental models. J. Parasitology. 1998. Vol. 84. No. 5. 882-886.
18. Sartí Gutiérrez, E. J.; Gutiérrez Ospina, I. La teniasis y cisticercosis en México. (Revisión bibliográfica). Salud Pública de México. 1986. 28(5): 556-563.
19. Aluja, A. Manchas de leche (Milk Spots) por metacestodos de *Taenia solium* en hígados de cerdo. Vet. Mex. 1994. Vol. 25. No. 2. p 155
20. Flisser, A. Neurocysticercosis in Mexico. Parasitology Today . 1988. 4 (5): 131 – 137.
21. Thornton, H. Gracey, J. F. Textbook of meat Hygiene. 8th Edition. The University Press, Aberdeen. Great Britain. Baillière Tindall. London. 1976.
22. Escobar, A. The pathology of neurocysticercosis. Cysticercosis of the Central Nervous System. Ed by. Palacios E, Rodríguez Carbajal M D. and Taveras J M. Charles C Thomas Publisher. U.S.A. 1983; 27 – 54.
23. Acha P. N., Aguilar, F. J. Studies on cysticercosis in Central America and Panama. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1964; 13: 48 – 53.
24. García – Noval J., Allan J. C., Fletes C., Moreno, E., De Mata, F., Torres – Alvarez, R., Soto de Alfaro, H., Yurrita, P., Higueros – Morales, H., Mencos, F., Craig, P. S. Epidemiology of *Taenia solium* and cysticercosis in two rural Guatemalan communities. Am. J. Trop. Med Hyg. 1996; 5 (3): 282 – 289.
25. Chatel, G., Gulletta, M., Scolari, C., Bombana E., El-Hamad, I., Matteelli A., Carosi, G. Short Report: Neurocysticercosis in an italian traveler to Latin America. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1999; 60 (2):255 –256.
26. Sciuotto, E., Fragoso, G., Fleury, A., Chavarria, A., Vera, R., Yáñez, O., Carillo Mezo, R., Piña, J., de Aluja S., A., Larralde, C. *Taenia solium* cysticercosis of human and pigs: A review of our contributions and perspectives in the research of its complexities. Recent Res. Devel. Infection & Immunity. 2003 (1):475 – 497.
27. Schantz, P.M.; Sarti, E.; Plancarte, A.; Wilson, M.; Criales, J.L.; Roberts, J.; Flisser, A. Community-Based epidemiological investigations of cysticercosis due to *Taenia solium*: Comparison of serological Screening tests and clinical findings in two populations in Mexico. Clinical Infectious Diseases. 1994. Vol. 18. 879-885

28. Ramírez – Bon , E., Merchant, M.T., González del Pliego, M., Cañedo, L. Ultraestructure of the bladder wall of the metacestode of *Taenia solium*. En Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J. P., Larralde, C., et al. In Cysticercosis. Present State of Knowledge and Perspectives. Academic Press. New York. 1982. 261 – 279
29. Escobar Izquierdo A. Patología de la Neurocisticercosis. In Flisser A., Malagón F. Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México. Ed. Limusa. México. 1989
30. Sciutto, E.; Fragoso, G.; Fleury, A.; Lacleste, J.P.; Sotelo, J.; Aluja, A.; Vargas, L.; Larralde, C. *Taenia solium* disease in humans and pigs: an ancient parasitosis disease rooted in developing countries and emerging as a major health problem of global dimensions. Microbes and Infection. 2000, Vol 2. 1875 –1890.
31. www.ibiblio.org/...eclectic/thomas/taeniae.html
32. Silverman, P. H. Studies on the biology of some tapeworms of genus *Taenia*. II. The morphology and development of the Taeniid hexacanth embryo and its enclosing membranes, whit some notes on the state of development and propagation of gravid segments. Agricultural Research Council. 1954. July. 356-366.
33. Silverman, P.H. Studies on the biology of some tapeworms of the genus *Taenia*. I. Factors affecting hatching and activation of Taeniid ova, and some criteria of their viability. Agricultural Research Council. 1954. April. 207-215
34. www.vol.com.br/cienciahoje/chdia/n174.html
35. Weisz, P.B. La Ciencia de la Zoología. 5ta. Edición Omega. Barcelona. 1985
36. Aluja, A. Frequency of porcine Cysticercosis in Mexico. En Flisser A, Willms K, Lacleste J P, Larralde C. et al. Cysticercosis. Present State of Knowledge and Perspectives. Academic. Press, New York. 1982; 53 – 62.
37. Sotelo, J. Clínica y diagnóstico de la cisticercosis humana. Organización Pan-Americana Da Saude. 1996. 122-124
38. Organización Mundial de la Salud. 2002. Control de la Neurocisticercosis. Informe de la Secretaría. 55º Asamblea Mundial de la Salud. A55/23.
39. Sarti, E.; Flisser, A.; Schantz. P.M.; Gleizer, M.; Loya, M.; Plancarte, A.; Avila, G.; Allan, J.; Craig, P.; Bronfman, M.; Wijeyaratne, P. Development and evaluation of a health education intervention against *Taenia solium* in a rural community in Mexico. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1997. Vol. 56, No. 2. 127-132
40. NORMA OFICIAL MEXICANA, NOM-021-SSA2-1994, PARA LA VIGILANCIA, PREVENCIÓN Y CONTROL DEL COMPLEJO TAENIOSIS/CISTICERCOSIS EN EL PRIMER NIVEL DE ATENCIÓN MÉDICA

41. Rabiela, M.T.; Rivas Hernández, A.; Rodríguez Ibarra, J., Consideraciones anatomopatológicas sobre la cisticercosis cerebral como causa de muerte. Patología. 1979. Vol 17, 119- 136
42. Molinari, J. L. Meza, R. Suárez, B. Palacios, S. Tato, P. *Taenia solium*: Immunity in hogs to the cysticercus. Experimental Parasitology. 1983. 55. 340 – 357.
43. Pathak, K.M.L. Gaur, S.N.S. Immunization of pigs culture antigens of *Taenia solium*. Veterinary Parasitology. 1990. 34. 353 – 356.
44. Johnson, K.S. Harrison, G.B.L. Lightowlers, M. W. O'Hoy, K.L. Cogle, W. G. Dempster, R.P. Lawrences, S.B. Vintons, J.G. Heath D.D. Rickard, M.D. Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. Natural. 1989. Vol 338. 585 – 587.
45. Sciuotto, E.; Fragoso, G.; Trueba, L.; Lemus, D.; Montoya. R. M; Díaz, M. L.; Govezensky, T.; Lomeli, C.; Tapia, G.; Larralde, C. Cysticercosis vaccine: cross protecting immunity with *T. solium* antigens against experimental murine *T. crassiceps* cysticercosis. Parasite Immunology. 1990. Vol. 12. 687-696.
46. Guzmán Aguilar, F. Vacunas: modelos para desarmar parásitos. UNAM. Hoy. 1993. Año 2. No. 7. 47-54
47. Manoutcharian, K.; Larralde, C.; Fragoso, G.; Rosas, G.; Hernández, M.; Govezensky, T.; Baca, M.; Sciuotto, E.; Aluja, A.; Villalobos, N; Rodarte, L.F. Advances in the development of a recombinant vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1995. 1-7
48. Manoutcharian, K. Rosas, G. Hernández M. Fragoso, G. Aluja, A. Villalobos, N. Rodarte, L. F. Sciuotto, E. Cysticercosis: Identification and cloning of protective recombinant antigens. Journal of Parasitology. 1996. 82 (2). 250 – 254.
49. Toledo, A. Larralde, C. Fragoso, G. Gevorkian, G. Manoutcharian, K. Hernández, M. Acero, G. Rosas, G. López – Casillas, F. Kubli Garfias, C. Vázquez, R. Terrazas, I. Sciuotto, E. Towards a *Taenia solium* Cysticercosis vaccine: an Epitope Shared by *Taenia crassiceps* and *Taenia solium* protects mice against experimental cysticercosis. Infection and Immunity. 1999. 67(5): 2522 – 2530.
50. Sciuotto, E. Fragoso, G. Manouthcharian, K. Gevorkian, G. Rosas – Salgado, G. Hernández – González, M. Herrera – Estrella, L. Cabrera – Ponce, J. López – Casillas, F. González – Bonilla, C. Santiago – Machuca, A. Ruiz – Pérez, F. Sánchez, J. Goldbaum, F. Aluja, A. Larralde, C. New approaches to improve a peptide vaccine against porcine *Taenia solium* cysticercosis. Arch. Med. Res. 2002. 33 (4): 371 – 378 .
51. Huerta, M. Aluja, A. Fragoso, G. Toledo, A. Villalobos, N. Hernández, M. Gevorkian, G. Acero, G. Díaz, A. Alvarez, I. Avila, R. Beltrán, C. García, G. Martínez, J.J. Larralde, C. Sciuotto, E. Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in a controlled field trial rural Mexico. Vaccine. 2001. 12; 20, (1 – 2): 262 – 266

52. Aluja, A. S. de., Villalobos M.N., Nava,G.,Toledo, A., Martínez, J. J., Plancarte, Rodarte, L.F., Chavarría, A., Fragoso, G. and Sciutto, E. Therapeutic capacity of the synthetic peptide – based vaccine against *Taenia solium* cysticercosis. 2004. En prensa.
53. Fuentes, P. B., Negrete, M. J., Villalobos, P. R. Algunos factores físicos y químicos que afectan la evaginación de *Cisticercus cellulosae* "in vitro". Inst. Salubr. Enferm. Trop. Méx. 1960. 20 (2):103 – 128.
54. Flisser,A., Avidan ,Y., Laiter, S., Mintz, D., Ongay, H. Efecto de agentes físicos y químicos sobre la viabilidad del cisticerco de *Taenia solium*. Salud Pública de México. 1986.28 (5): 551 – 555
55. Verster, A. The golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* and *Taenia saginata*. Onderspoort J. Vet. Res. 1974. 41, 23 – 28
56. Villagran – Uribe, J.,Olvera – Rabiela, J.E. La cisticercosis en el material de autopsia del Hospital General de México. En Flisser, A., Malagon, F. Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México. Ed. Limusa. México. 1989
57. Cardenas, F., Quiroz, H., Meza, A., Plancarte, A., Dalma, A., Flisser, A. Cisticercosis intraocular. En Flisser, A., Malagon, F. Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México. Ed. Limusa. México. 1989
58. Medina, M.T., Rosas, E., Rubio, F., Sotelo, J. Neurocysticercosis as the main cause of late – onset epilepsy in Mexico. Arc. Int. Med. 1990. 150, 325 – 327