



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL

**Evaluación de la eficiencia de la vacuna expresada en fagos contra la
cisticercosis porcina: Factores de exposición y del hospedero en la
protección.**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

JULIO MORALES SOTO

TUTORA:

DRA. EDDA LYDIA SCIUTTO CONDE

COMITÉ TUTORAL:

DRA. ALINE SCHUNEMAN DE ALUJA

DR. JOSÈ JUAN MARTÍNEZ MAYA

MÉXICO, D. F.

2008



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los miembros de jurado y de mi comité tutorial por su apoyo y paciencia para la revisión y acertados comentarios al presente documento, con todo respeto y admiración

Dra. Edda Sciutto Conde
Dra. Aline Schuneman de Aluja
Dra. Gladis Fragoso
Dr. Iván Pérez Flores
Dr. José Juan Martínez Maya

Al Dr. Carlos Larralde Rangel por su fortaleza ejemplar y apoyo para poder realizar este estudio.

A las Doctoras Agnes Fleury, Nelly Villalobos, Mirna Huerta, Nelly Peña, Marisela Hernández, Andrea Toledo, Carmen Cruz, Gabriela Meneses, Gabriela Rosas, Gladis Fragoso por su apoyo en las diferentes etapas del estudio.

A los alumnos e investigadores del departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas Dr. Raúl Bobes, Mc Rubén Ramírez, Sra. Elvira Salazar, Q. Mercedes Baca, y del departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Dr. Julio Jaramillo, Víctor Campuzano, Antonio Linares, Orbelin Soberanis. Del Departamento de Patología, a la Tec. Maribel Nieto, PMVZ. Mario Kemler Valencia, PMVZ. Juan Hernández, PMVZ. Diana Hernández.

Al personal del departamento de Salud Animal del Gobierno del Estado de Morelos, representados por el MVZ Mc Héctor Sánchez Mejorada Porras, MVZ Víctor Maza Pérez, MVZ. Julián Rodríguez, MVZ. Salvador Linares, Ing. Ubaldo Leal, Ing. José López Reyeros, Tec. Elías Salinas, Tec. Francisco Gadea, Ing. Ramiro Huicochea, Tec. Octavio Flores.

De la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Ing. Conrado Canovas, Mc. Teresita Rodríguez, Biol. Juan Carlos Juárez.

Al MVZ. Cesar Medina Rojas, al Ing. José Manuel Torres Palomares, a Mc. Carolina Placencia Carvajal, MVZ. Herminio Jiménez, Biol. Marcos Rosseti, Fabrice Quiet por su colaboración en el trabajo de campo y análisis de la información.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por apoyo otorgado como becario de posgrado en el Programa de Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

A las autoridades de la Fundación Produce Morelos, A.C.

DEDICATORIA

A Julia y Fabián con todo mi cariño.

A Maria Luisa Soto por enseñarme el camino del intento.

A Maria Luisa, Magdalena, Leticia, Mayra Lucila, Marcela, Ada Nelly, Salustia, Nelly Teresita, Martin Gómez, Luis Pasqualli, Genaro Jardon con respeto y admiración por las familias que representan.

A mis sobrinos: Julio Augusto, Adrián, Luis, Gabriel, Eduardo y Edgar.

A Don Isidro Abundez y Juana Ramírez de Xochipala.

Con respeto y admiración al Dr. Manuel Morales Soto.

CONTENIDO	Página
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
I.- INTRODUCCION	1
II.- JUSTIFICACION	5
III.- OBJETIVOS	7
IV.- HIPOTESIS	9
V.- METODOLOGIA	11
VI. RESULTADOS	17
VII.- DISCUSION	35
VIII- BIBLIOGRAFIA	43
ANEXOS	53

Taenia solium: The complex interactions, of biological, social, geographical and commercial factors, involved in the transmission dynamics of cysticercosis in highly endemic areas

Inexpensive anti-cysticercosis vaccine: S3Pvac expressed in heat inactivated M13 filamentous phage proves effective against naturally acquired **Taenia solium** porcine cisticercosis

LISTADO DE CUADROS

Cuadro I. Frecuencia cisticercosis porcina por *Taenia solium* en los municipios de Morelos entre los años 2002- 2003. Los datos provienen de un inventario de cerdos de traspatio realizado por la Secretaría de Desarrollo Rural.

Cuadro II. Frecuencia de cisticercosis porcina por *Taenia solium* en 16 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos (2004).

Cuadro III . Frecuencia de cisticercosis por *Taenia solium*, en los cerdos diagnosticados por inspección en lengua de 7-9 meses de edad, en las 16 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos, diciembre 2004- diciembre 2005.

Cuadro IV. Frecuencia de cisticercosis porcina *Taenia solium* determinadas en la necropsia de cerdos, en las 16 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos, 2006.

Cuadro V. Identificación de los Factores de Riesgo asociados a la cisticercosis por *Taenia solium* en el año 2004 en 13 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos

Cuadro VI Características de los cerdos en cuanto a genero, estado fisiológico y fenotipo, en la Sierra de Huautla, Morelos y la cisticercosis por *Taenia solium*, 2004.

Cuadro VII. Composición etaria y peso en kg de la población porcina y su relación con la cisticercosis *Taenia solium*, 2004.

Cuadro VIII. Índices de agrupación de los datos georeferenciados en las 13 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos 2004.

Cuadro IX. Variables registradas en los cerdos de 3-5 meses de edad dentro de cada grupo. Septiembre 2004 a agosto 2005. Sierra de Huautla, Morelos. México

Cuadro X . Variables del hospedero y de la exposición con relación a cisticercosis porcina *Taenia solium*, determinada por necropsia, en cerdos inmunizados con S3Pvac-fago y testigos en la Sierra de Huautla, Morelos. 2006.

Cuadro XI. Relevancia de los factores de exposición y sexuales en la eficiencia de la inmunización con S3Pvac-fago y testigos en 331 necropsias realizadas en la Sierra de Huautla, Morelos, 2006.

Cuadro XII. Peso en Kg de los cerdos inmunizados con S3Pvac-fago y controles, Sierra de Huautla, Morelos, 2004-2006

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1, Frecuencia de cisticercos en los tejidos al momento de las necropsias de los cerdos de las comunidades de la Sierra de Huautla 2004-2006.

Figura 2. Frecuencia de cisticercosis por *Taenia solium* en cerdos evaluados a la necropsia y la relación con el uso de letrina en los domicilios de los propietarios de los cerdos vacunados y no vacunados en la Sierra de Huautla, Morelos. 2006. *(Prueba de Chi cuadrada),

Figura 3. Carga parasitaria de cisticercos por *Taenia solium* y la relación con el uso de letrina en los domicilios de los propietarios de los cerdos vacunados y controles en la Sierra de Huautla, Morelos. 2006. (Mann-Whitney Test).

RESUMEN

Se evaluó la capacidad protectora de la vacuna SP3vac expresada en fagos filamentosos (S3Pvac-fago) en contra de la cisticercosis por *Taenia solium*, en cerdos expuestos a condiciones naturales de transmisión, considerando la relevancia de factores de exposición y los propios del hospedero.

Inicialmente se determinó la frecuencia de cisticercosis porcina en cada municipio de Morelos. Derivado de este estudio se identificó una región al Sur del Estado en donde se confirmó la alta prevalencia de la parasitosis. Se realizó el censo y se caracterizó el hato porcino de la región seleccionada, se geo-referenciaron las viviendas con cerdos y un análisis espacial de la información indicó la distribución homogénea de la parasitosis en la región. En esta área se realizó la evaluación de la eficiencia de la vacuna S3Pvac-fago.

Para evaluar la vacuna se incluyeron un total de 1047 cerdos de 3 a 5 meses de edad que resultaron negativos a cisticercosis por inspección en lengua. El cincuenta por ciento de cada camada de los cerdos fue inmunizado con la vacuna S3Pvac-fago. La otra mitad se inmunizaron con solución salina y se utilizaron como controles. Ambos grupos de cerdos recibieron 2 aplicaciones con un intervalo de 30 días. De cada cerdo se registraron los datos del propietario, del tipo de producción, las variables relacionadas con de exposición, la edad, peso, sexo, y estado reproductivo de cada cerdo. Cada cerdos fue identificado individualmente utilizando un microchip. En una base de datos se registraron las intervenciones y eventos ocurridos a cada cerdo desde su vacunación y hasta su sacrificio.

Los resultados indican que la vacunación redujo la frecuencia de cerdos cisticercosos. La vacuna redujo en un 70% la cisticercosis porcina según inspección en lengua de 530 cerdos de 7 a 8 meses de edad (223 controles, 307 vacunados), ($P=0.0002$). Se determinó una eficiencia de vacunación del 54% por disección de lengua, masetero, corazón y diafragma de 331 cerdos sacrificados y mayores 12 meses de edad. Se detectaron cisticercos en 19 de los 134 cerdos del grupo control (14.1%); mientras que el grupo vacunado solo 13 de 197 cerdos presentaron algún cisticerco (6.5%). Adicionalmente, la vacunación redujo en un 88% la cantidad de parásitos instalados ($P=0.035$). El diafragma mostró la mayor carga parasitaria (42%) y el masetero el menor porcentaje (10%) en ambos grupos. Se observó mayor eficiencia de vacunación en hembras, en particular en gestantes ($P=0.0018$). La eficiencia de vacunación no se modificó significativamente en diferentes condiciones de exposición. La vacuna no modificó el peso esperado de los cerdos, ni se asoció con efectos colaterales no deseados.

Los resultados obtenidos en esta tesis permiten sostener que la vacuna S3Pvac-fago es una herramienta eficiente para utilizar en el control de la teniasis-cisticercosis por *T. solium*.

Abstract

The efficacy of S3Pvac expressed in filamentous phage was evaluated against *Taenia solium* cysticercosis in pigs under natural conditions of transmission considering the relevance of exposure and host factors.

To begin with, the frequency of cysticercosis in all the municipalities of Morelos was determined. A region in the south of the State was identified and the high prevalence of cysticercosis in this area was confirmed. All the pigs in this area were identified and household with pigs were also identified by GPS. In a geopositional study of cysticercotic pigs conducted the homogeneous spread of the infection was observed. The S3Pvac-phage was evaluated in this region.

A total of 1047 pigs of 3 to 5 months of age non-cysticercotic by tongue inspection were included. Half of each litter was immunized with the S3Pvac-phage vaccine and half with placebo (saline). Pigs were immunized twice with an interval of 30 days. The study recorded for each individual pig, the owners' household information, form of bread, exposure variables, pigs' age, weight, sex, and reproductive condition. Each pig was identified by microchip. All the information and events occurred to the pigs included in the study were recorded since its vaccination.

Results indicate that vaccination reduced the frequency of pig cysticercosis. The vaccine reduced in 70% pig cysticercosis according to tongue inspection of 530 pigs of 7-8 months of age (223 controls, 307 vaccinated), ($P=0.0002$). A vaccine efficiency of 54% was determined when slaughter and inspected the tongue, masseters, heart and diaphragm of 331 pigs older than 12 months. In the 134 control pig, 19 were found infected (14.1%) and only 13 in the 197 (6.5%) vaccinated pigs. Additionally, the vaccine reduced in 88% the number of cysticerci installed respect to the control group ($P=0.035$). The diaphragm exhibited the higher amount of parasites (42%) and the masseters the lowest (10%). A higher vaccine efficiency was observed in female, in particular in those pregnant ($P=0.0018$). The vaccine efficiency was not modified under different exposure conditions. Vaccination did not modify the expected weight of the pigs and no undesirable effects related to vaccination were observed.

The results obtained in this thesis established the useful of the S3Pvac-phage vaccine as an efficient tool to be used in the control of *Taenia solium* taeniasis-cysticercosis.

Key words: vaccine-pigs-control *Taenia solium* taeniasis-cysticercosis-relevance of exposure and host factors.

I.- INTRODUCCIÓN

La teniasis cisticercosis es una enfermedad parasitaria que afecta al ser humano y al cerdo. Su existencia ha sido documentada en los países en desarrollo de América, Asia y África (Acha 1986, Eddi *et al.*, 2006, Román *et al.*, 2000). En Latinoamérica se estima que existen 400,000 pacientes infectados. Se reporta que en México y Brasil se invierten varios miles de millones de dólares para el tratamiento de neurocisticercosis (Berma *et al.*, 1999, Mafone *et al.*, 2003). Las estimaciones conservadoras mencionan 50,000 muertes todos los años debido a neurocisticercosis en Latinoamérica (Sorvillo *et al.*, 2007). La neurocisticercosis se reporta en ascenso en países en desarrollo como consecuencia de la migración. En Estados Unidos, se invierten millones de dólares por año para el tratamiento de neurocisticercosis en los inmigrantes que la padecen (Sorvillo *et al.*, 2007).

Aunque en México la frecuencia de cisticercosis se desconoce con certeza se reporta en diferentes trabajos de investigación realizados en comunidades rurales del Estado de Morelos, Puebla, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Huerta *et al.*, 2001, Morales *et al.*, 2002, Aluja 2007, Sciuotto *et al.*, 2000, Acevedo *et al.*, 1992). A nivel nacional se reportó una seroprevalencia del 1.5% en una muestra de 70,000 sueros de los diferentes estados del país colectados durante la Encuesta Serológica Nacional de 1988 (Larralde 1992). En humanos, en diferentes series hospitalarias la neurocisticercosis se reporta entre el 2 y el 5 % de las necropsias (Villagrán y Olvera, 1988) y estudios recientes en comunidades rurales del Estado de Morelos y de Puebla reportan que el 9% de la población presenta lesiones tomográficas compatibles con neurocisticercosis humana (Fleury *et al.*, 2003; 2006).

Con respecto a la cisticercosis porcina, en México hasta la fecha no existe un estudio

epidemiológico que permita establecer la frecuencia existente en todo el territorio nacional. Los datos disponibles que provienen de diferentes estudios de investigación en áreas rurales indican prevalencias del 2 al 33 % de cisticercosis porcina en comunidades del centro de México como Xoxocotla, Chalcatzingo, Atotonilco, Cuentepec (Larralde y Aluja, 2007; Sarti et al., 1988, 1992, Martínez 1999 Sciutto et al., 2007, Morales et al., 2002).

El ciclo de esta zoonosis involucra el humano infectado con el estado adulto (*Taenia solium*) del parásito o tenia el cual puede liberar en la materia fecal los proglótidos grávidos maduros del cestodo, que en su interior contienen miles de huevos de tamaño microscópico. Estos huevos al ser consumidos por el cerdo (*Sus Scrufa*), desarrollan la fase de metacéstodo de *T. solium* que se conoce también como cisticerco, el cual se establece en los tejidos del cerdo (hospedero intermediario), finalmente el ciclo se completa cuando el humano consume carne de cerdo infectada con el metacéstodo el cual puede transformarse al estado adulto (Villagrán y Olvera 1988, Escobar, 1983). El hombre puede también adquirir cisticercosis cuando ingiere los huevos de la *T. solium*. En el hombre los huevos se establecen frecuentemente en el encéfalo transformándose en cisticerco, lo que resulta en la patología conocida como neurocisticercosis (Acevedo., 1992. Aluja., 1987).

Los factores relacionados con su transmisión están íntimamente asociados con la pobreza, malos hábitos higiénicos, bajos estándares sanitarios, ignorancia, comercio ilegal de carne de cerdo infectada, disposición inapropiada de heces humanas y la falta de inspección sanitaria al momento del sacrificio de los cerdos (Sánchez et al., 1999, Fleury et al., 2003, Martínez et al., 2003, Sarti et al., 1992). Adicionalmente, se ha reportado la asociación de cisticercosis con antecedentes de teniasis dentro del núcleo familiar (Flisser et al., 2004). En particular en la cisticercosis porcina se ha reportado

que la crianza rústica de los cerdos así como la ausencia de letrinas en las casas de los propietarios de los mismos son factores claramente asociados a cisticercosis porcina (Aluja y Villalobos, 2000).

Diversas estrategias han sido consideradas con el objetivo de controlar la teniasis-cisticercosis. Entre ellas destacan la dotación de infraestructura básica sanitaria como lo son letrinas y drenajes, acciones como la desparasitación masiva de humanos, la inspección sanitaria de la carne porcina en rastros, educación para la salud, la creación de normas oficiales, hasta alternativas más sofisticadas como la irradiación de carne de cerdo infectada (Flores et al., 2003, Larralde y Aluja, 2006). El aumento de la resistencia del cerdo por vacunación ha sido también considerado con la finalidad de interrumpir el ciclo de vida del parásito. Esta opción presenta la ventaja de no requerir modificar las condiciones de vida y de crianza en las que se sustenta esta parasitosis, además de no ser una intervención confiscatoria lo que probablemente aumente la factibilidad de su aplicación (Larralde y Aluja, 2006).

La exacerbación de la inmunidad específica contra el cisticerco por vacunación es capaz de aumentar la resistencia a la infección (Rickard y White, 1976). En la cisticercosis por *Taenia solium* se ha mostrado que diferentes tipos de inmunógenos protegen contra la cisticercosis porcina (Molinari et al., 1983; Sciutto et al., 1995; Plancarte et al., 1999; Huerta et al., 2001; Flisser et al., 2004)

En los últimos años se ha demostrado que una vacuna denominada S3Pvac constituida por tres péptidos sintéticos denominados GK1, KETc1 y KETc12 de 18, 13 y 9 aminoácidos respectivamente, reduce en 97.8% la cantidad de cisticercos en cerdos

criados en forma rústica expuestos al desafío natural (Toledo et al., 1999; 2001; Huerta et al., 2001). La vacuna actualmente disponible se produce por síntesis química. Considerando la importancia de reducir los costos de producción de la vacuna (lo que facilitaría su aplicación) los péptidos se expresaron en forma recombinante utilizando el sistema de fagos filamentosos. Este procedimiento (Phage Display) está basado en la expresión de un gran número de péptidos (/ hasta 109 /) o proteínas fusionados a la proteína 3 de la cubierta viral /(cpIII)/ o proteína 8 /(cpVIII)/ sobre la superficie del bacteriófago filamentoso M13. La expresión repetida de los epítopes en el contexto de estas proteínas virales permite en general aumentar la inmunogenicidad de los epítopes en cuestión. Adicionalmente se ha observado que la propia estructura del fago puede exhibir propiedades adyuvantes. Los tres péptidos vacunales protectores (KETc1, GK1, KETc12) y el péptido protector KETc7 del cual deriva la secuencia de GK1 fueron expresados en la superficie del fagos filamento M13. Su capacidad protectora fue evaluada en condiciones experimentales en el modelo murino de cisticercosis y en contra de la cisticercosis experimental porcina con resultados que indican la alta capacidad protectora de esta nueva versión de vacuna. (Manoutcharian et al., 2004).

En este estudio se evalúa la eficiencia de una vacuna expresada en fagos para la prevención de la cisticercosis porcina por *T. solium* en condiciones naturales de transmisión. Considerando la relevancia de la exposición al parásito y de diferentes variables biológicas en la susceptibilidad al mismo (Morales et al., 2002), en este estudio se ha considerando la relevancia de las condiciones de exposición y variables biológicas del hospedero en la eficiencia de vacunación.

La información generada por este trabajo permitirá proponer conocer las posibilidades de esta nueva vacuna en el control de esta zoonosis.

II.- JUSTIFICACIÓN

A pesar de los avances en el estudio de la cisticercosis por *Taenia solium*, esta parasitosis continua siendo una zoonosis endémica en México. Para su control es fundamental disponer de herramientas efectivas. Se ha desarrollado una vacuna recombinante en México cuyo bajo costo permitiría su uso masivo. Se requiere conocer su eficiencia en condiciones naturales de transmisión para poder proponer el uso de este biológico en condiciones efectivas.

En este proyecto se evalúa la utilidad de una vacuna expresada en fagos para la prevención de la Teniasis cisticercosis por *Taenia solium*, considerando las diferentes condiciones de exposición y del estado biológico del hospedero, información que nos permitirá proponer su aplicación en un programa efectivo para el control de esta zoonosis.

III.- OBJETIVOS

Objetivos generales

Evaluar la eficiencia de la vacuna expresada en fagos filamentosos contra cisticercosis porcina S3Pvac-fago en una región de alta endemia determinando el efecto de la vacunación en la carga parasitaria así como sobre número de cerdos totalmente protegidos. Identificar la influencia en la eficiencia de vacunación de los factores de exposición y del hospedero.

Objetivos específicos.

1.- Determinar la prevalencia de cisticercosis porcina en municipios de Morelos y seleccionar una región con las características adecuadas para desarrollar este estudio

2.- Caracterizar los cerdos incluidos en función de su sexo, peso, estado reproductivo y fenotipo.

3.- Registrar los factores asociados a la exposición (tenencia de letrina, forma de crianza, ubicación geográfica dentro de la comunidad) de los predios donde se incluyan los cerdos para el estudio.

4.- Aplicar la vacuna expresada en fagos en una región que posea al menos un 10% de prevalencia de cisticercosis porcina a un número representativo de cerdos de traspatio para evaluar la eficiencia según exposición, el sexo, peso, estado reproductivo y el fenotipo.

5.- Determinar la eficiencia de vacunación en cerdos en pie por inspección de lengua y por necropsia

6.- Evaluar la influencia que tiene el uso de letrinas, la forma de crianza, la ubicación geográfica, el sexo, edad, peso, gestación y castración, en la capacidad protectora inducida por la vacuna S3Pvac-fago.

IV-HIPÓTESIS

La aplicación de la vacuna S3Pvac-fago a cerdos criados en forma rústica reduce significativamente la prevalencia de la cisticercosis porcina.

Su eficiencia de vacunación variará según el grado de exposición al parásito y factores biológicos del hospedero.

V. - METODOLOGIA

1.-Determinación de la prevalencia puntual de cisticercosis en el estado de Morelos y selección de una región con al menos 10% de prevalencia

A) Determinación de la prevalencia de cisticercosis porcina en el estado de Morelos.

Morelos es un estado del centro de México, colindante con la Ciudad de México y habitado por aproximadamente 1,500,000 habitantes. Consta de 33 municipios en los que se sabe que existe una población de 60,000 cerdos criados de manera no tecnificada en las 1342 comunidades rurales registradas (Annon 2000).

De julio 2002 a marzo de 2003 se estudió una muestra de 1748 cerdos para determinar la prevalencia de cisticercosis, los cerdos fueron examinados por inspección de la lengua en busca del metacéstodo en el tejido subepitelial (Martínez 2001, Sciutto et al., 1998, Morales et al., 2002).

Para este estudio únicamente se incluyeron cerdos mayores de 2 meses y para cada uno se determinó el sexo, y en su caso si se había realizado o no la castración, o si había tenido gestación.

b) Selección de una región con al menos el 10% de prevalencia y características generales de la producción porcina.

Con base en la información anterior, se consideró a la denominada Sierra de Huautla, la cual esta habitada por 20,000 habitantes en 29 comunidades, La zona se caracteriza por tener una vegetación de selva caducifolia con un clima subtropical y se encuentra en las coordenadas 18° 20'- 18°31' latitud norte y 98°51'- 98°53' longitud oeste. Es considerada como una Reserva de la Biosfera (López-Aroche et-al., 2008).

De manera aleatoria se escogieron 16 comunidades, y dentro de estas se cuantificó el

número total de cerdos existentes, de ellos el 43% fue inspeccionado. Se incluyeron cerdos mayores de 2 meses tanto machos como hembras

La inspección inició en agosto y se concluyó en diciembre 2003 y los cerdos fueron examinados por inspección de la lengua en busca de metacéstodos de *T. solium*, en el tejido subepitelial, siguiendo la técnica descrita anteriormente (Martínez 2001, Sciutto et al 1998, Morales et al 2002), de manera breve la técnica comprende la sujeción y contención del cerdo para posteriormente exteriorizar la lengua y llevar a cabo una inspección visual y palpación de la cara dorsal y ventral de la lengua, calificada como una técnica agresiva para los animales y poco recomendada (Larralde y Aluja 2007). Para caracterizar la producción porcina y la información relativa a los factores de exposición se empleo el cuestionario del anexo 1.

2.- Protocolo de inmunización con S3Pyvac-fago

a) Asignación de grupos y vacunación

Para este ensayo fueron inmunizados 626 cerdos y 421 fueron empleados como testigo (sin inmunizar), los animales mantuvieron las condiciones de crianza alimentación y mantenimiento no tecnificado habituales en la región.

En todos los casos los cerdos inmunizados recibieron partículas de fago filamento que contenían los péptidos vacunales KETc1, KETc12, KETc7 y GK1, la dosis fue de 4×10^{12} partículas de fago en 2 ml de solución salina por cerdo con intervalo de 30 días cada aplicación (Manoutcharian et al 2004).

Para el grupo testigo se llevo a cabo un manejo similar a los vacunados pero con la

diferencia que únicamente se les administraron 2 ml de solución salina por cerdo con un intervalo de 30 días.

Para todos los cerdos se aplicó por vía subcutánea en la base de la oreja izquierda previa desinfección con benzal al 10% en el sitio de aplicación.

B) Identificación de cerdos

Los cerdos fueron identificados con un microchip (Avid Inc.) de aplicación subcutánea en la base de la oreja derecha, colocación de un arete de plástico numerado en oreja izquierda.

3.- Determinación de la frecuencia y carga parasitaria en los cerdos vacunados y testigos.

Se determinó la frecuencia de cisticercosis porcina tanto por la inspección de lengua como por necropsia.

La evaluación de la carga parasitaria se llevó a cabo cuando los propietarios de cada animal los sacrificaron, o estos llegaron al rastro o con el carnicero local.

En cada cerdo se cuantificaron el número de vesículas que macroscópicamente se reconocen como la fase larvaria de la *T. solium*, y que se localizaron en músculos masticadores, diafragma, corazón y lengua, ya que tienen una mayor probabilidad de alojar a este parásito (Vargas et al, 1986).

4.-Factores de exposición y del hospedero

a) Factores de exposición

Por medio de una encuesta se registraron variables como: la existencia y el uso de

letrina, el suministro de agua, el modo de crianza de los cerdos, es decir si deambulaban libremente o permanecían confinados, así como que tipo de dieta se administraba a cada cerdo, por último se registro el nombre y domicilio del propietario.

La ubicación geográfica se llevo a cabo con un GPS (Sistema de Posicionamiento Global móvil), de manera individual a cada casa, los datos obtenidos se registraron en una base de datos.

Con los puntos geo-referenciados se calcularon los índices de agrupamiento en dos formas: A) todas las viviendas donde poseían cerdos , B) viviendas con cerdos no infectados con cisticercosis , y C) viviendas con cerdos con cisticercosis.

La encuesta empleada para obtener la información relativa a los factores de exposición y del hospedero se muestra en el anexo 1

b) Factores del hospedero

Los cerdos de manera individual fueron pesados, sexados y además se registro si se encontraban gestantes y castrados, posteriormente se valoró su edad, fenotipo predominante y finalmente que se encontraran clínicamente sanos.

En el caso de que el cerdo no cumpliera con esta última condición se excluyó del estudio. La encuesta empleada para obtener la información de los factores de exposición y del hospedero se muestra en el anexo 1

5-Análisis estadístico

La frecuencia de la cisticercosis se expresó en porcentaje para determinar si existían diferencias en la carga parasitaria; para evaluar los datos obtenidos de factores de exposición y del hospedero se empleo la prueba de Chi cuadrada (X^2_i), y por ultimo para determinar la correlación entre la vacunación, los factores de exposición y del hospedero se llevo a cabo un análisis univariado y multivariado.

Las variables incluidas en el análisis multivariado fueron aquellas que mostraron un valor de $P \leq 0.1$ en el análisis univariado

Construcción de la vacuna S3Pvac expresada en fagos filamentosos (S3Pvac-fago).

La vacuna aplicada fue elaborada en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, y se obtuvieron partículas de fago filamento que contenían los péptidos vacunales KETc1, KETc12, KETc7 y GK1.

Preparación de los fagos recombinantes.

- 1) El antígeno KETc7 de 96 aminoácidos de *Taenia crassiceps* (FK7). (Manoutcharian et al., 1996)
- 2) Del KETc7 se derivo el péptido GK1 (FGK1) (69-95 aminoácidos, GYYYPSPDPNTFYAPPYSA) ;
- 3) El péptido KETc1 derivado de antígenos recombinantes de *Taenia crassiceps* (APMSTPSATSVRG) (FKETc1)
- 4) El péptido KETc12 derivado de antígenos recombinantes de *Taenia crassiceps* (GNLLLSCLG) (FKETc12)

Todos ellos fueron expresados en la superficie del fago como se reporta en Manoutcharian et al., 2004.

Se prepararon las dosis de vacuna en la Universidad Nacional Autónoma de México en frascos de 5 dosis, que se obtuvieron de las partículas de fago filamento que contenían los péptidos vacunales KETc1, KETc12, KETc7 y GK1. La vacuna fue previamente inactivado esterilizando la mezcla vacunal (con 4×10^{12} partículas de fago en 2 ml de solución salina) en autoclave durante 1 hora a 121°C y adicionado con 0.05% de formaldehído (Manoutcharian et al., 2004).

VI.- RESULTADOS

1. Prevalencia de la cisticercosis porcina en Morelos

Se revisaron 1748 cerdos, de los cuales 1105 (63%) fueron hembras y 643 machos (47%).

La prevalencia de la cisticercosis en el Estado fue de 14.25%, con una rango de variación por municipio del 0% en Atlatlahucan y Temoac, al 30% en Zacatepec. (Cuadro I).

Municipio	Número de cerdos	Inspeccionados	Numero de cerdos con cisticercos en lengua (%)
Amacuzac	1967	67	12 (17.9)
Atlatlahucan	306	12	0 (0)
Axochiapan	1783	70	14 (20)
Ayala	3359	128	16 (12.5)
Coatlán del Río	2146	65	11 (16.9)
Cuautla	1463	35	1 (2.8)
Cuernavaca	1390	31	4 (12.9)
E. Zapata	1005	37	0 (0)
Huitzilac	469	18	1 (5.5)
Jantetelco	1694	35	5 (14.3)
Jiutepec	1480	32	6 (18.7)
Jojutla	1370	35	3 (8.6)
Jonacatepec	2336	47	4 (8.5)
Mazatepec	1116	33	6 (18.2)
Miacatlan	3201	115	14 (12.2)
Ocuituco	1413	54	3 (5.5)
Puente de Ixtla	3908	133	26 (19.5)
Temixco	2256	27	2 (7.4)
Temoac	1525	55	0 (0)
Tepalcingo	3556	99	20 (20.2)
Tepoztlán	1124	35	4 (11.4)
Tetecala	1552	34	7 (20.6)
Tetela del Volcán	624	30	1 (3.3.)
Tlanepantla	367	22	1 (4.5)
Tlaltizapan	1905	100	17 (17.0)
Tlaquiltenco	4350	135	26 (19.2)
Tlayacapan	651	20	2 (10.0)
Totolapan	515	37	6 (16.2)
Xochitepec	993	34	9 (26.5)
Yautepec	1835	50	8 (16)
Yecapixtla	2597	77	11 (14.3)
Zacatepec	650	10	3 (30.0)
Zacualpan	2605	35	6 (17.1)

Cuadro I. Frecuencia cisticercosis porcina por *Taenia solium* en los municipios de Morelos entre los años 2002- 2003. Los datos provienen de un inventario de cerdos de traspatio realizado por la Secretaría de Desarrollo Rural.

2. Determinación de la prevalencia de cisticercosis y caracterización de la producción porcina en la región de la Sierra de Huautla

Se visitaron 182 predios de 13 comunidades dentro de la Sierra de Huautla, al Sur de Morelos, en los que se inspeccionaron 562 cerdos (31% machos y 69% hembras). Se identificaron 92 cerdos cisticercosos lo que determinó una frecuencia promedio de cisticercosis en la región e del 13%. La comunidad con la frecuencia más alta fue Los Elotes (33%) de un total de 33 cerdos inspeccionados en lengua como se observa en el

Cuadro II.

Comunidad	# número de cerdos total ^a	# número de cerdos inspeccionados	% de cisticercosis	Número de habitantes	% de letrinas
Ajuchitlan	129	73	13.6%	241	60
Huautla	175	60	10.0%	1232	75
Huixastla	37	23	13.0%	274	90
La Era	40	34	12.5%	450	70
El Limón	70	56	28.0%	182	60
Chimalacatlan	80	19	36%	450	60
Los Elotes	35	33	33.0%	85	60
Quilamula	140	134	9.0%	659	67
Rancho Viejo	40	28	3.0%	213	63
San José de Pala	50	41	14.0%	440	53
El Vergel	430	24	12%	798	80
Los Sauces	110	27	22%	279	75
Santiopan	30	25	20.0%	146	80
Tepehuaje	40	26	3.0%	130	85
Huaxtla	30	16	0 %	60	85
Xochipala	30	13	0 %	162	90

^aNúmero de cerdos estimado en base a los datos señalados por la Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Gobierno del Estado de Morelos, Departamento de Sanidad Animal. 2004., INEGI, 2000.

Cuadro II. Frecuencia de cisticercosis porcina por *Taenia solium* en 16 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos (2004).

Las comunidades estudiadas cuentan con escasos servicios de salud, carecen de red de drenaje, sólo las calles principales de acceso están pavimentadas. En general hay energía eléctrica, telefonía rural, la distribución de agua en la red pública proviene de pozos a depósitos de agua con irregular esquema de potabilización. La producción porcina es en los traspatios y calles de la comunidad, algunas ocasiones se permiten el pastoreo. La vacunación contra Fiebre Porcina Clásica se realizó de manera gratuita por las autoridades de Salud Animal.

Las porcicultura de la región se caracteriza por mantener a los animales en completa libertad durante todo el año, sólo el 15% de los porcinos son mantenidos en confinamiento en corrales improvisados y solo al 8% se les da concentrados comerciales, pues es el maíz en grano, en cantidades reducidas y que se les administrada diariamente, la principal fuente de nutrientes para los animales. La mayor parte del tiempo los cerdos consumen aguas residuales principalmente en barrancas, represas y bordos, que son sistemas de captación de agua pluvial durante todo el año y que puede estar contaminada; en algunas comunidades, cuando escasea, se les suministra agua de la red pública (el 21% de los animales) y de pozo (17% de los animales). El resto, al mantenerse los cerdos en libertad dentro de la comunidad, se provee de agua estancada donde se vacían los drenajes.

Otra variable considerada fue el origen de los cerdos, la mayoría nacieron dentro de la misma comunidad (96%), y sólo el dos por ciento es introducido de otros municipios (2%) y el resto de otras entidades federativas.

En cuanto al fenotipo, predominan los cerdos criollos en un 58% y el 42 % es derivado de

razas mejoradas (York, Landrace, Durok, Hampshire y Pietrain), con una alta tendencia a dejar de pie de cría cerdos sin pigmentación en la piel y de tipo magro, con menos grasa dorsal.

De acuerdo a su destino, los porcinos se finalizan para autoconsumo en un 28%; el 13 % es comercializado con los carniceros de la comunidad. En ambos casos, los cerdos finalizados son “castrados” meses antes del sacrificio. El 59% de los cerdos restante son vendidos a intermediarios que los sacan de la región.

3. Efecto de vacunación determinado por inspección en lenguas

El estudio de vacunación se realizó en las 16 comunidades de la Sierra de Huatla incluyendo las 13 comunidades estudiadas. La vacunación redujo significativamente el porcentaje de cerdos cisticercosos como se ilustra en el Cuadro III.

Comunidad	#Cerdos incluidos [†]	# Cerdos inspeccionados	% Cerdos con cisticercos (‡)			
			Control		Inmunizados S3Pvac-fago	
Ajuchitlan	136	113	6.6	(3/45)	4.4‡	(3/68)
Chimalacatlan	141	53	10.5	(2/19)	0	(0/34)
El Limon	90	29	27	(3/11)	11.1	(2/18)
Huautla	132	73	7.5	(3/40)	0	(0/33)
Xochipala	12	12	40	(2/ 5)	0	(0/ 7)
Huaxtla	24	9	25	(1/ 4)	0	(0/ 5)
El Tepehuaje	24	16	20	(1/ 5)	12.5	(1/11)
Huizaxtla	3	3	0		0	(0/ 3)
La Era	46	34	27.2	(6/22)	8.3	(1/12)
Los Elotes	24	13	0	(0/ 4)	0	(0/ 9)
Los Sauces	94	48	10.5	(2/19)	10.3	(3/29)
Quilamula	158	32	7.6	(1/13)	0	(0/19)

Rancho Viejo	44	25	33.3	(3/ 9)	6.2	(1/16)
San Jose de Pala	66	34	6.6	(1/15)	0	(0/19)
Santiopa	44	29	9	(1/11)	5.5	(1/18)
El Vergel	9	7	0	(0/ 1)	0	(0/ 6)
Total	1047	530	13	(29/223)	3.9	(12/307)

†Total numero de cerdos no infectados de 3 -5 meses de edad incluidos en el protocolo de vacuna de acuerdo a la inspección en lengua.

‡ Número de cerdos con cisticercos / numero total de cerdos por inspección en lengua en los grupos testigo y los inmunizados con S3Pvac-fago cada una de las 16 comunidades.

Cuadro III . Frecuencia de cisticercosis por *Taenia solium*, en los cerdos

diagnosticados por inspección en lengua de 7-9 meses de edad, en las 16 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos, diciembre 2004- diciembre 2005.

4. Efecto de vacunación determinado por inspección en necropsias

Al comparar las prevalencias determinadas por inspección en necropsias de 331 de los cerdos incluidos en el estudio se encontró un 14.2% para el grupo testigo y 6.6% para el grupo tratado ($P=0.036$) como se ilustra en el Cuadro IV.

Comunidad	†Testigo	‡Número de cisticercos	†Vacuna	‡Número de cisticercos
Ajuchitlan	5 / 19	265	3 / 28	25
Chimalacatlan	2 / 9	71	2 / 10	5
El Limón	1 / 14	109	1 / 14	27
Huautla	1 / 31	69	2 / 28	21
Xochipala	0 / 1	0	1 / 7	6
Huaxtla	1 / 1	86	0 / 7	0
El Tepehuaje	0 / 2	0	0 / 1	0
Huizaxtla	0 / 0	0	0 / 2	0
La Era	1 / 7	107	1 / 4	2
Los Elotes	0 / 4	0	0 / 7	0
Los Sauces	1 / 11	40	3 / 23	49
Quilamula	2 / 12	44	0 / 15	0
Rancho Viejo	1 / 7	15	0 / 24	0
San Jose de Pala	3 / 10	182	0 / 13	0
Santiopa	1 / 6	60	0 / 14	0
El Vergel	0 / 0	0	0 / 1	0

Total	19/134	1048	13/197	135
Prevalencia	14.2%		6.6%	
Promedio ± SD		95.2 ± 71.6		19.2 ± 16.6

† Número de cerdos cisticercosos / número total de cerdos inspeccionados a la necropsia en los grupos control y vacunado en cada una de las 16 comunidades en cada una de las comunidades. Eficiencia de la vacuna: 54% (reducción en el número de cerdos infectados) o 80% (reducción en el número de cisticercos).

Cuadro IV. Frecuencia de cisticercosis porcina *Taenia solium* determinadas en la necropsia de cerdos, en las 16 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos, 2006.

La vacuna fue capaz de reducir el número de metacéstodos en estado vesicular en los animales inmunizados. Se determinó en el grupo testigo 65.5 ± 74.2 cisticercos y en el grupo vacunado 8.4 ± 14.4 . Las diferencias resultaron altamente significativas ($P=0.013$) (Cuadro IV).

Adicionalmente, la vacuna influye sobre la distribución que los metacéstodos de *T solium* presentaron por sitio anatómico en el hospedero. Cabe señalar que en todos los casos el promedio de los cisticercos vesiculares encontrados fue mayor en el grupo control en comparación con el vacunado. El músculo del diafragma en el caso de los vacunados fue el que más número de parásitos en estado vesicular presentó. El porcentaje de parásitos encontrados en los tejidos indica que el diafragma tuvo el mayor porcentaje de cisticercos para el grupo control (44.1%) y 45.3% para el grupo vacunado, el corazón mostró el 31% para ambos grupos, la lengua (14.6% para el grupo testigo y 14% para vacuna) y 9,6% vs 9,3% para el masetero. (Figura 1).

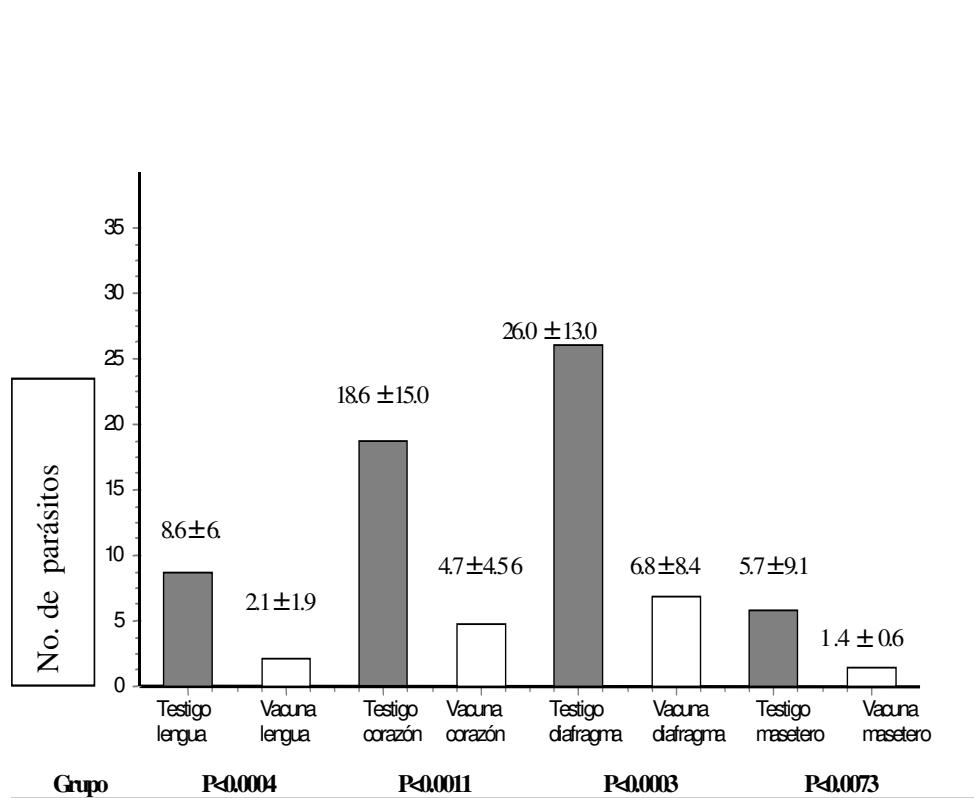


Figura 1, Frecuencia de cisticercos en los tejidos al momento de las necropsias de los cerdos de las comunidades de la Sierra de Huautla 2004-2006.

5.-Relevancia de factores de exposición en la cisticercosis

En el Cuadro V se ilustran los factores de riesgo evaluados y su relación con la cisticercosis en la región antes de la vacunación. La cantidad de cisticercos y el número de cerdos parasitados fueron las variables utilizadas para estimar la cisticercosis en el área. Los factores de exposición que resultaron asociados significativamente fueron: la ausencia de letrinas ($OR= 2.365$, $P =0.0008$), el permitir a los cerdos deambular libremente ($OR= 2.16 P=0.05$), el consumo de agua superficial en las barrancas ($OR=1.631$, $P=0.05$).

Variable		Con cisticercos	Sin cisticercos	Total	P	OR ¹
Letrina	No	39 (20%)	153 (80%)	192	0.0008	2.365
	Si	36 (9.7%)	334 (90.3%)	370		
Confinamiento	No	69 (14.4%)	410 (85.5%)	479	0.0548	2.16
	Si	6 (7,2%)	77 (92.7%)	83		
Consumo de agua de barranca	Si	54 (15.3%)	298 (84.6%)	352	0.0472	1.631
	No	21 (10%)	189 (90%)	210		
Origen del cerdo	Local	74 (13.7%)	465 (86.7%)	539	0.16	3.50
	Otro	1 (4.3%)	22 (95.7%)	23		
Destino del cerdo	Intermediario	38 (11.5%)	292 (88.5%)	330	0.0814	0.69
	Local	37 (16%)	195 (84%)	232		

¹Razón de Momios.

Cuadro V. Identificación de los Factores de Riesgo asociados a la cisticercosis por *Taenia solium* en el año 2004 en 13 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos

6.-Relevancia de factores biológicos del hospedero en la cisticercosis

En el Cuadro VI, se presentan los factores asociados al sexo (género) y su relación con cisticercosis antes de la vacunación en la región de la Sierra de Huautla. En el caso de los machos, al comparar el porcentaje de infestación del total de cerdos castrados contra los no castrados, no hubo diferencias entre ambos grupos ($P =0.9$). Lo mismo ocurrió al evaluar por estratos de edad; sin embargo, al reagrupar como castrados a aquellos cerdos con más de 3 meses de castración contra los castrados con 3 ó menos meses de castrados o no castrados, se observó una mayor frecuencia en los primeros ($OR= 1.8$, $P=0.0075$).

Variable		Con cisticercos	Sin cisticercos	Total	P	OR ¹
Sexo	Machos	29 (13.1%)	191 (86.9%)	220	0.46	1.02
	Hembras	46 (13.5%)	296 (86.5%)	342		
Castración en machos	Si	21 (13.3%)	137 (86.7%)	158	0.87	1.02
	No	8 (10.3%)	54 (89.7%)	62		
Tiempo de castración en machos	> 4 meses	11 (19%)	47 (81%)	58	0.007	1.81
	<3 meses	4 (4.3%)	90 (95.7%)	94		
Gestación en hembras	< 1 parto	6 (14%)	37 (86%)	43	0.08	4.05
	1 parto	1 (4%)	50 (96%)	52		
Fenotipo	Mejorado	42 (12.9%)	284 (87.1%)	326	0.40	0.91
	Criollo	33 (14%)	203 (86%)	236		

¹Razón de Momios

Cuadro VI Características de los cerdos en cuanto a genero, estado fisiológico y fenotipo, en la Sierra de Huautla, Morelos y la cisticercosis por *Taenia solium*, 2004.

Con respecto a la edad, la prevalencia se ve incrementada conforme aumenta la edad de los cerdos. Adicionalmente, se observó un menor peso de los cerdos con cisticercos con relación a los no infectados de la misma edad (Cuadro VII).

Grupos etarios (meses)	Cisticercosos	No cisticercosos	P
3 – 5	23.8 ± 9.0 ^a (16)	22.6 ± 11.6 (137)	0.69
6 – 8	32.9 ± 10.6 (21)	39.9 ± 21.2 (118)	0.14
9 – 13	43.1 ± 20.1 (16)	54.9 ± 24.6 (107)	0.07
14 – 18	66.0 ± 19.5 (5)	58.9 ± 20.3 (28)	
>19	69.7 ± 22.5 (17)	79.6 ± 29.7 (97)	0.19

^a Media ± desviación estándar del peso de los cerdos por grupo. n= numero de cerdos incluidos en cada grupo etario

Cuadro VII. Composición etaria y peso en kg de la población porcina y su relación con la cisticercosis *Taenia solium*, 2004.

7.-Estudio georeferenciado de la distribución de la cisticercosis porcina

Con base en ubicación georeferenciada, la cantidad y la relación con cerdos infectados con el cisticerco de *T. solium*, estos datos se ordenaron por cada una de las comunidades y se calcularon tres índices de agregación (Clark y Evans, 1954) que fueron:

- 1.- Cociente de la varianza con la media RVM1.
- 2.- Índice del vecino más cercano IVC
- 3.- Cociente de la varianza con la media RVM2, conforme al número de cerdos por cada vivienda.

Para cada comunidad la distribución espacial fue normalizada de 0 a 1 y sobre esa distribución una cuadricula fue sobreposta, para ser contabilizados los número de eventos en cada cuadrante.

Para el índice de RVM se dividió el promedio de los puntos por cada cuadrante y por la varianza del mismo valor obtenido. Para el RVM2 se calculó de la misma manera pero contando el número de cerdos en cada uno de los cuadrantes.

Para el IVC, se calcularon las distancias más cercanas entre los cuadrantes ocupados, y con este valor se calculó la diferencia entre la distribución observada y la esperada, considerando que esta última fuera al azar, la interpretación del valor de cada índice se observa en el Cuadro VIII.

Comunidad	RVM (VMR)			RVM ₂ (VMR ₂)			IVC (NNI)		
	T	C	E	T	C	E	T	C	E
Ajuchitlan (1)	1.24	1.24	1.14	9.39	8.57	2.29	0.17	0.17	0.22
Huautla (2)	2.33	2.33	0.83	9.62	8.94	1.14	0.18	0.18	0.22
Huixatzla (3)	1.25	1.40	0.96	10.41	9.27	1.61	0.25	0.29	0.35
Huaxtla (4)	0.87	0.87	-	3.63	3.63	-	0.25	0.25	-
La Era (5)	1.67	1.67	1.61	6.30	6.07	1.61	0.20	0.20	0.35
El Limón (6)	1.81	1.65	1.46	7.26	4.95	2.98	0.18	0.18	0.20
Los Elotes (7)	1.06	0.95	0.97	2.69	1.99	1.34	0.13	0.15	0.20
Quilamula (8)	1.57	1.49	0.98	10.26	10.03	0.98	0.12	0.12	0.16
Rancho Viejo (9)	1.91	1.91	-	7.32	7.25	-	0.19	0.19	-
San Jose de Pala (10)	0.89	0.89	0.79	3.70	3.10	0.79	0.16	0.16	0.20
Santiopan (11)	0.83	0.83	0.87	2.83	3.02	1.25	0.17	0.17	0.25
Tepehuaje (12)	1.25	1.20	-	4.21	4.33	-	0.16	0.16	-
Xochipala (13)	0.92	0.92	-	5.47	5.47	-	0.29	0.29	-

Valores para la interpretación de los índices

	Indices		
Distribución	RVM	RVM ₂	IVC
Uniforme	0	0	2.14
Aleatoria	~1	~1	~1
Agregada	>1	>1	~0

Cuadro VIII. Índices de agrupación de los datos georeferenciados en las 13 comunidades de la Sierra de Huautla, Morelos 2004.

El tamaño de los cuadrantes se definió calculando los índices para las distintas resoluciones de la cuadricula y se escogió el valor menor después del cual los valores de los índices se

mantienen constantes.

Con este análisis se observó si las viviendas donde poseen cerdos sanos y cerdos infectados, guardaron algún orden o mostraron agregación en un espacio en particular dentro de cada comunidad, de primera instancia de observa una distribución al azar de los cerdos infectados en relación con las viviendas donde poseían cerdos y no estaba infectados. Las diferencias entre todas las viviendas con cerdos infectados en ninguno de los casos resultaron mas agregadas que el total de las viviendas en su conjunto, lo que sugiere proponer que la cisticercosis porcina por *T. solium*, se encuentra presente de manera homogénea en este primer análisis en la región.

8.- Características de los cerdos asignados como controles y como vacunados para la evaluación de la vacuna S3Pvac-fago

En el Cuadro IX, se presenta la distribución de las variables registradas en los cerdos de 3-5 meses de edad y cómo se asignaron los grupos (Controles n=421, Vacunados=626),

Variables registradas	Testigo (n=421)	S3Pvac-Fago (n=626)	P-valor
Edad en meses (promedio ± SD)	3.08 ± 1.82	3.15 ± 2.34	0.60
Peso en Kg (promedio ± SD)	14.19 ± 8.28	14.62 ± 8.55	0.42
Sexo, n (%)			
Macho	198 (47.03)	305 (48.72)	0.59
Hembra	223 (52.97)	321 (51.28)	
Macho Castración, n (%)			
Si	174 (87.88)	253 (82.95)	0.13
No	24 (12.12)	52 (17.05)	
Hembra Castración, n (%)			
Si	11 (4.93)	9 (2.80)	0.19
No	212 (95.07)	312 (97.20)	
Suministro de agua, n (%)			
Tubería	80 (19.00)	142 (22.68)	0.14
Río	236 (56.06)	356 (56.87)	

Pozo	105 (24.94)	128 (20.45)	
Confinamiento, n (%)			
Libre	408 (96.91)	602 (96.17)	0.52
Atado	13 (3.09)	24 (3.83)	
Letrina en casa de dueños, n (%)			
SI	306 (72.68)	441 (70.45)	0.43
No	115 (27.32)	185 (29.55)	
Origen de los cerdos, n (%)			
Cría propia	359 (85.27)	538 (86.08)	0.71
Comprados	62 (14.73)	88 (13.92)	
Destino de los cerdos, n (%)			
Autoconsumo	122 (18.98)	186 (29.71)	0.79
Para venta	299 (71.02)	440 (70.29)	
Fenotipo predominante, n (%)			
Criollo	265 (62.95)	365 (58.31)	0.13
Otro	156 (37.05)	261 (41.69)	

Cuadro IX. Variables registradas en los cerdos de 3-5 meses de edad dentro de cada grupo. Septiembre 2004 a agosto 2005. Sierra de Huautla, Morelos. México

9.-Relevancia de factores de exposición en la eficiencia de vacunación contra cisticercosis

En la Figura 2 se ilustran la eficiencia de vacunación en condiciones de baja exposición (dueños de los cerdos con casas con letrinas) y de alta exposición (dueños de los cerdos con casas sin letrinas relevancia). Se observó una frecuencia de cisticercosis menor en el grupo de cerdos vacunados que en los controles en condiciones de alta y de baja exposición. En la Figura 3 se ilustra que la vacunación disminuyó la cantidad de parásitos significativamente tanto en el grupo vacunado de alto riesgo como en el de bajo riesgo.

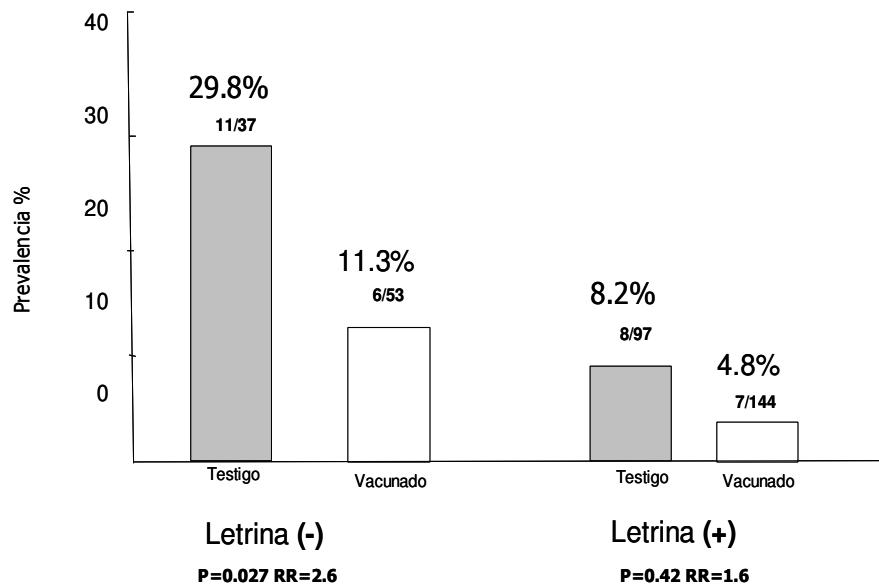


Figura 2. Frecuencia de cisticercosis por *Taenia solium* en cerdos evaluados a la necropsia y la relación con el uso de letrina en los domicilios de los propietarios de los cerdos vacunados y no vacunados en la Sierra de Huautla, Morelos. 2006. *(Prueba de Chi cuadrada),

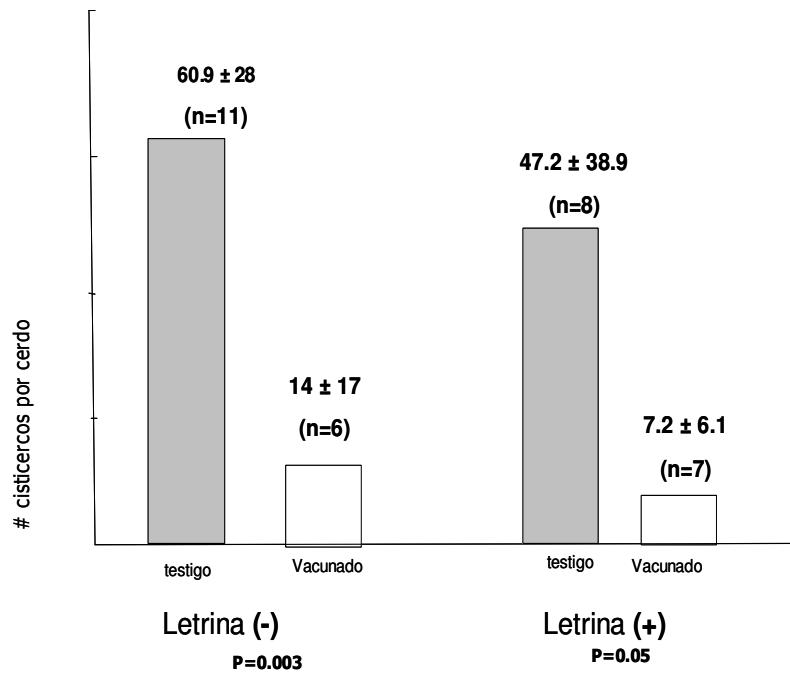


Figura 3. Carga parasitaria de cisticercos por *Taenia solium* y la relación con el uso de letrina en los domicilios de los propietarios de los cerdos vacunados y controles en la Sierra de Huautla, Morelos. 2006. (Mann-Whitney Test).

10.-Relevancia de factores biológicos del hospedero en la eficiencia de vacunación contra cisticercosis

Se observa en el Cuadro X las diferentes variables evaluadas y su relación con la cisticercosis porcina determinada por necropsia. En este análisis, los siguientes factores resultaron significativamente asociados a una menor prevalencia de cisticercosis: ser machos ($P = 0.009$), ausencia de gestación ($P=0.0001$), tiempo más corto desde la castración en machos ($P = 0.004$), letrina en la casa de los dueños ($P=0.001$) y vacunación ($P = 0.036$). Se realizó una regresión logística en la que se incluyeron los factores que se relacionaron a menor prevalencia de cisticercosis con una $P \leq 0.1$ según el análisis univariado. La presencia de letrina ($P = 0.039$), gestación ($P <0.0001$) y vacunación ($P = 0.004$) fueron las variables que se asociaron con protección según este análisis.

	Infectado	No infectado	P-valor
Género (Macho / Hembra)	9/23	157/142	0.009
Gestación (si/no)	12/11	20/123	0.0001
Castración in hembra (si/no)	1/22	4/138	0.53
Castración in macho (si/no)	9/0	142/15	1
Meses desde la castración en macho (promedio±SD)	12.3±4.2	9.5±5.4	0.12
Libre ambulante (si/no)	32/0	289/10	0.6
Agua contaminada (si/no)	27/5	243/56	0.8
Letrina (presencia/ausencia)	15/17	266/73	0.001
Vacunación (si/no)	19/13	115/184	0.036

Cuadro X . Variables del hospedero y de la exposición con relación a cisticercosis porcina *Taenia solium*, determinada por necropsia, en cerdos inmunizados con

S3Pvac-fago y testigos en la Sierra de Huautla, Morelos. 2006.

11. Relevancia de los factores de exposición y biológicos en la eficiencia de la vacunación

En el Cuadro XI se resume el efecto de exposición y los factores sexuales en la eficacia de la vacuna determinada por la necropsia, medida en términos de reducción de cerdos con cisticercos y reducción en el número de cisticercos en aquellos infectados. Se usaron sólo tres parámetros para este análisis: el sexo de los cerdos, si la hembra tuviera o no una gestación, y si los dueños de los cerdos tuvieran o no las letrinas en sus casas.

	Testigo	Vacuna	P1	P2
	†Frecuencia de infección	‡(X±SD)	†Frecuencia de infección	‡(X±SD)
Sexo				
Macho	3/63	54 ± 16	6/103	11 ± 10
Hembra	16/71	55± 35	7/ 94	10 ± 14
Letrina				
Si	8/97	47 ± 39	7/144	7 ± 6
No	11/37	61 ± 28	6/ 53	14 ± 17
Gestación				
Si	10/13	51 ± 33	2/ 19	3 ± 1
No	6/58	62 ± 41	5/ 76	13 ± 17

X: promedio; SD: desviación estándar

P1: Diferencia en la frecuencia entre los cerdos infectados de los grupos testigo y vacuna

P2: Diferencia en el número de parásitos entre los grupos testigo y vacunas

†Número de cerdos con cisticercosis /numero total de cerdos. ‡ promedio de cisticercos ± SD en cerdos.

Cuadro XI. Relevancia de los factores de exposición y sexuales en la eficiencia de la inmunización con S3Pvac-fago y testigos en 331 necropsias realizadas en la Sierra de

Huautla, Morelos, 2006.

Como en el cuadro IX se ilustra la vacuna redujo significativamente el porcentaje de cerdos con cisticercos en hembras pero no en machos. La vacuna también redujo la frecuencia de hembras con cisticercos en aquellas que habían tenido gestación y en cerdos cuyos dueños tenían o no letrina en casa.

12. Efecto de la vacunación en el peso de los cerdos

El cuadro XII, se ilustran los pesos de los cerdos (promedios y la desviación estándar) registrados en tres tiempos, al momento de la vacunación, al momento de la inspección en lengua y al momento del sacrificio en los cerdos vacunados y controles. Como puede observarse los cerdos controles y vacunados no cisticercosos presentaron una ganancia similar de peso.

		Edad (meses)			P ¹	*P ²
		3-5	7-9	12		
Controles						
Cisticercosos	11	18 ±10.6	43.2±24.4	52.1±11.9	0.006	0.29
No-cisticercosos	71	15.1± 8.5	45.4±20	63.4±18.4	<0.0001	<0.0001
Vacunados						
Cisticercosis	6	6 ± 2	30.8±18.5	41.7± 7.5	0.004	0.2
No-cisticercosis	127	14.8± 8.9	43.9±19.8	61.2±19.1	<0.0001	<0.0001

**Cuadro XII. Peso en Kg de los cerdos inmunizados con S3Pvac-fago y controles,
Sierra de Huautla, Morelos, 2004-2006**

Incremento de peso de 215 cerdos con cisticercosis diagnosticada por inspección en lengua y confirmada en la necropsia.

P¹: Diferencias en el peso entre 3-4 y 7 meses,

P²: Diferencias en peso entre 7-9 y 12 meses de edad.

VII.- DISCUSIÓN

La elección del Estado de Morelos como área de estudio se consideró debido a las facilidades logísticas y los reportes previos que indicaban altas prevalencias de esta parasitosis en diferentes comunidades del Estado (Sarti et al., 1992, Martínez et al., 2001 y Morales et al., 2002).

Los resultados obtenidos en este estudio sobre la situación de la cisticercosis porcina en el Estado de Morelos indican una prevalencia global del 14%. Estos datos guardan similitud con los reportados en diferentes partes del mundo (Acevedo-Hernández, 1992., Aluja S. et al 1987, Phiri et al, 2002, Nogowi et al, 2004, Garcia et al, 2003^a, Eddi et al, 2006, Ito et al, 2003, Domy et al, 2004., Montresor and Palmer, 2006, Flisser et al, 2006). Como lo indica el estudio reportado en esta tesis la cisticercosis por *Taenia solium* continua presente en México en cifras que justifican esfuerzos para su control (Sarti et al, 1994, 1997, Morales et al, 2002, Sciutto et al, 2000, Fleury et al, 2006, Martinez, 2000). Cabe mencionar que ese trabajo representa el primer estudio epidemiológico a nivel estatal sobre cisticercosis porcina en México. Las variaciones en la prevalencia de cisticercosis porcina encontradas en los diferentes municipios no correlacionaron con los niveles socioeconómicos entre los mismos, probablemente debido a que no fue el objeto de estudio la determinación de la prevalencia por comunidad. Esta información contrasta con lo reportado en estudios previos puntuales realizados en diferentes comunidades en los que se encontró asociación significativa entre la cisticercosis y los factores de marginación. La falta de asociación entre cisticercosis y marginación a nivel estatal señala la amplia distribución de la parasitosis en el Estado de Morelos.

Este estudio permitió, además, identificar una región adecuada para la evaluación de la vacuna. Esta región denominada la "Sierra de Huautla" presentaba en el estudio Estatal prevalencia al menos el 10% de cisticercosis porcina de manera global. En estas comunidades en las que se practica extensamente la crianza rústica del cerdo, que además están interconectadas por carreteras de terracería que sirven de manera adecuada para la logística de traslado y habitantes interesados en participar. El estudio realizado en esta región, permitió conocer la magnitud de las condiciones que se deben considerar para una intervención de control masivo de la enfermedad y el seguimiento de los cerdos que se incluyan hasta su evaluación, situación que puede ser similar y de utilidad en otras regiones rurales y suburbanas.

Se realizó el estudio en el que se revisaron un total de 562 cerdos en 13 diferentes comunidades para determinar la prevalencia de cisticercosis antes de comenzar el programa de vacunación. Se encontró que el 13 % de los cerdos de los de la "Sierra de Huautla" presentó cisticercosis en la lengua, con variaciones significantes entre pueblos (0-33%). La diferente frecuencia de cisticercosis porcina entre las comunidades no se relacionó con diferentes factores de riesgo ni de exposición ni con el número total de cerdos de cada pueblo, que podría bien suponer la movilización para el comercio y subsecuente sacrificio de los cerdos y la posible movilidad del portador de la tenia, en las diferentes comunidades. En este estudio se confirmó el hallazgo que señala la participación de factores hormonales y de exposición en la susceptibilidad a la cisticercosis porcina (Morales et al., 2006).

Este estudio incluye un nuevo abordaje en la epidemiología de la cisticercosis incluyendo el uso de GPS. El uso del geoposicionamiento para estudiar la situación espacial de la cisticercosis porcina permite un nuevo acercamiento para identificar la existencia de sitios más activos de transmisión de la cisticercosis porcina en un área endémica. La técnica ha

contribuido a los estudios epidemiológicos de diferentes enfermedades (Hay y Lenono *et al.*, 1999; Smith *et al.*, 2002, Gilbert *et al.*, 2005; Nihei *et al.*, 2006). El uso del GPS para ubicar y posteriormente analizar los datos y estudiar la posibilidad de agregación de casos de cisticercosis porcina (Lescano *et al.*, 2007), es una nueva herramienta que en este estudio se utilizó para obtener la ubicación de los predios donde había cerdos, ordenar los datos, dividir la región en cuadrantes y resolver el cuestionamiento sobre si la distribución de casos resultaba mayor en alguno de ellos. Utilizando este procedimiento no se encontró agregación de cisticercosis porcina en el área, hallazgo compatible con una exposición uniforme al parásito de los cerdos de traspaso de esta región y probablemente asociada a la forma de crianza que permite a los cerdos deambular libremente por la región en busca de comida, con la posibilidad de estar en contacto con el parásito. Por lo que la variable presencia de letrinas, puede perder importancia, pues sólo es relevante cuando se asocia al confinamiento de los cerdos. En este sentido, cabe señalar que los cerdos en su conducta de forrajeo incluyen recorridos diarios de distancias aproximadas de 2 a 5 km (Copado *et al.*, 1996). Estos hallazgos contrastan con los obtenidos en otros estudios que reportan la agregación de cerdos con cisticercosis en ciertas casas de algunos pueblos (Sarti *et al.*, 1992, Lescano *et al.*, 2007). Diferencias geográficas y culturales y las asociadas a la forma de crianza y la movilización de los humanos en las diferentes regiones podrían explicar a las diferencias encontradas. En este sentido, en la región de la Sierra de Huautla se practican extensamente labores agrícolas, en los alrededores de las comunidades. Los trabajadores del campo que atienden las cosechas o cuidan del ganado o esperan en el camino al escaso transporte urbano, practican frecuentemente el fecalismo a ras del suelo y probablemente contribuyen a la homogénea dispersión de huevos en el ambiente.

Estos hallazgos señalan la importancia de la aplicación de medidas de control amplias y la inclusión masiva de animales expuestos en los programas propuestos.

Otro aspecto de interés resulta la ausencia de factores de riesgo que justifiquen las diferentes frecuencias de cisticercosis encontradas entre las diferentes comunidad estudiadas. Esta observación podría ser compatible con la presencia de un portador del parásito adulto en la vecindad de algunos de ellos que aumentara la frecuencia, aspecto que no se estudio en el mencionado trabajo. Esta posibilidad resulta congruente con los trabajos que indican el aumento de seroprevalencia (contacto) con la reducción de las distancias a un portador del parásito adulto (Lescano et al., 2007).

Considerando la información obtenida se decidió incluir 16 de las comunidades de la Sierra de Huautla, donde las características socioculturales son similares, las redes carreteras y las características de ambiente y de la forma de crianza, comercialización y consumo de los cerdos permitieran dar el seguimiento necesario al programa de vacunación. Considerando los reportes sobre la alta mortalidad en los primeros meses de vida de los lechones criados en forma no tecnificada (Morales et al., 2002, Martínez et al., 1999), se decidió incluir en el programa de vacunación cerdos de entre 3 y 5 meses de edad. Para el seguimiento oportuno en las visitas continuas a las comunidades, se identificaron los cerdos con microchips y aretes plásticos que permitieron la ubicación más rápida de los cerdos en los tiempos de inspección de los mismos y en los sacrificios. Por último, la factibilidad de este estudio aumentó debido al interés de los propietarios de los cerdos en participar en el protocolo de vacunación sin modificar su manera de crianza de los cerdos.

Se observó que el tiempo desde la castración y la que tuvieron gestación puede modificar la capacidad protectora de la vacuna, en este sentido este estudio de campo ha permitido

evaluar la relevancia de todos los factores de transmisión y por ende validar el potencial de uso de la vacuna en una intervención de mayor cobertura, como podría ser una campaña de control oficial. Los resultados obtenidos señalan que la vacuna redujo significativamente la cantidad de cerdos cisticercosos y con mayor eficiencia la cantidad de parásitos instalados, aunque se observaron en estado vesicular en ambos grupos, la cantidad fue notoriamente menor en el grupo vacunado. Estos resultados indican que la vacunación puede reducir la cantidad de parásitos con mayor eficiencia que la observada en proteger completamente al cerdo de la instalación, resultados similares a los observados durante la evaluación en campo con la versión sintéticamente producida de S3Pvac (Huerta *et al.*, 2001). En este estudio se encontró además, que la vacuna resulta altamente eficiente en condiciones de alta y baja exposición utilizando como parámetro de exposición la presencia o ausencia de letrinas (Morales *et al* 2003, Sarti *et al.*, 1988, Keilbach *et al.*, 1989). Este parámetro se empleó considerando la certidumbre de este dato registrado directamente por los participantes del trabajo. Esta información confirma la importancia del correcto procesamiento de las heces humanas que además podría reducir otras zoonosis relacionadas con contaminación fecal (Acha, 1986, Eddi 2006).

Al respecto de la relevancia de factores asociados al sexo y la susceptibilidad a la cisticercosis y la eficiencia de vacunación cabe mencionar que la participación de factores asociados al sexo se ha reportado en diferentes parasitosis (Larralde *et al.*, 2005; Gómez *et al.*, 2000). En numerosas enfermedades e infecciones parasitarias de los vertebrados es bien conocida la existencia de un dimorfismo sexual (Ansar *et al.*, 1985). Además, las hormonas sexuales modulan la respuesta inmune y pudieran estar involucradas en la susceptibilidad a la infección asociada al género (Grossman, 1984). En caso de ratones infectados con cisticercos de *Taenia crassiceps*, se ha observado mayor susceptibilidad

(Terrazas *et al.*, 1994) de las hembras, pero conforme avanza la infección la carga parasitaria se incrementa en ratones de ambos sexos llegando a igualarse. Estos eventos se asocian con importantes modificaciones en los perfiles hormonales de los ratones y en su comportamiento reproductivo (Sthoeger *et al.*, 1988, Larralde *et al.*, 1995, Morales-Montor *et al.*, 1996), así como el desarrollo y la reproducción "in vitro" de la fase larvaria de cestodos en medios con la adición de hormonas involucradas en la reproducción (Díaz-Orea, *et al.*, 2007).

En la cisticercosis por *T. solium* se ha observado mayor prevalencia de la parasitosis en hembras gestantes que en no gestantes. La castración en los machos aumenta también la prevalencia de cisticercosis porcina en cerdos criados en condiciones no tecnificadas (Morales *et al.*, 2002). Recientemente Peña *et al.*, 2007 reportaron que sementales rústicos infectados naturalmente presentaban niveles reducidos de testosterona respecto a los no infectados con cisticercos. Si bien en este trabajo los cerdos machos incluidos fueron castrados en su totalidad por sus propietarios aunque en diferentes edades, considerando como enteros aquellos cerdos que se castraron de 30 a 15 días antes del sacrificio, se encontraron diferencias en la eficiencia de vacunación asociadas a sexo. Cuando se calculó la eficiencia de vacunación en función del porcentaje de cerdos totalmente protegidos se observa que la vacuna reduce significativamente el porcentaje de hembras con cisticercosis del 22 al 7.4% mientras no modifica el porcentaje de cerdos con cisticercosis. Cuando se observa el efecto de la vacuna en la disminución de la cantidad de parásitos recuperados, la vacuna reduce la cantidad de parásitos recuperados tanto en machos como en hembras en proporción similar. Estos resultados indican que en un ambiente sexual de las hembras se induce una respuesta esterilizante por vacunación que no se induce en los machos. Estos datos indican que los factores asociados al sexo participan en la protección total del cerdo a

la parasitosis e indican el interés biológico de ahondar en la relación entre inmunidad inducida por vacunación con S3Pvac-fago y factores asociados al sexo.

Considerando que existe gran posibilidad de que la mayoría de los cisticercos en estado vesicular puede transformarse en una tenia, el efecto de la vacuna en reducir en más del 80% la cantidad de parásitos instalados señala su potencial en interrumpir la transmisión de la parasitosis. El bajo costo de esta versión de vacuna aumenta la factibilidad de su aplicación masiva y la posibilidad de incorporarlo como una herramienta de utilidad en campañas de control. Los resultados obtenidos permiten recomendar la utilización de esta vacuna, para su aplicación en campañas de control adicionando el uso de letrinas, confinamiento de las cerdas en estado reproductivo hasta el destete, castración tardía de los machos y principalmente abordar el problema de manera integral con campañas permanentes enfocadas a mejorar la salud humana y animal.

Por ultimo cabe señalar algunos aspectos marginales resultado de este trabajo al respecto de la validez del método de inspección de lenguas para el diagnóstico de la cisticercosis porcina. En este trabajo de tesis se utiliza el método de diagnostico basado en la inspección de lenguas en cerdos en pie. Este procedimiento, es una herramienta diagnóstica práctica, poco invasiva, de bajo costo y accesible de utilizarse en poblaciones extensas de cerdos, que ha sido utilizado en múltiples estudios realizados en México y todo el mundo. Cuando se practica por individuos entrenados adecuadamente, el ensayo presenta alta especificidad (>90%). Al respecto de sensibilidad, se reportan valores desde el 30 (Acevedo-Hernández 1992) al 70 % (Sciutto et al., 1998). Es factible que esta variación dependa de la cantidad de parásitos que se presenta en la población estudiada, considerando que la probabilidad de

que un cerdo cisticerco tenga cisticercos en lengua es baja en cerdos que solo presentan algunos cisticercos en su conjunto. En estas variaciones probablemente también participen el número de animales estudiados, el adiestramiento del personal y las condiciones de la inspección (Viljoen, 1937; Molinari et al., 1997; Scuitto et al., 1998; Ngowi et al., 2004). La prueba confirmatoria o definitiva para comparar con la inspección en lengua es la inspección de la carne al sacrificio, aunque esta resulta difícil de realizar, sobre todo porque la mayoría de estos animales son sacrificados sin inspección; por lo que se hace necesario el convencimiento de los productores, intermediarios y carniceros para permitir presenciar y obtener las muestras de los cerdos. En este estudio se utilizaron ambos criterios de diagnóstico (inspección en lenguas y necropsias) por lo que fue factible estimar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico por inspección en lenguas practicada por los técnicos que participaron en este estudio. La sensibilidad de la inspección en lengua en el grupo control fue del 78%, con una especificidad del 93%, mientras que para el grupo inmunizado con la vacuna S3Pvac-fago se observó una menor sensibilidad de la prueba diagnóstica (66%) y una especificidad similar del 90%. La menor sensibilidad observada en el grupo vacunado podría ser consecuencia de la menor cantidad de parásitos en este grupo. En cualquier caso, los resultados obtenidos validan el método de diagnóstico por inspección de lenguas con un método altamente específico y válido para la realización de estudios epidemiológicos. Recientemente se han reportado el método de ultrasonido como una prueba alternativa de interés por su bajo costo y factibilidad para aplicar en forma masiva aunque requiere aun ser validado para su uso extensivo en campo (Herrera et al., 2007, Mata-Miranda et al., 2007).

VIII.- BIBLIOGRAFIA.

Acha NP.y Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2a. Ed. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. Washington, D.C. 1986.

Acevedo-Hernandez, A.: Economic impact of porcine 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.: Academic Press, New York, 1992. p. 63-67.

Aluja, S. A. de, Escobar, A., Escobedo, F., Flisser, A., Laclette, 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.

Aluja S.A. de., Martínez M.J.J., Villalobos A.N.M. *Taenia solium* cysticercosis in young pigs; age at first infection and histological characteristics. Veterinary Parasitology 1998 (76) 71-79.

Aluja A.S. de, Villalobos AN. Cisticercosis por *Taenia solium* en cerdos de México, Vet. Mex. 2000. 31;239-244.

Annon. Anuario Estadístico Morelos. 2000. Instituto Nacional de Geografía Estadística e Informática. México.

Ansar, A. S., Pénale, W. J., y Talal, N. Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Mechanisms of sex hormone action. Am. J. Pathol 1985. 121, 531-551.

Azzazy H., y Highsmith Jr. E. Phage display technology; clinical applications and recent innovations. Clinical Biochemistry 2002(35) 425-445.

Bern , C., García, H.H., Evans, C., Gonzalez, A.E., Verastegui, M., Tsang V.C., Gilman, R.H., . Magnitud de la carga de la enfermedad de neurocisticercosis en un país en vías de desarrollo. Clin Infecte., Dis:1999. 29, 1203, 1029.

Clark P.J., y Evans F.C., Distance to nearest neighbour as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology*, 1954, vol 35, No. 4. pp. 445-453.

Copado F., Aluja, A, Mayagoita L., Galindo, F., Social and individual behaviors of free ranging pigs in the Mexican tropics. In: Proceedings of 31st International Congress of the International Society for Applied Ethology, Prague, Czech Republic.1997.

Díaz-Orea MA, de Aluja AS, Erosa Mde L., Gómez-Conde E., Castellanos Sánchez VO, Willms K., Sciutto E., Fragoso G., Cysticercosis and relationship involved gonadotropin in vitro development, *J. Parasitol* 2007. 93(6):1518-20.

Domy P, Phiri IK, Vercruyse J, Gabriel S, Wilingham III, AL, Brandt. et al. Bayesian approach for estimating values for prevalence and diagnostic test characteristics of porcine cysticercosis. *Int. J. Parasitol.* 2004;34:569-76.

Eddi., C. de Balogh K., Lubroth J., Amanfu W., Speedy A., Battaglia D., Domenech J., Veterinary public health activities at FAO: Cysticercosis and echinoccosis. 2006 55: 305-308.

Escobar, A.. The pathology of neurocysticercosis In *Cysticercosis of the Central nervous system* (Palacios, E., Rodriguez -Carbal J AND Taveras J.M., eds). Thomas Springfield USA.: 1983, 4;27-54.

Fleury, A., Gomez, T., Alvarez, I., meza, D., Huerta., Chavarria, A., Carrillo-Mezo, R.A., L, c., Dessein, A., Lloyd, C., Dessein, a., Preux, PM,, Dumas M., Larralde c., Sciutto, E., Fragoso G., High prevalence of calcified silent neurocysticercosis in a rural village of Mexico. *Neuroepidemiology* 2003. 22, 139-145.

Fleury A, Morales J, Bobes R.J., Dumas M., Yañez O., Piña J., Carrillo-Mezo, R., Martinez J.J. Fragoso G., Dessein A., Larralde C., Sciutto. E., An epidemiological study of familial neurocysticercosis in an endemic Mexican community. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* (2006) 100 (6): 551-8.

Flisser, A., Gauci, C.G., Martínez-Ocaña J., Solí, A., Garza-Rodríguez A., Domínguez-Alpiza J.L., Maravilla P., Rodríguez Canul R., Avila G., Aguilar Vega L., Kyngdon C., Lihtowers M.V.,

Protección against porcine cysticercosis induce by vaccination with recombinant oncosphere antigens. Infect Immun. 2004. 72:5292-5297.

Flisser A., Rodriguez-Canul R., Whillingham III . Control of the taeniosis/cysticercosis complex: Future development. Veterinary Parasitology, 2006 (139) 283-292.

Flores-Perez I., Fragoso G, Scuitto E., Aluja de A.S., Apoptosis induced by gamma irradiation of *Taenia solium* metacestodes. Parasitol. Res. 2003, 90; 203-208.

García HH. González AE., Evans CA, Gilman RH, . Cysticercosis Working Group in Peru. *Taenia solium* cysticercosis. Lancet 2003. 362: 547-556.

Gilbert M., Mitchell A., Bourn D., Mawdsley J., Clifton-Hadley R. y Wint w. Cattle movements and bovine tuberculosis in Great Britain. 2005, Nature, 435, 26. 491-496

Gomez, Y., Váldez, R., Larralde, C., Romano, M. Sex steroid parasitism: *Taenia Crassiceps* cisticercus metabolizes Androstenedione in vitro. The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 74 (2000) 143-147.

Grossman,, C.J. Regulation of the immune system by sex steroids. Endocrine Review.1984. 5, 435-444.

Hay S.I., y Lenono J.J. Deriving meteorological variables across Africa for the study and control of vector-borne disease: a comparison of remote sensing and spatial interpolation of climate. Trop Med Int Health, 1999. 4: 58-71

Herrera G. C., de Aluja A.S., y Méndez A.R. El uso de la ultrasonografía para el diagnóstico de la cisticercosis porcina. Rev. Vet. México. 2007. 38, 125-133.

Huerta M, de Aluja AS, Fragoso G, Toledo A, Villalobos N, Hernández M, Gevorkian G, Acero G, Díaz A, Álvarez I, Ávila R, Beltrán C, García G, Martínez JJ, Larralde C, Scuitto E. Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in a controlled field trial in rural México. Vaccine 2001; 20: 262-6.

Ito A., Urbani c., Qiu JM., Vuitton D.A., Qiu DC., Heat DD., et al. Control of echinococcosis and cysticercosis a public Health Challenger to International cooperation in China. Act Trop. 2003 - 86. 3-17

Johnson KS., Harrison G.B., Lightowers MW., O'Hoy KL., Cougle WG., Dempster RP., et al. Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. Nature 1989. 338; 585-7.

Keilbach NM., DE Aluja A.S., Sarti-Gutierrez E., A programme to control taeniosis-cysticercosis (*T. solium*): experiences in a Mexican village. Acta Leiden, 1989, 57 (2) 181-9.

Larralde, c., A. Padilla, M Hernández, T. Govezensky, E. Scuitto, G Gutiérrez, R. Tapia-Conyer, J. Salvatierra, y J, Sepulveda.. Seroepidemiología de la cisticercosis en México. Salud Pública Mex. 1992. 34:197-210.

Larralde, C., Morales, J., Terrazas, I., Govezensky, T., Romano, M.C., Sex hormone changes induced by the parasite lead to feminization of the male host in murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 1995. 52, 575-580.

Larralde C. y Aluja S.A..de. Cisticercosis porcina en México. Cisticercosis guía para los profesionales de la Salud. Fondo de Cultura Económica.. 2006. 252 pp.

Lescano A.G., García H.H. Gilman RH., Guezala MC., Tsang VC., Gavidia C.M., Rodriguez s., Moolton LH, Green J.A., González A.E. Swine cisticercosis hotspots surrounding *Taenia solium* taperworm carrier. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2007. 76 (2): 376-83.

Lopez-Aroche U., Salinas-Sanchez D.O., Mendoza de Gives P., Lopez-Arellano M.E., Liebano-Hernandez E., Valladares-Cisneros G., Arias-Ataide D. M., y Hernandez-Velazquez V. In vitro nematicidal effects of medical plants from the Sierra de Huautla, Biosphere Reserve, Morelos. Against *Haemonchus contortus* infective larvae. Journal of Helminthology. 2008. 82, 25-31.

Mafojane, N.A., Appleton, C.C., Krecek, R.C., Michael, L.M., Willingham A.L., El estado actual de neurocisticercosis en Oriental y Sur del África. Acta Trop. 2003. 87. 25-33.

Manoutcharian, K., Terrazas L., Gevorkian. G., Acero G., Petrossian P., Rodríguez M., y Govezensky. Infection and Immunity, 1999. vol 67. no. 9. 4764-4770.

Manoutcharian K., Rosas G., Hernández M., Fragoso G., Aluja A., Villalobos N., Rodarte L.F., y Sciutto E. Cysticercosis identification and cloning of protective recombinant antigens. J. Parasitol. 1996. 82; 250-254.

Manoutcharian, K., Díaz-Orea, A., Gevorkian, g., Fragoso, G., Acero, .G., González, E., Aluja, A., Villalobos, M.N., Gómez-Conde, E., Sciutto, E., Recombinant bacteriophage-based multiepitope vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis. Vet. Imm. and Immunophatol. 2004. 99, 11-24.

Martínez A.N., La susceptibilidad a la reinfección de cerdos de traspatio infectados con el metacéstodo de *Taenia solium*, Tesis de Maestría, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México, 2001.

Martínez-Maya JJ, de Aluja AS, Avila-Ramirez G, Aguilar-Vega L, Plancarte-Crespo A, Jaramillo-Arango CJ. (Taeniasis and detection of antibodies against cisticercosis among inhabitants of a rural community in Guerrero State, México.). Salud Pública Mex. 2003 Mar-Apr;45(2):84-89.

Mata-Miranda P., Osmaya-Palma, Rodríguez-Prado U., Gutiérrez-Marín A., Tawil M., Hernández-González S., Solano-Ceh M., Villalvazo L., Martínez-Maya J.J., Maravilla P., García-de-la-Torre, y Flisser A., Epidemiologic and ultrasonographic study of Echinococcosis in a Community in the State of Mexico. Ann, J, Trop, Med. Hyg. 2007. 77(3) 500-503.

Molinari J.L., Meza R., Suárez B., Palacios S., Tato P., Retana A. *Taenia solium*; immunity in hogs to the Cysticercosis. Exp. Parasitol. 1983; 55; 340-57.

Molinari, J.L., Rodríguez, D., Tato, P., Soto, R., Arechavaleta, F., Solano, S., Field trial for reducing porcine *Taenia solium* cysticercosis in México by systematic vaccination of pigs. Vet. Parasitol. 1997. 69, 55-63.

Molinari, J.L., Soto, R., Tato, P., Rodriguez, D., Retana, A., Sepúlveda, J., Palet, A., Immunization against porcine cysticercosis in an endemic area in México: a field and laboratory study. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1993. 49, 502-512.

Montresor A., and Palmer K. Teniasis/cysticercosis trend worldwide and rationale for control. Parasitology International. 55 (2006) 301-303.

Morales, S.J., Velasco, S.T., Tovar, V., Fragoso, G., Fleury, A., Beltrán, C., Villalobos, N., Aluja., A., Rodarte., L.F., Scuitto., E., Larralde. Castration and pregnancy of rural pigs significantly increase the prevalence of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis. Veterinary Parasitology. 2002;108 :41-48.

Morales, J., Martínez, J.J. Garcia-Castella. J., Peña, N., Maza, V., Villalobos, N., Aluja, AS., Fleury, A., Fragoso, G., Larralde, C. Sciutto, E. *Taenia solium*: the complex interactions, of biological, social, geographical and commercial factors, involved in the transmission dynamics of pig cysticercosis in highly endemic areas. Ann Trop Med Parasitol 2006; 100(2):123-35.

Morales-Montro J., Larralde C., The role of sex steroids in the complex physiology of the host-parasite relationship; the case of the larval estode of *Taenia crassiceps*. Parasitology. 2005; 131(3):287-94.

Nascimento, E., Costa., J.O., Guimaraes, M.P., Tavares, C.A., 1995. Efective immune protection of pigs against cysticercosis. Vet. Immun. Immunopathol. 54, 127-137.

Navarro F.R.. Introducción a la bioestadística. Análisis de variables binarias. Mc Graw Hill. México DF. 1988.

Nihei N, Kajihara N, Kininon M. et al. Establishment of GIS monitoring system for schistosomiasis japonica in Kofu, Japan. Ann Trop Med Parasitol. 2006. 100: 143-153.

Nogowi HA, Kassuku AA, Medad GE, Boa ME, Crabien H, Willingham AL 3rd. Risk factors for prevalence of porcine cysticercosis in Mbulu District, Tanzania. Vet Parasitol. (2004); 120(4):275-283.

Peña N, Morales J, Morales-Montor J., Vargas-Villavicencio G., Fleury A., Zarco L., Aluja A.S., Larralde C., Fragoso, G., and Sciutto E., Impact of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis on the hormonal levels of free ranking boars. Veterinary Parasitology, 2007 (149) 134-137.

Phiri IK, Domy P, Gabriel, S. & Willingham III. A.L., Speybroeck, N.y Vercruyse, J. The prevalence of porcine cysticercosis in eastern and south provinces of Zambia. Veterinary Parasitology, 2002, 30, 31-39.

Phiri IK, Domy P, Vercruyse J., Gabriel S. Whillingham III A.L., Brandt J., et al. A Bayesian approach for estimating values for prevalence and diagnostic test characteristics of porcine cysticercosis. Inter. J, Parasitol. 2004; 34: 569-76.

Plancarte A., Flisser A., Gauci CG. Lightowers MW. Vaccination against *Taenia solium* cysticercosis in pigs using native and recombinant oncosphere antigens. Int J Parasitol 1999;29:643-7.

Rickard MD., White J.B., Vaccination of lambs against infection with *Taenia ovis*. Aust Vet. J. 1976. 52:209-14.

Roman G, Sotelo J, Del Brutto O, Flisser A., Dumas M, Wadia N, Botero D, Cruz M, Garcia H, de Betancourt P.R.M., Trelles L, Arriagada C., Lorenzana P., Nash T.E.y Spina-Franca A. A proposal to declare neurocysticercosis an international reportable disease. World Health Organization, 2000, 399-406.

Sánchez A.L., Lindback J., Schantz P.M., Sakai H., M. Sone M., Medina M.T. y Ljungstrom I. Apopulation-base, case-control study of *Taenia solium* tenisasis and cysticercosis. Ann Trop Med Parasitol 1999. 93; 247-258.

:

Sarti E, Flisser A, Schantz P, Gleizer M. Loya M, Plancarte A, Avila G, Allan J, Craig P, Bronfman M, Wijeyaratne P. Development and evaluation of health education intervention against *Taenia solium* in a rural community in México. Ann J Trop Med Hyg 1997; 56: 127-132.

Sarti E, Schantz P, Plancarte A, Wilson M, Gutierrez I, Aguilera J. Epidemiological investigation of *Taenia solium* teniosis and cysticercosis in a rural village of Michoacan state, Mexico. R Soc Trop Med Hyg 1994;68:49-52.

Sarti E, Schantz P, Plancarte A, Wilson M, Gutierrez I, Lopez A. Prevalence and risks factors for *Taenia solium* teniosis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos Mexico. Am J

Trop Med Hyg 1992;46: 677-684.

Sarti-Gutierrez EJ, Schantz PM, Lara-Aguilera R, Gomez Dandoy H, Flisser A. *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in a Mexican village. Trop Med Parasit 1988; 39:194-198.

Sciutto E, Martinez JJ, Villalobos NM, Hernández M, Jose MV, Beltrán C, Rodarte F, Flores I, Bobadilla JR, Fragoso G, Parkhouse ME, Harrison LJ, de Aluja AS. Limitations of current diagnostic procedures for the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in rural pigs. Vet Parasitol. 1998; 79(4):299-313.

Sciutto, E., Aluja A.S. de, Fragoso, G., Rodarte, L.F., Hernández, M., Villalobos, M.N., Padilla, A., Keilbach, N., Baca, M., Govezensky, T., Díaz, S., Larralde., C., Immunization of pigs against *Taenia solium* cysticercosis: factors related to effective protection. Vet. Parasitol. 1995. 60. 53-67.

Sciutto E. Chavarria a., Fragoso G., Fleury A., y Larralde c. The immune response in *Taenia solium* cysticercosis protection and injury. Parasite Immunology, 2007; 29; 621-636.

Sciutto E, Fragoso G, Fleury A. Laclette jp., JP., Sotelo J., Aluja A., Vargas L., y Larralde C.. *Taenia solium* disease in humans and pigs: an ancient parásitosis disease rooted in developing countries and emerging as a major health problem of global dimension. Microbes Infec; 2000, 2:1875-90

Sciutto E. Morales J., Martínez JJ. Toledo A., Villalobos MN., Cruz-Revilla c., Meneses G., Hernández M., Diaz A., Rodarte L.F., Acero G., Gevorkian G., Manoutcharian K., Paniagua J., Fragoso G., Fleury A., Sarralde r., Aluja de A.S., y Larralde C., Further evaluation of the synthetic peptide vaccine S3pvac against *Taenia solium* cysticercosis in pigs an endemic town of México. 2007 Parasitology 134. 129-133.

Sciutto E, Martínez JJ, Vilallobos NM, Hernández M, Jose MV, Beltrán C. Rodarte F, Flores I, Bobadilla JR, Fragoso G, Parkhouse ME, Harrison LJ, de Aluja AS. Limitations of current diagnostic procedures for the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in rural pigs. Vet Parasitol. 1998: 79(4):299-313.

Sciutto, E., Fragoso, G., Manoutcharian, K., Gevorkian, G., Rosas-Salgado, G., Hedrnandez Gonzalez, M., Herrera-Estrella, L., Cabrera-Ponce, J., Lopez-Casillas, F., Gonzalez-Bobadilla, C., Santiago-Machuca, A., Ruiz-Perez, F., Sanchez, J., Golbaum., F., Aluja, A., y Larralde C. New approaches to improbe a peptide vaccine against porcine *Taenia solium* cysticercosis. Med. Res.; 20002, 33(4) 371-378.

Sciutto E, Rosas G., Hernández M., Morales J., Cruz-Revilla C., Toledo A., Manoutcharian K., Gevorkian G., Blancas A., Acero G., Hernández B, Cervantes J., Bobes R.J., Goldbaum F.A., Huerta M., Díaz-Orea A., Fleury A., de Aluja S.A., Cabrera-Ponce JL. Herrera-Estrella L., Fragoso G., y Larralde C. Improvement of the synthetic tri-peptide vaccine (S3Pvac) against porcine *Taenia solium* cysticercosis in search of more effective, inexpensive and manageable vaccine. Vaccine, 2007 (25), (8): 1368-1378.

Selvin S., y Abrams, B. Analysing the relationship between maternal weight gain and birthweight; explorationof four statistical issues. Pediatr Perinat. Epidemiol. 1996. 10;220-34.

Smith DL, Lucey B, Waller LA, Childs JE, Real LA (2002) Predicting the spatial dynamics of rabies epidemics on heterogeneous landscapes. Proc Natl Acad Sci USA 99: 3668-3672

Sthoeger, Z.M., Chiorazzi, N., Lahita, R.G., Regulation of the immune response by sex hormones. I. In vitro effects of stradiol and testosterone on pokeweed mitogen-induced human B cell differentiation. J. Immunol. 1988, 141, 91-98.

Sorvillo FJ., De Giorgio C & Watermant SH. Death from cysticercosis. United Satate. Emerg Infec Dis. 2007. 13: 230-235.

Terrazas LI, Bojalil R , Govezensky T, Larralde C. A role for 17-beta-estradiol in immunoendocrine regulation of murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*). J Parasitol 1994 ;80 :563-568.

Toledo, A.; Fragoso, G.; Rosas, G.; Hernández, M.; Gevorkian, G.; Lopez-Casillas, F.; Hernández, B.; Acero, G.; Huerta, M.; Larralde, C.; Sciutto, E. Two epitopes shared by *Taenia crassiceps* and *Taenia solium* confer protection against murine *T. crassiceps* cysticercosis along with a prominent T1 response. Infect Immun. 2001, 69, 1766-73.

Toledo, A.; Larralde, C.; Fragoso, G.; Gevorkian, G.; Manoutcharian, K.; Hernández, M.; Acero, G.; Rosas, G.; López-Casillas, F.; Garfias, C. K.; Vázquez, R.; Terrazas, I.; Scuitto, E. Towards a *Taenia solium* cysticercosis vaccine: an epitope shared by *Taenia crassiceps* and *Taenia solium* protects mice against experimental cysticercosis. Infect Immun. 1999, 67, 2522-30.

Vargas M., Saldierna V., Navarro F.R., Acevedo H.A., Flisser A., Aluja A.S. de, Localización del cisticerco de la *Taenia solium* en diferentes regiones musculares del cerdo y su importancia para la inspección sanitaria, Vet. Méx. 1986.17 : 275-279.

Vergara Díaz, J.A.; Selectividad tisular de *Cysticercus celluloseae* en cerdos. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universisdad Nacional Autónoma de México. Mexico. D.F., 1970.

Viljoen, N.F. Cysticercosis in swine and bovines, with special reference to South African conditions. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry. (1937) 9: 337-570.

Villagrán J. y Olvera J. E. Cisticercosis Humana: Estudio clínico y patológico de 481 casos de autopsia. Patología; "1988,:262-69.

Hoja de Registro

1. Fecha
2. Clave GPS:
3. Nombre del propietario
4. Municipio
5. Localidad
6. Los cerdos deambulan libremente? 1= si 2= no 3= temporalmente
7. Suministro de agua (1 = tubería 2 = Pozo 3 = Barranca y río)
8. Tipo de alimentación : (1 = Concentrado 2= Escamocha 3= Maíz y otros granos)
9. Origen del cerdo (1= Local 2 = Otro municipio 3= Otro Estado 4= Apoyo de gobierno)
10. Destino (1 = Autoconsumo 2 = en la comunidad 3 = Rastro 4 = intermediario)
11. Información de los credos

Fecha de nacimiento	Sexo M=macho H=hembra	Fenotipo predominiante	Diagnóstico en lengua 1 = neg 2 = post	Fecha de castracion (en su caso)	Fecha de monta (en su caso)	Diagnóstico en lengua 1 = neg 2 = post

Instructivo: Razas: 1: criollo, 2: Landrace, ham etc.

Figura1.Ejemplo del cuestionario que se empleo.

***Taenia solium*: the complex interactions, of biological, social, geographical and commercial factors, involved in the transmission dynamics of pig cysticercosis in highly endemic areas**

J. MORALES^{*}, J. J. MARTÍNEZ^{*}, J. GARCIA-CASTELLA[†], N. PEÑA[†], V. MAZA[†], N. VILLALOBOS^{*}, A. S. ALUJA^{*}, A. FLEURY[‡], G. FRAGOSO[§], C. LARRALDE[§] and E. SCIUTTO[§]

^{*}Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, A.P. 70228, México, Distrito Federal 04510, Mexico

[†]Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Dirección General de Ganadería, Gobierno del Estado de Morelos, Avenida Atlacomulco 55, Colonia Cantarranas, Cuernavaca, Morelos 62440, Mexico

[‡]Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, SSA, Insurgentes Sur 3877, Colonia Las Famas, México, Distrito Federal 14269, Mexico

[§]Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, A.P. 70228, México, Distrito Federal 04510, Mexico

Received 7 September 2005, Revised 1 November 2005,

Accepted 4 November 2005

If a programme for the control of pig cysticercosis is to be effective it has to be based on good data on the local epidemiology of *Taenia solium*. In 2002–2003, in a cross-sectional study of pig cysticercosis in the Mexican state of Morelos, 1747 pigs that had been born and reared in rural areas of the state were checked for *T. solium* infection by tongue inspection. The prevalence of cysticercosis in the pigs was found to vary from 0% to 30% according to the municipality from which the pigs came. Although prevalence appeared to be unaffected by the socio-economic status of the municipality, it was relatively high in areas that lacked latrines, and in pigs that were castrated, pregnant and/or of the native (rather than an imported) breed. The results of questionnaire-based interviews with pig owners revealed that most (64.5%) of the rural pigs, whether infected or not, are slaughtered and consumed within the locality where they were reared. The other pigs are sold at low prices to organised traffickers who take the uninspected pigs to neighbouring urban areas for sale.

The observed complexity in the factors affecting the transmission of *T. solium* to the pigs of Morelos state calls for an intervention strategy of matching complexity, initially targeted at those villages with the highest prevalences of pig cysticercosis. The road transport of pigs needs to be better regulated, and the vaccination and genetic improvement of the rural pigs, and delaying the castration of the boars, should all be considered.

In many developing countries, *Taenia solium* seriously affects human health and pig-rearing and leads to much human suffering and high costs for public-health institutions (Sciutto *et al.*, 2000; Garcia *et al.*, 2003a). It is perhaps only over the last two decades

that the true magnitude of the problem posed by cysticercosis in Latin America, Asia and Africa, and the need for effective control of the disease in pigs and humans, have been truly appreciated (Aluja, 1982; Rodriguez-Canul *et al.*, 1999; Carrique-Mas *et al.*, 2001; Morales *et al.*, 2002; Garcia *et al.*, 2003a, b; Ito *et al.*, 2003a, b; Mafojane *et al.*, 2003; Rajshekhar *et al.*, 2003). In many regions where pig cysticercosis is

Reprint requests to: E. Sciutto.
E-mail: edda@servidor.unam.mx; fax: +52 55 5622 3369.

endemic, too little is known about the transmission dynamics of the disease, or the biological, social or economic risk factors for infection (Boa *et al.*, 2003), to make rational plans for the control of the disease or to allow the effectiveness of any control interventions to be fully evaluated.

Taenia solium cysticercosis has affected the people and pigs of Mexico since colonial times (Crosby, 1972; Nieto 1982; Larralde *et al.*, 1992). In Mexico, human neurocysticercosis is currently the primary cause of adult-onset epilepsy (Medina *et al.*, 1990; Del Brutto *et al.*, 1994) and is responsible for 11% of all neurological consultations (Vázquez and Sotelo, 1992) and 25% of craniotomies (Sotelo *et al.*, 1985). Cysticerci can be detected, at autopsy, in the brains of 2%–3% of the general population (Villagrán and Olvera, 1988). Although once considered primarily a problem of rural areas, human cysticercosis appears to be increasingly common in urban areas of Mexico, perhaps largely because of human migration from rural communities to the cities (Shandera *et al.*, 1994; Rosenfeld *et al.*, 1996). The main risk factors for the human disease have been identified (Sanchez *et al.*, 1999; Fleury *et al.*, 2003) but the relative impact of each probably varies according to whether the setting is rural or urban, whether the community of interest has generally good or poor levels of education and socio-economic status, the local pig-rearing practices, and the local levels of endemicity for pig cysticercosis, human cysticercosis and human taeniasis. Relatively little is known about the risk factors for pig cysticercosis and this may partly explain why interventions to control this pig disease have met with only limited success. There are probably important but as yet unrecognized risk factors for pig cysticercosis and/or the interactions between the known risk factors are more complex than has been assumed. The migration of people carrying adult *T. solium* is of great importance in the incidence of human cysticercosis in non-endemic countries

(Schantz *et al.*, 1992), and probably also in endemic countries that are undergoing rapid urbanization. The possible role of the shipment of cysticercotic pigs in the development of the complete life-cycle of *T. solium* in previously ‘naïve’ areas is, however, largely unexplored.

Following on from a long-term study on the epidemiology, immunology and pathogenesis of cysticercosis in pigs and humans (Sciutto *et al.*, 2003a), a programme to control the disease in the Mexican state of Morelos is currently being planned. Morelos was chosen because focal epidemiological studies in the past have revealed worryingly high prevalences of cysticercosis in the pigs in the state (Sarti *et al.*, 1992; 1997; Morales *et al.*, 2002) and because the local government authorities have recently developed an active interest in supporting a first attempt at state-wide control of the disease. The aim of the present study was to provide some baseline data on pig cysticercosis in rural areas of Morelos (against which post-control data could be compared) and further evaluate the associated risk factors. As part of this study, the relevance of the growing road network within and between the different regions of the state, which may greatly facilitate the commercial and unregulated trafficking of infected pigs, was investigated.

ANIMALS AND METHODS

In a cross-sectional survey that ran from July 2002 to March 2003, the prevalences of cysticercosis in samples of the pigs raised in rural areas of the state of Morelos were estimated by the examination and palpation of the tongues of the living animals. Pigs from each of the 33 municipalities into which the state is divided were investigated. Attempts were then made to link the geographical variation seen in these prevalences to certain geographical, social and biological variables, and to determine how the destinations of the rural pigs, the places of their consumption and their

road transport might contribute to the spread and prevalence of pig and human cysticercosis.

Geography

The state of Morelos occupies 4950 km² in the centre of Mexico, surrounded by the *Distrito Federal* (Mexico City), and the states of Puebla, Guerrero and Mexico. The state's economy was, until recently, largely based on agriculture but tourism now brings thousands of Mexican and international visitors and much cash into the area. Many

of those born in the state migrate to nearby urban areas and to the U.S.A., in search of employment. Of the 1342 villages in the state in 2002, 1136 each had <500 inhabitants and only 15 had >15,000 inhabitants each.

Socio-economic Status

An index of socio-economic status (ISS) for each of the 33 municipalities that form the state of Morelos (see Table 1) was extracted from the records of the *Instituto Nacional de Geografía Estadística e Informática* (Anon.,

TABLE 1. *The indices of socio-economic status (ISS) and the numbers of pigs, numbers of pigs examined, and numbers of pigs found to have cysticercosis, in each of the municipalities forming the Mexican state of Morelos*

Municipality	ISS	No. of pigs and (% of examined pigs)		
		In municipality	Examined	With tongue cysticerci
Amacuzac	-0.66	1967	67	12 (17.9)
Atlatlahuacan	-0.60	306	12	0 (0.0)
Axochiapan	-0.30	1783	70	14 (20.0)
Ayala	-0.62	3359	128	16 (12.5)
Coatlán del Río	-0.51	2146	65	11 (16.9)
Cuautla	-1.32	1463	35	1 (2.8)
Cuernavaca	-1.82	1390	31	4 (12.9)
Emiliano Zapata	-0.97	1005	37	0 (0.0)
Huitzilac	-0.86	469	18	1 (5.5)
Jantetelco	-0.50	1694	35	5 (14.3)
Jiutepec	-1.53	1480	32	6 (18.7)
Jojutla	-1.30	1370	35	3 (8.6)
Jonacatepec	-0.61	2336	47	4 (8.5)
Mazatepec	-0.87	1116	33	6 (18.2)
Miacatlan	-0.20	3201	115	14 (12.2)
Ocuituco	-0.02	1413	54	3 (5.5)
Puente de Ixtla	-0.75	3908	133	26 (19.5)
Temixco	-1.17	2256	27	2 (7.4)
Temoac	0.07	1525	55	0 (0.0)
Tepalcingo	-0.09	3556	99	20 (20.2)
Tepoztlán	-1.10	1224	35	4 (11.4)
Tetecala	-0.83	1552	34	7 (20.6)
Tetela del Volcán	0.08	624	30	1 (3.3)
Tlalnepantla	0.26	367	22	1 (4.5)
Tlaltizapan	-0.83	1905	100	17 (17.0)
Tlaquiltenango	-0.60	4350	135	26 (19.2)
Tlayacapan	-0.42	651	20	2 (10.0)
Totolapan	-0.11	515	37	6 (16.2)
Xochitepec	-0.60	993	34	9 (26.5)
Yautepec	-1.12	1835	50	8 (16.0)
Yecapixtla	-0.47	2597	77	11 (14.3)
Zacatepec	-1.53	650	10	3 (30.0)
Zacualpan	0.00	2605	35	6 (17.1)

2000). This index is based on a number of characteristics of the population, such as adult illiteracy, the percentage of children who complete their basic education, the availability of electricity, latrines or drainage, the levels of overcrowding, and household incomes. The latest estimates of ISS for all Mexican municipalities vary from -2.44 (the value for the most developed municipality, which is located in Mexico City) to 2.76 (the value for the least developed municipality, which is in the state of Chiapas). The mean ISS for the municipalities of Morelos (-0.35) lies about mid-way between these two extremes.

Sampling of Rural Pigs

According to the unpublished records of the state's Department of Animal Health, there were about 58,000 pigs scattered throughout the rural areas of Morelos in 2002–2003 (see Table 1). The local pig owners, who are generally extremely poor, usually allow their pigs to range freely in search of food. This practice, combined with human defecation in the open, leads to high levels of contact between pigs and the eggs of *T. solium* that have been excreted by infected villagers. All the pigs investigated in the present study were animals from rural settings that were allowed to roam freely most of the time (with occasional tethering) or all of the time. These rural pigs are generally of mixed breed, and many are small, undernourished and unhealthy. Most are slaughtered at about 12 months of age, to be consumed during local festivities or to be sold to rural pork dealers and traffickers. The boars are commonly castrated (at various ages) and the sows are inseminated by the free-ranging boars while roaming in search of food.

The sample size for the present study (at least 300 pigs/municipality) was based on the assumption that about 15% of the pigs would have cysticercosis — an assumption based on the results of previous, more focal studies in the state of Morelos and

neighbouring areas (Huerta *et al.*, 2001; Morales *et al.*, 2002) — and calculated using the Martin–Meek–Willerberg equation (Martin *et al.*, 1987). Pigs younger than 2 months of age were not examined. Three hundred and twenty nine of the 1342 villages in Morelos in 2002 were considered to be at relatively high risk of pig cysticercosis because their inhabitants had relatively low standards of personal hygiene, were familiar (and apparent unconcerned by) pig cysticercosis, were unaware of the transmission routes of *T. solium*, had no system or meat inspection, had no latrines, and had predominantly free-ranging pigs. For the present study, 115 villages were selected at random from the 'high-risk' villages. Attempts were then made to check each pig that was aged at least 2 months, free-ranging and owned by an inhabitant of one of the 115 study villages, for cysticerci in its tongue (see below).

Detection of Pig Cysticercosis

Each pig of interest was caught so that its tongue could be checked (in the living animal), by visual inspection and palpation, for sub-epithelial cysticerci. [Tongue inspection is a highly specific method that is widely employed for detecting pig cysticercosis, even though some lightly infected pigs may be missed (Viljoen, 1937; Molinari *et al.*, 1997; Sciutto *et al.*, 1998; Ngowi *et al.*, 2004). This detection method was selected for the present study because it is the most feasible and least invasive method of in-vivo diagnosis, and the only practical one to use when studying >1000 free-roaming and almost wild pigs, over quite an extensive geographical area. Few of the pigs could have been bought and necropsied, since many of their owners were raising the pigs to feed their families, or simply declined to sell them to the research team. There was also far too little research funding to allow each pig to be checked by nuclear-mass-resonance imaging or computed tomography, and immunodiagnosis has proven

unreliable in studies of the rural pigs of Mexico (Sciutto *et al.*, 1998).]

The pigs were checked by 23 thoroughly trained animal-health technicians, under the constant supervision of one of the two veterinarians on the research team.

Biological Variables

The age (months), weight (kg) and phenotype (native or including characteristics of the imported York, Landrace, Hampshire, Duroc, Poland China and/or Pietrain breeds) of each pig investigated, whether it was pregnant if a sow, or castrated if a boar, whether its drinking water came from a well, river or tap, whether its owner's household had a latrine, whether the pig was always allowed to roam freely or was occasionally tethered, and whether it was positive or negative for cysticercosis, by tongue inspection, were recorded. As pregnancy was detected only by physical inspection, early pregnancies probably passed unnoticed.

Consumption and Road Transport of Pigs

The owner of each pig investigated was questioned about the origin of the pig [local, from another Morelos municipality, or from another state (as the result of a governmental programme)]. The owners were also asked if their pigs were reared to feed themselves and their families, or for sale to neighbours or to dealers, local processors or abattoirs.

Road transport of rural pigs was also investigated but only in terms of the pigs observed at the seven sanitary checkpoints that are regularly maintained, by the Department of Animal Health, on the main highways of Morelos. Between January 2002 and July 2003, the number of rural pigs coming into or leaving Morelos, and the municipalities of origin and of destination for each of the pigs being moved were recorded at each of these checkpoints.

Statistical Analysis

Univariate and multivariate statistical analyses by logistic regression and χ^2 tests were performed, as appropriate. The effects of castration and pregnancy were investigated, using the prevalence data stratified by age, by calculating the relevant odds ratios (OR) in Mantel-Haenszel tests. A Pearson's correlation coefficient was calculated to evaluate the strength of the relationship between the prevalence of pig cysticercosis in a municipality and the corresponding ISS. A χ^2 test was used to compare the overall prevalence of pig cysticercosis recorded in northern Morelos with that recorded in the southern half of the state. All the numerical data were stored and analysed using version 7.0 of the Excel software package (Microsoft) and version 10.0 of the SPSS for Windows package (SPSS Inc, Chicago, IL).

RESULTS AND DISCUSSION

Prevalences

The main aim of the present study was to provide much more baseline information on the transmission of *T. solium* to pigs in Morelos and on the prevalences and epidemiology of the resultant disease (pig cysticercosis), so that the control programme planned for the near future could be made effective and monitored well.

The prevalence of the disease did show marked geographical variation, ranging from 0% in the municipalities of Atlatlahuacan and Temoac to 26% in Puente de Ixtla and Tlaquiltenango (Table 1 and Figure 1). Most of the low-prevalence municipalities were in the north of Morelos (Fig. 1) and the overall prevalence for the northern half of the state was significantly lower than that for the southern half ($P=0.093$). It seems likely that the southern area of relatively high prevalence (>10%) continues into the neighbouring states of Guerrero and Puebla. Morelos, Guerrero and Puebla have had strong demographic and cultural links for

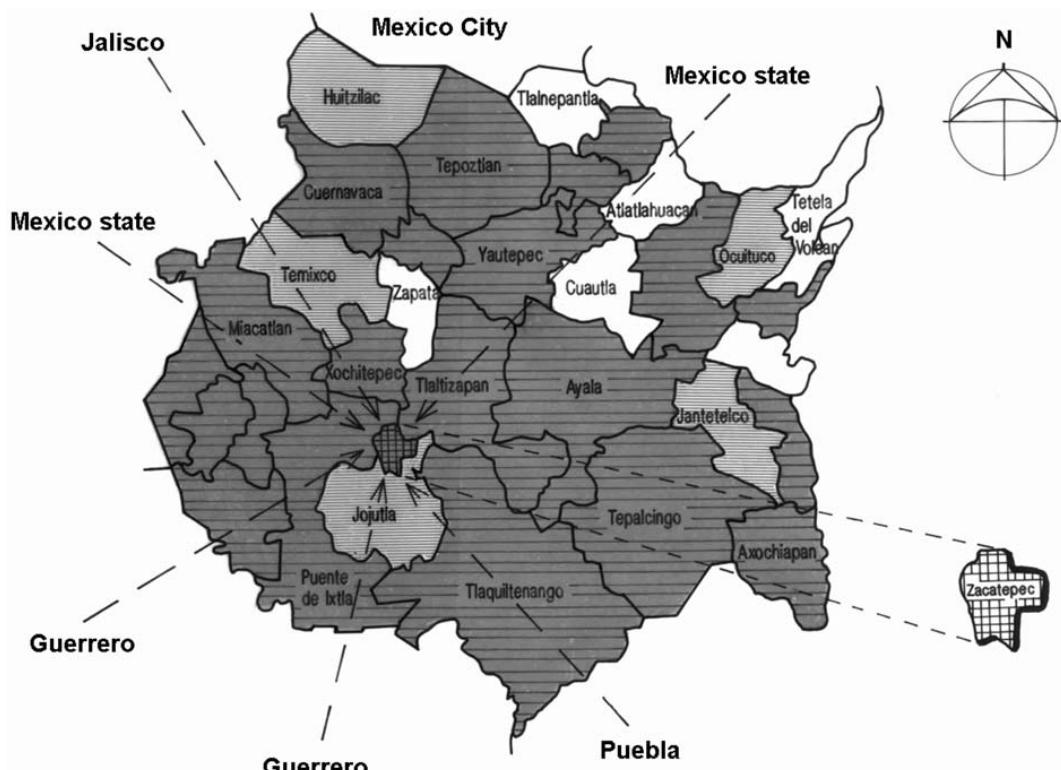


FIG. 1. A map of the Mexican state of Morelos, showing the boundaries of the 33 municipalities, the areas where >10% (■), 5%–10% (▨) or <5% (□) of the rural pigs examined were found to have cysticercosis, and the main routes (arrowed) for the pigs moved by road transport. Zacatepec alone was the destination of at least 80% of all the rural pigs that were moved by road between January 2002 and July 2003.

centuries and are now linked by ever-busier roads.

Although the overall prevalence of cysticercosis in the 1747 rural pigs that were checked was worryingly high (14.25%) — especially considering the low sensitivity of tongue inspection as a detection method — it was very close to the value expected from the results of more focal studies in the state or areas nearby (15%; Huerta *et al.*, 2001; Morales *et al.*, 2002). It was also similar to the values recorded in more distant areas of Mexico (Sarti *et al.*, 1992; Morales *et al.*, 2002; Fleury *et al.*, 2003) and in Honduras (Sanchez *et al.*, 1999), Bolivia (Carrique-Mas *et al.*, 2001), and India (Singh, 1997). In several and perhaps most endemic countries, the prevalences of *T. solium* taeniasis and cysticercosis are so high (Carrique-Mas *et al.*, 2001; Morales *et al.*,

2002; Garcia *et al.*, 2003b; Ito *et al.*, 2003a, b; Mafojane *et al.*, 2003; Rajshekhar *et al.*, 2003) that these diseases pose a serious threat to human health that merits much more attention from national health services and international agencies.

Since southern Morelos seems more badly affected by pig cysticercosis than the north of the state, it would presumably be more cost-effective to focus any (resource-limited) control interventions on the south rather than to apply them in random sites or scatter them thinly throughout the state.

Exposure Factors

At municipality level, surprisingly, the prevalence of pig cysticercosis was not correlated with socio-economic status as evaluated in the ISS (Table 1 and Figure 2).

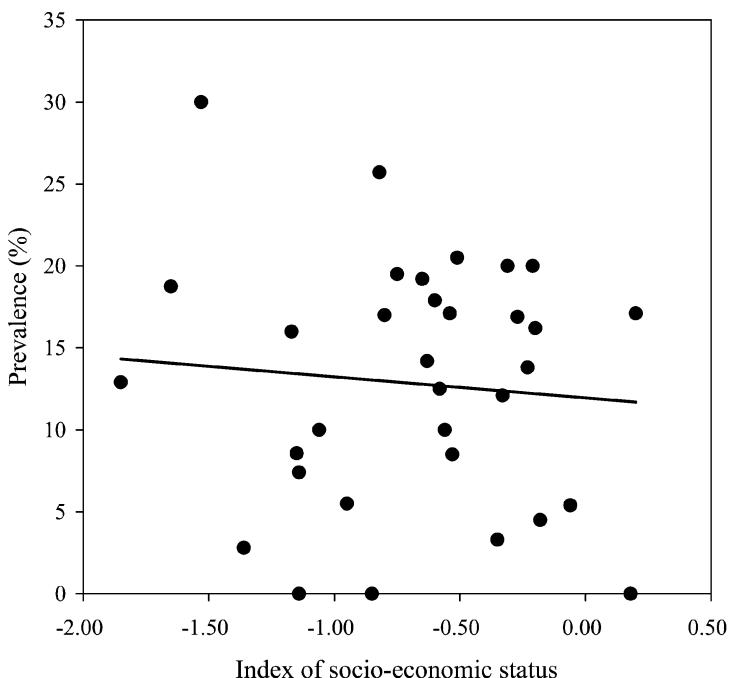


FIG. 2. A graph showing the lack of correlation between the index of socio-economic status for a municipality in the state of Morelos and the prevalence of cysticercosis in the rural pigs from that municipality. A regression line has been plotted through the points ($r=-0.086$; $P=0.63$).

The failure to see the expected link between the prevalence of pig cysticercosis in a municipality and socio-economic status of the corresponding human population may be the result of the increasingly intense migration of poor people, and their diseases and life-styles, from rural areas into the richer and more developed, urban areas of Morelos. A link between pig cysticercosis and poor sanitation, which has been observed in many other studies (Sarti *et al.*, 1992; Morales *et al.*, 2002; Phiri *et al.*, 2002; Ngowi *et al.*, 2004), may also exist in Morelos, even though there is no statistically significant relationship between the prevalence of the disease and the ISS; the ISS is not merely a measure of the quality of sanitation but is based on many other socio-economic indicators. It seems clear, however, that pig cysticercosis in Morelos is not confined to the municipalities that are relatively socially deprived but also occurs in the more affluent areas.

In the univariate analyses, the prevalence of cysticercosis was found to be relatively high among the pigs whose owners lived in households without latrines (21.0% v. 13.1%; $P=0.001$) or without an indoor supply of drinking water (23.0% v. 12.0%; $P<0.0001$), and among the pigs that are always allowed to roam freely (20.4%, compared with 10.3% among the pigs that are sometimes tethered; $P=0.00001$). In the multivariate analysis, however, only being allowed to roam freely at all times ($OR=1.64$; $P=0.001$) or having an owner who lacked an in-house source of drinking water ($OR=1.63$; $P=0.007$) were found to be significant cysticercosis-risk factors for a pig.

Biological Factors

AGE OF PIG

As seen previously in Morelos (Morales *et al.*, 2002), prevalence increased with age both in the male and female pigs (Fig. 3).

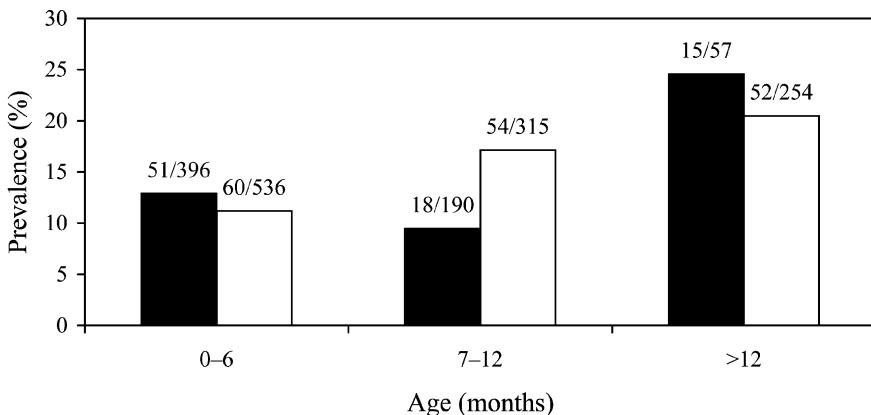


FIG. 3. The age-specific prevalences of cysticercosis recorded in the male (■) and female (□) pigs from rural areas of Morelos state. In both sexes, prevalence increased significantly with age ($P=0.0001$ for each). The female pigs aged 7–12 months were significantly more likely to be cysticercotic than the male pigs of the same age ($P=0.016$).

Prevalence in the pigs aged <6 months was significantly lower than that in the older pigs (11.9% v. 17.0%; $P=0.0028$). In the multivariate analyses too, pig age was found to have significant effect on prevalence (OR = 1.02; $P=0.04$).

The prevalences of both pig and human cysticercosis seem to increase generally as the simple result of cumulative exposure, but this trend may be confounded by biological deterioration (Fleury *et al.*, 2003, 2004) and by hormonal factors (in pigs, for example, it is the older pigs that are more likely to be pregnant if female, or castrated if male). In most studies of domestic pigs, the effects of age on prevalence appear relatively small because few pigs are allowed to become old. Pigs are usually slaughtered at about 12 months of age and therefore they die young and with an apparently functional immune reactivity (Huerta *et al.*, 2001).

In the present study, the age-stratified bodyweights of the pigs did not appear to have any effect on the prevalence of cysticercosis. Although under-nourishment is thought to be related to increased susceptibility to infection (Keusch, 2003), it is possible that there is a cut-off level of under-nourishment below which all animals are equally sensitive to infection. Morales

(2003) found that the rural pigs of Morelos were generally malnourished, having bodyweights at an age of 1 year (22–72 kg) that were much lower than the 100- to 120-kg ‘target’ values for Mexican pigs of this age (Trujillo and Flores, 1988).

CASTRATION OR PREGNANCY

After stratifying according to age, castration — if performed at least 4 months before the inspection — was found to nearly double the frequency of cysticercosis in the boars (22.0% v. 10.1%; $P=0.0001$; Fig. 4), and pregnancy was found to nearly double the frequency of the disease in the sows (29.9% v. 16.9%; $P=0.018$). The statistical significance of castration and pregnancy upon prevalence disappeared in the multivariate analysis, however, probably because the sample sizes (of female pigs old enough to be pregnant or male pigs old enough to have been castrated at least 4 months before the inspections) were too small, and because of the time necessary for endocrinological changes to have a measurable impact on susceptibility (Morales *et al.*, 2002). Besides indicating some sort of hormonal regulation of the host–parasite relationship (Morales *et al.*, 2001), the effects of castration and pregnancy on cysticercosis point to possible

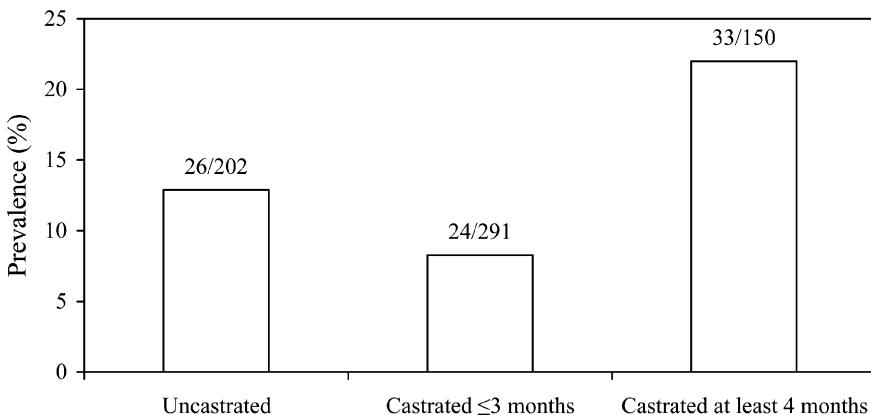


FIG. 4. The effects of castration on the prevalence of cysticercosis, among male pigs stratified by age. The prevalence seen in the boars that had been castrated for at least 4 months was higher than that seen in the boars that had been castrated more recently ($P<0.001$) or in the uncastrated boars ($P<0.001$).

ways of lowering transmission. Delaying castration, for example, might reduce the prevalence of cysticercosis in the male pigs without giving the impoverished rural pig-owner, who usually castrates his or her own pigs, much extra work or expense. It may well prove difficult to change castration practices but the simple expectation of higher gain without additional work or expense may defeat any indolence.

There seems little chance of exploiting the effects of pregnancy on pig cysticercosis, to control the disease, because pig owners generally want their pigs to breed and it would be almost impossible to control the impregnation of the sows when they and the boars are free to roam in search of food.

PHENOTYPE

About 44% of the rural pigs investigated were of mixed breeds and the rest appeared to be purely of the native breed. The prevalence of cysticercosis in the pigs with the native phenotype was significantly higher than that in the pigs with some recognizable trait of more recently imported stock (17.3% v. 11.9 %; $P=0.0013$; Table 2). This difference remained significant in the multivariate analysis ($OR=1.36$; $P=0.04$), indicating that a pig's susceptibility to infection with *T. solium* and/or the

development of detectable cysticercosis once it ingests eggs of the cestode is, at least partly, dependent on its genetic make-up (Sciutto *et al.*, 2003b). It may therefore be beneficial to replace the native pigs with animals of an imported breed or cross-breed that is more resistant, although clearly many other factors and pathogens would have to be considered before this change could be recommended.

Consumption, Distribution and Marketing of Rural Pigs

Most (65%) of the rural pigs investigated in Morelos were to be consumed within the communities in which they were kept, by their owners or their owners' neighbours (Table 3). The other pigs were to be transported elsewhere and consumed, by people from urban areas. Only nine of the 1498 rural pigs that were not found to have

TABLE 2. *The effects of breed on the prevalence of cysticercosis in the pigs of Morelos*

Breed	No. of pigs and (% of pigs of breed)		
	Cysticercotic	Non-cysticercotic	All
Native	133 (17.3)	636 (82.7)	769
Cross-breed	116 (11.9)	859 (88.1)	975
Any	249 (14.3)	1495 (85.7)	1744

cysticercosis and none of the 249 found to have cysticerci in their tongues were taken to abattoirs by their owners, to be inspected (Table 3). In Morelos, as in many other endemic areas (Anon. 1993), most cysticercotic pork is eaten by the largely rural communities in which the pigs have been raised — communities that are very familiar with the cysticerci and tolerate them rather than attempting to control them. The transport of some pigs with cysticercosis and the migration of villagers with taeniasis, from rural communities to urban areas, helps distribute *T. solium* — and the risks of further human taeniasis and pig cysticercosis, respectively — throughout the state of Morelos and into neighbouring areas. In the present study, 94 (5.4%) of the 1747 pigs investigated were animals with cysticercosis destined for consumption in urban areas (Table 3). If these data are representative of the entire state of Morelos, then about 3240 cysticercotic pigs (i.e. 5.4% of the 60,000 pigs slaughtered each year in the state) are consumed in urban areas of the state each year. In such areas, most pork is bought from food vendors or market butchers.

In Morelos, as in many other endemic areas, very few rural pigs, with or without cysticercosis, are made available for inspection at abattoirs (Table 3), partly because the dealers who buy such pigs do not want to risk the loss of a cysticercotic animal. This would explain why estimates of pig cysticercosis that are based on routine meat inspection are often far lower than those

observed in wider, cross-sectional studies, both in Mexico (Aluja, 1982; present study) and elsewhere (Anon., 1993). Inspection in the abattoirs, at least as performed now, would appear to be a very ineffective method of cysticercosis control in Mexico. Although meat-inspection programmes in the late 1800s and early 1900s did appear to be successful in eradicating cysticercosis from most of Europe (Hitchcock, 1987), their success may have been partially attributable to the relatively small numbers of pigs then moved between endemic and non-endemic regions.

The confiscation of infected meat in abattoirs, with no attempt at compensation, has undoubtedly promoted the transmission of *T. solium* by encouraging the clandestine and unregulated marketing of pork. In Mexico, most rural pigs that travel beyond the communities in which they have been reared are bought by freelance dealers who comb rural areas in search of low-priced livestock. The data collected at the sanitary checkpoints on the main roads of Morelos (Table 4 and Figure 1) indicate that the purchase and transport to urban areas of rural pigs, though often clandestine, is quite well organized and far from random. A single city in Morelos, Zácatepec, is the destination of most (>80%) of the travelling rural pigs. A little detective work revealed that a small group of dealers from Zácatepec were responsible not only for most of the rural–urban transport of pigs in the state but also for organizing some of the pig breeding

TABLE 3. *Places of consumption of the cysticercotic and non-cysticercotic pigs from Morelos*

	No. and (%) of:		
	Cysticercotic pigs	Non-cysticercotic pigs	All pigs
CONSUMED IN COMMUNITY			
By the owners	155 (62.2)	972 (64.9)	1127 (64.5)
By others	79	447	526
CONSUMED BEYOND COMMUNITY			
Via abattoirs, with inspection	94 (37.8)	526 (35.1)	620 (35.5)
Sold in urban areas, without inspection	0	9	9
All	249	1498	1747

TABLE 4. Movements of rural pigs along the main roads of Morelos, as recorded at seven sanitary checkpoints between January 2002 and June 2003

Direction of movement	Site of checkpoint	No. of pigs in transit			
		Any	Rural	Place(s) of origin	Place(s) of destination
Into Morelos	Any	5800	464		
	Amayuca, Jantetelco	1270	82	Puebla	Zacatepec, Cuautla, Tlaltizapan
	Atlatlahucan	600	54	México state	Cuautla, Zacatepec
	Michapa, Coatlán del Río	200	120	México state, Jalisco	Zacatepec, Coatlán
	La Pera, Tepoztlan	2900	3	Jalisco, México state	Cuernavaca, Cuautla, Cocoyoc
	El Capote, Cuernavaca	100	47	México state	Zacatepec
	Amacuzac	130	74	Guerrero	Zacatepec, Puente de Ixtla, Amacuzac
Out of Morelos	Cazahuatlan, Amacuzac	600	84	Guerrero	Cuernavaca, Zacatepec, Puente de Ixtla
	Any	1930	188		
	Cazahuatlan, Amacuzac	500	63	Zacatepec, Temixco	Taxco, Iguala
	Amacuzac	140	51	Zacatepec	México state, Guerrero
	Atlatlahucan	1000	53	Tepalcingo, Atlatlahucan	México state
	Michapa, Coatlán del Río	290	21	Zacatepec	México state

in the rural areas. When approached, these dealers appeared to be quite willing to co-operate in the treatment-based control of pig cysticercosis, and in the vaccination of pigs in the animals' villages of origin.

Conclusions and Perspectives

The present results highlight some of the complexity behind the transmission of *T. solium* to rural pigs, strengthen the notion that rural areas form the main reservoir for taeniasis/cysticercosis, and indicate some methods for controlling these diseases, in Morelos and similar settings. In Morelos, a control programme to be launched in the near future will be targeted, at least initially, on those areas where the prevalence of pig cysticercosis is highest. Surveillance at the sanitary checkpoints will also be improved, to try to minimise the geographical spread of cysticercotic pigs.

ACKNOWLEDGEMENTS. The authors thank M. Hernández and M. Baca, for their

technical assistance, and R. Larralde, for her editorial advice. This work was supported by the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (via grants IX2160004 and IN221905), the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (via grant SALUD-C01-040), the Howard Hughes Medical Institute, and the Secretaría de Desarrollo Agropecuario Gobierno del Estado de Morelos. The authors are also grateful to J. García Castella, A. Blas, G. Ricarte, C. Alvarado, A. Vazquez, V. Mejía, S. Linares, J. Zepeda, F. Perez, Z. Contreras, G. Villa, S. Rodriguez, B. Valdez, J. López, F. García, O. Sanchez, R. Huicochea, U. Leal, F. Gadea, O. Velazquez, L. Godinez, O. Flores, J. Monroy and J. M. Torres, for their technical support in the field work.

REFERENCES

- Aluja, A. S. de. (1982). Frequency of porcine cysticercosis in Mexico. In *Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives*, eds Flisser, A., Willms,

- K., Laclette, J. P., Larralde, C., Ridaura, D. & Beltran, F. pp. 53–62. New York, NY: Academic Press.
- Anon. (1993). The marketing of cysticercotic pigs in the Sierra of Peru. *Bulletin of the World Health Organization*, **71**, 223–228.
- Anon. (2000). *Censos Socioeconómicos: Carpeta del Estado de Morelos*. Mexico City: Instituto Nacional de Geografía Estadística e Informática.
- Boa, M., Mukaratiwa, S., Willingham, A. L. & Johansen, M. V. (2003). Regional action plan for combating *Taenia solium* cysticercosis/taeniasis in eastern and southern Africa. *Acta Tropica*, **87**, 183–186.
- Carrique-Mas, J., Iihoshi, N., Widdowson, M. A., Roca, Y., Morales, G., Quiroga, J., Cejas, F., Caihuara, M., Ibarra, R. & Edelsten, M. (2001). An epidemiological study of *Taenia solium* cysticercosis in a rural population in the Bolivian Chaco. *Acta Tropica*, **80**, 229–235.
- Crosby, A. W. (1972). *The Columbian Exchange. Contributions in American Studies No. 2*. Westport, CT: Greenwood Press.
- Del Brutto, O. H. (1994). Prognostic factors for seizure recurrence after withdrawal of antiepileptic drugs in patients with neurocysticercosis. *Neurology*, **44**, 1706–1709.
- Fleury, A., Gomez, T., Alvarez, I., Meza, D., Huerta, M., Chavarria, A., Carrillo-Mezo, R. A., Lloyd, C., Dessein, A., Preux, P. M., Dumas, M., Larralde, C., Sciutto, E. & Fragoso, G. (2003). High prevalence of calcified silent neurocysticercosis in a rural village of Mexico. *Neuroepidemiology*, **22**, 139–145.
- Fleury, A., Tapia, G., Preux, P. M., Dessein, A., Dumas, M., Larralde, C. & Sciutto, E. (2004). Symptomatic neurocysticercosis: parasite, host and exposure factors relating with severity of disease. *Journal of Neurology*, **251**, 830–837.
- Garcia, H. H., Gonzalez, A. E., Evans, C. A. & Gilman, R. H. (2003a). *Taenia solium* cysticercosis. *Lancet*, **362**, 547–556.
- Garcia, H. H., Gilman, R. H., Gonzalez, A. E., Verastegui, M., Rodriguez, S., Gavidia, C., Tsang, V. C., Falcon, N., Lascano, A. G., Moulton, L. H., Bernal, T. & Tovar, M. (2003b). Hyperendemic human and porcine *Taenia solium* infection in Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **68**, 268–275.
- Hitchcock, E. R. (1987). Cysticercosis in the UK. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, **50**, 1080–1081.
- Huerta, M., de Aluja, A. S., Fragoso, G., Toledo, A., Villalobos, N., Hernández, M., Gevorkian, G., Aceró, G., Díaz, A., Alvarez, I., Avila, R., Beltrán, C., García, G., Martínez, J. J., Larralde, C. & Sciutto, E. (2001). Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in a controlled field trial in rural Mexico. *Vaccine*, **20**, 262–266.
- Ito, A., Nakao, M. & Wandra, T. (2003a). Human taeniasis and cysticercosis in Asia. *Lancet*, **362**, 1918–1920.
- Ito, A., Urbani, C., Jiamin, Q., Vuitton, D. A., Dongchuan, Q., Heath, D. D., Craig, P. S., Zheng, F. & Schantz, P. M. (2003b). Control of echinococcosis and cysticercosis: a public health challenge to international cooperation in China. *Acta Tropica*, **86**, 3–17.
- Keusch, G. T. (2003). The history of nutrition: malnutrition, infection and immunity. *Journal of Nutrition*, **133**, 336S–340S.
- Mafojane, N. A., Appleton, C. C., Krecek, R. C., Michael, L. M. & Willingham III, A. L. (2003). The current status of neurocysticercosis in eastern and southern Africa. *Acta Tropica*, **87**, 25–33.
- Martin, S. W., Meek, A. H. & Willenberg, P. (1987). *Veterinary Epidemiology: Principles and Methods*. Ames, IA: Iowa State University Press.
- Medina, M. T., Rosas E., Rubio-Donnadieu, F. & Sotelo, J. (1990). Neurocysticercosis as the main cause of late-onset epilepsy in Mexico. *Archives of Internal Medicine*, **15**, 325–327.
- Molinari, J. L., Rodríguez, D., Tato, P., Soto, R., Arechavaleta, F. & Solano, S. (1997). Field trial for reducing porcine *Taenia solium* cysticercosis in Mexico by systematic vaccination of pigs. *Veterinary Parasitology*, **69**, 55–63.
- Morales, J. (2003). *La producción porcina y la presencia de la cisticercosis por *Taenia solium* en una comunidad indígena de Morelos, México*. Ph.D. thesis, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Mexico.
- Morales, J., Velasco, S. T., Tovar, V., Fragoso, G., Fleury, A., Beltrán, C., Villalobos, N., Aluja, A., Rodarte, L. F., Sciutto, E. & Larralde, C. (2002). Castration and pregnancy of rural pigs significantly increase the prevalence of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis. *Veterinary Parasitology*, **108**, 41–48.
- Morales-Montor, J., Baig, S., Mitchell, R., Deway, K., Hallal-Calleros, C. & Damian, R.T. (2001). Immunoendocrine interactions during chronic cysticercosis determine male mouse feminization: role of IL-6. *Journal of Immunology*, **167**, 4527–4533.
- Ngiwi, H. A., Kassuku A. A., Maeda, G., Boa, M. E., Carabin, H. & Willingham III, A. L. (2004). Risk factors for the prevalence of porcine cysticercosis in Mbulu district, Tanzania. *Veterinary Parasitology*, **120**, 275–283.
- Nieto, D. (1982). Historical notes on cysticercosis. In *Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives*, eds Flisser, A., Willms, K., Laclette, J. P., Larralde, C., Ridaura, D. & Beltran, F. pp. 1–7. New York, NY: Academic Press.

- Larralde, C., Padilla, A., Hernández, M., Govezensky, T., Scιutto, E., Gutierrez, G., Tapia-Conyer, R., Salvatierra, B. & Sepúlveda, J. (1992). Seroepidemiology of cysticercosis in Mexico. *Salud Pública de México*, **34**, 197–210.
- Phiri, I. K., Dorny, P., Gabriel, S. & Willingham III, A. L., Speybroeck, N. & Vercruyse, J. (2002). The prevalence of porcine cysticercosis in eastern and southern provinces of Zambia. *Veterinary Parasitology*, **30**, 31–39.
- Rajshekhar, V., Joshi, D. D., Doanh, N. Q., Van De, N. & Xiaonong, Z. (2003). *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in Asia: epidemiology, impact and issues. *Acta Tropica*, **87**, 53–60.
- Rodriguez-Canul, R., Fraser, A., Allan, J. C., Dominguez-Alpizar, J. L., Argaez-Rodriguez, F. & Craig, P. S. (1999). Epidemiological study of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in a rural village in Yucatan state, Mexico. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **83**, 57–67.
- Rosenfeld, E. A., Byrd, S. E. & Shulman, S. T. (1996). Neurocysticercosis among children in Chicago. *Clinical Infectious Diseases*, **23**, 262–258.
- Sanchez, A. L., Lindback, J., Schantz, P., Sone, M., Sakai, H., Medina, M. T. & Ljungstrom, I. (1999). A population-based, case-control study of *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **93**, 247–258.
- Sarti, E., Schantz, P., Plancarte, A., Wilson, M., Gutierrez, I. & Lopez, A. (1992). Prevalence and risks factors for *Taenia solium* taeniosis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos, Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **46**, 677–684.
- Sarti, E., Flisser, A., Schantz, P. M., Gleizer, M., Loya, M., Plancarte, A., Avila, G., Allan J., Craig, P., Bronfman, M. & Wijeyaratne, P. (1997). Development and evaluation of a health education intervention against *Taenia solium* in a rural community in Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **56**, 127–132.
- Schantz, P., Moore, A., Muñoz, J., Hartman, B., Schaefer, J., Aron, A., Persaud, D., Sarti, E., Wilson, M. & Flisser, A. (1992). Neurocysticercosis in an orthodox Jewish community in New York city. *New England Journal of Medicine*, **327**, 692–695.
- Scιutto, E., Martinez, J. J., Villalobos, N. M., Hernández, M., Jose, M. V., Beltrán, C., Rodarte, F., Flores, I., Bobadilla, J. R., Fragoso, G., Parkhouse, M. E., Harrison, L. J. & de Aluja, A. S. (1998). Limitations of current diagnostic procedures for the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in rural pigs. *Veterinary Parasitology*, **79**, 299–313.
- Scιutto, E., Fragoso, G., Fleury, A., Laclette, J. P., Sotelo, J., Aluja, A., Vargas, L. & Larralde, C. (2000). *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*, **2**, 1875–1890.
- Scιutto, E., Fragoso, G., Fleury, A., Chavarria, A., Vega, R., Yáñez, O., Aluja, A. & Larralde, C. (2003a). *Taenia solium* cysticercosis of human and pigs: a review of our contributions and perspectives in the research of its complexities. In *Recent Research Development in Infection and Immunity*, ed. Pandalai, S. G. pp. 475–497. Trivandrum, India: Transworld Research Network.
- Scιutto, E., Martinez, J. J., Huerta, M., Avila, R., Fragoso, G., Villalobos, N., de Aluja, A. & Larralde, C. (2003b). Familial clustering of *Taenia solium* cysticercosis in the rural pigs of Mexico: hints of genetic determinants in innate and acquired resistance to infection. *Veterinary Parasitology*, **116**, 223–229.
- Shandera, W. X., White Jr, A. C., Chen, J. J., Diaz, P. & Armstrong, R. (1994). Neurocysticercosis in Houston, Texas. A report of 112 cases. *Medicine*, **73**, 37–52.
- Singh, G. (1997). Neurocysticercosis in South-Central America and the Indian subcontinent. A comparative evaluation. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, **59**, 345–356.
- Sotelo J., Guerrero V. & Rubio, F. (1985). Neurocysticercosis: a new classification based on active and inactive forms. A study of 753 cases. *Archives of Internal Medicine*, **145**, 442–445.
- Trujillo, O. M. E. & Flores, C. J. (1988). *Producción Porcina*. Mexico City: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Vázquez, V. & Sotelo, J. (1992). The course of seizures after treatment for cerebral cysticercosis. *New England Journal of Medicine*, **327**, 696–701.
- Viljoen, N. F. (1937). Cysticercosis in swine and bovines, with special reference to South African conditions. *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry*, **9**, 337–570.
- Villagrán, J. & Olvera, J. E. (1988). Cisticercosis humana: estudio clínico patológico de 481 casos de autopsia. *Patología*, **26**, 149–156.



Inexpensive anti-cysticercosis vaccine: S3Pvac expressed in heat inactivated M13 filamentous phage proves effective against naturally acquired *Taenia solium* porcine cysticercosis

Julio Morales^a, José Juan Martínez^a, Karen Manoutcharian^b, Marisela Hernández^b, Agnes Fleury^c, Goar Gevorkian^b, Gonzalo Acero^b, Abel Blancas^b, Andrea Toledo^b, Jacquelynne Cervantes^b, Victor Maza^d, Fabrice Quet^e, Henri Bonnabau^e, Aline S. de Aluja^a, Gladis Fragoso^b, Carlos Larralde^b, Edda Scuitto^{b,*}

Q1 ^a Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 04510, Mexico

^b Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 04510, Mexico

^c Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, SSA, Insurgentes Sur 3877, México, D.F. 14269, Mexico

^d Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Dirección General de Ganadería, Gobierno del Estado de Morelos, Mexico

^e Institut d'Epidémiologie Neurologique et de Neurologie Tropicale, Université de Limoges, 2 rue du Dr. Marcland, Limoges 87025, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 January 2008

Received in revised form 16 March 2008

Accepted 19 March 2008

Available online xxx

Keywords:

Vaccine

Taenia solium cysticercosis

Control

ABSTRACT

In search of reducing vaccine production costs', a recombinant M13 phage version of the anti-cysticercosis tripeptide vaccine (S3Pvac) was. The efficacy of S3Pvac-Phage vs. placebo was evaluated in a randomized trial that included 1047 rural pigs in 16 villages of Central Mexico. Three to five months after vaccination 530 pigs were examined by tongue inspection. At 5–27 months of age 331 pigs (197 vaccinated/134 controls) were inspected at necropsy. Vaccination reduced 70% the frequency of tongue cysticercosis and, based on necropsy, 54% of muscle-cysticercosis and by 87% the number of cysticerci.

© 2008 Published by Elsevier Ltd.

Introduction

Taenia solium cysticercosis still affects humans and rustic pigs living in Mexico [1–3] and in several other developing countries of Latin America, Asia and Africa [4–6], as well as in the countries of destiny of their migrant workers [7–9]. Albeit transitorily effective in focal situations, traditional measures to control cysticercosis transmission (i.e., health education, sanitation, meat inspection, ...) are impractical to apply in the large scale and long enough to change the conditions that support parasite transmission [10]. Hopes of quicker, more general and lasting solutions, lie in the development of several technologically based approaches to control the endemia, while the definitive solution of social development finally comes [11]. Research for better and less costly diagnostic and therapeutic agents and protocols is nowadays getting some attention [12–14]. And so is the development of an effective vaccine against porcine cysticercosis, one that can meet

with the conditions of low cost and feasible application to the millions of practically feral pigs exposed to acquire cysticercosis in impoverished nations [15].

The rationale for vaccination of pigs to curtail *T. solium* transmission rests on the expectation that reducing the number of infected pigs and/or their load of metacestodes would lead to a decrease in the number or viability of pig's cysticerci and thus to a reduction in the number of adult tapeworms, the stage of the parasite with the highest potential of spreading the infection [10].

In pursuit of such goal we first developed and successfully tested in the field the anti-cysticercosis S3Pvac synthetic vaccine composed by the protective peptides KETc12, KETc1 and the GK1 derived from the KETc7 [16]. However, the huge costs of synthetic peptide technology make S3Pvac production unaffordable in the massive amounts needed by nation-wide and sustained pig vaccination programs in the weak economies of endemic countries. Recombinant phage technology offered to cut down costs. S3Pvac recombinantly expressed in M13 filamentous phage (S3Pvac-Phage) exhibited high levels of protection against pig cysticercosis under experimental conditions [17]. However, when approaching natural infections we realized that experimentation in pigs under controlled laboratory conditions could hardly imitate

Abbreviations: mo, months; vs, versus.

* Corresponding author. Tel.: +52 55 56223153; fax: +52 55 56223369.

E-mail address: edda@servidor.unam.mx (E. Scuitto).

the natural pressures of cysticercosis transmission. The diversity of genetic backgrounds of the rural pigs, their meagre diets, their life-long continuous exposure to varied numbers of eggs coming from various tapeworms and the inevitable energy costs from the concomitant stress of living in the wild [18] could all lead to unreliable conclusions. The vaccine had to be tested under natural conditions of transmission and in the genetic type and lifestyles of the pigs exposed to infection [19].

Here, we inform of the efficacy of this novel vaccine candidate (S3Pvac-Phage) tested against naturally acquired pig cysticercosis in 16 rural communities of "Sierra de Huautla" in the State of Morelos, Mexico. The findings support the usefulness of this new, effective and inexpensive anti-cysticercosis vaccine.

Materials and methods

Construction of recombinant S3Pvac-Phage

Four different peptide-phage recombinants were prepared: (1) from *Taenia crassiceps* 96 aa long antigen KETc7 (FK7) (Manoutcharian et al., 1996) and (2) KETc7-derived peptide GK1 (FGK1) (aa 69–95, GYYYPSPDPNTFYAPPYSA); (3) the *T. crassiceps* recombinant antigen-derived peptides KETc1 (APMSTPSATSVRG) (FKETc1) and (4) KETc12 (GNLLLSCLG) (FKETc12) [16]. They were all expressed on the phage surface by cloning the corresponding DNA fragments in phage/phagemid vectors as previously reported [17].

The ligation mixtures of the recombinant phagemids FK7, FGK1 and FKETc12 (fused the foreign peptides to M13 cpVIII) were rescued and amplified by superinfection with M13KO7 helper phage (Invitrogen) from transformed *Escherichia coli* TG-1 cells as described previously [20]. KETc1 was cloned into the M13KE phage vector and the recombinant phage clone FKETc1 was amplified by infecting TG-1 cells as described elsewhere [20]. Recombinant phagemids/phage particles were recovered from the supernants of the cultures at 10^{12} to 10^{14} particles per ml and inactivated and sterilized by autoclave during 30 min at 121 °C. Each pig-dose of the S3Pvac-Phage vaccine contained, in a total volume of 2 ml, 10^{12} formaldehyde-heat inactivated phage particles of each of the four different recombinant phage particles.

Design of the vaccine trial

The objective of this work was to evaluate the efficacy of the S3Pvac-Phage vaccine on real conditions of use; that is, on piglets usually encountered in rural communities of Mexico. The vaccine trial lasted from April 2004 to July 2006. The procedures and experiments reported herein were conducted according to the principles set forth by the Mexican Ethical Committee for the care and use of farm animals.

Selection of rural area and communities

The rural area selected for the vaccination trial (Sierra de Huautla, Morelos, localized in the south of the state between coordinates 18° 20' and 18° 31' north altitude and 98° 51' and 98° 53' west longitudinal) had immediately before been shown was endemic for porcine cysticercosis. About a year before starting the vaccination program, from August to December 2003, tongue cysticercosis was found in 73 (13%) of the randomly selected 562 pigs from the 926 pigs older than 3 months living in 13 of the 16 communities planned to be included. The pigs' sample in this previous assessment of the local endemia represented 62% of the total population of pigs bred in these communities at that time, according to data from the Secretaría de Desarrollo Rural, Morelos. These previous findings documented active transmission of porcine cysticercosis in the communities and triggered the vacci-

Table 1
Baseline characteristics

	Placebo (n = 421)	S3Pvac-Phage (n = 626)	P-Value
Age in month (mean ± S.D.)	3.08 ± 1.82	3.15 ± 2.34	0.60
Weight in kg (mean ± S.D.)	14.19 ± 8.28	14.62 ± 8.55	0.42
Sex, n (%)			
Male	198 (47.03)	305 (48.72)	0.59
Female	223 (52.97)	321 (51.28)	
Male castration, n (%)			
Yes	174 (87.88)	253 (82.95)	0.13
No	24 (12.12)	52 (17.05)	
Female castration, n (%)			
Yes	11 (4.93)	9 (2.80)	0.19
No	212 (95.07)	312 (97.20)	
Water supply, n (%)			
Well	80 (19.00)	142 (22.68)	0.14
River	236 (56.06)	356 (56.87)	
Tap-water	105 (24.94)	128 (20.45)	
Confinement, n (%)			
Loose	408 (96.91)	602 (96.17)	0.52
Tethered	13 (3.09)	24 (3.83)	
Latrine in owner's households, n (%)			
Yes	306 (72.68)	441 (70.45)	0.43
No	115 (27.32)	185 (29.55)	
Origin of pigs, n (%)			
Household	359 (85.27)	538 (86.08)	0.71
Purchased	62 (14.73)	88 (13.92)	
Destinations of pigs, n (%)			
Self-consumption	122 (18.98)	186 (29.71)	0.79
For sale	299 (71.02)	440 (70.29)	
Piglets' breed, n (%)			
Criollo	265 (62.95)	365 (58.31)	0.13
Other	156 (37.05)	261 (41.69)	

nation program which lasted from April 2004 to July 2006. This program included a total of 1047 pigs as shown in Table 1.

Sixteen rural communities were selected from the 25 in the area (Table 2). The conditions which favour the transmission of *T. solium* were present in all communities selected: a high prevalence of cysticercosis in live pigs (13%, as cited above), open air defecation, rustic pig rearing where pigs are allowed to roam free in search of

Table 2
Vaccination reduced 70% of the infected pigs diagnosed by tongue inspection at 7–9 months of age

Community	No of pigs included ^a	No of pigs inspected	% of infected pigs ^b	
			Control	Vaccinated
Ajuchitlan	136	113	6.6 (3/45)	*4.4 (3/68)
Chimalcatlan	141	53	10.5 (2/19)	0 (0/34)
El Limon	90	29	27 (3/11)	11.1 (2/18)
Huautla	132	73	7.5 (3/40)	0 (0/33)
Xochipala	12	12	40 (2/5)	0 (0/7)
Huaxtla	24	9	25 (1/4)	0 (0/5)
El Tepehuaje	24	16	20 (1/5)	12.5 (1/11)
Huizaztla	3	3	0	0 (0/3)
La Era	46	34	27.2 (6/22)	8.3 (1/12)
Los Elotes	24	13	0 (0/4)	0 (0/9)
Los Sauces	94	48	10.5 (2/19)	10.3 (3/29)
Quilamula	158	32	7.6 (1/13)	0 (0/19)
Rancho Viejo	44	25	33.3 (3/9)	6.2 (1/16)
San Jose de Pala	66	34	6.6 (1/15)	0 (0/19)
Santiopa	44	29	9 (1/11)	5.5 (1/18)
El Vergel	9	7	0 (0/1)	0 (0/6)
Total	1047	530	13 (29/223)	3.9 (12/307)

^a Total number of not infected pigs of 3–4 months of age included in the vaccination trial according to tongue inspection.

^b Number of infected pigs/total number of pigs inspected by tongue inspection in the control and in the vaccinated group in each of the 16 communities.

130 food, extensive domestic pig slaughtering and local consumption
131 of non-inspected pork with cysticerci.

132 Statistical design

133 Considering a vaccine efficacy of 50%, a minimum of 225 piglets
134 in each vaccinated and control group would be required for confi-
135 dent statistical inferences [21,22]. In order to minimize differences
136 related to hosts' genetic and exposure factors, half the members of
137 each litter were immunized with S3Pvac-Phage vaccine described
138 above and half with placebo (saline). The additional pig of litters
139 with odd number of piglets was vaccinated. The owners were kept
140 unawares of the treatment received by each pigs in the litter and
141 were instructed to raise the pigs as accustomed.

142 The response variables were: (a) cysticercosis prevalence by
143 tongue inspection; (b) cysticercosis prevalence at necropsy (the
144 number of infected pigs with at least one parasite in masseters or
145 tongue or diaphragm or heart/the total number of pigs inspected in
146 the group); and (c) the number of cysticerci found in each individual
147 pig carcass, macroscopically distinguishing whether the parasites
148 were damaged or vesicular.

149 Pigs included in the study

150 For vaccination, 1127 piglets of 3–4 months of age and appar-
151 ently healthy were eligible for inclusion. From these, 80 were

152 excluded because they were found to be already positive for tongue
153 cysticercosis. The remaining 1047 negative for tongue cysticercosis
154 were included (Fig. 1). The owners of all piglets included accepted
155 to participate in the study and gave their informed consent. All
156 pigs included were labelled using a numbered microchip for their
157 individual identification.

158 Pig-associated variables

159 The study recorded for each individual pig: age (months), weight
160 (kg), and pregnancy (yes/no), male and female castration (yes/no),
161 age (months) of castration, confinement (loose, tethered), source of
162 animal drinking water supply (well, river, or tap water), latrine in
163 the owners' household (yes/no) and whether it was positive or neg-
164 ative by tongue inspection. The pigs' sex, castration and pregnancy
165 status were verified by veterinarian inspection. Pregnancy was con-
166 firmed by the birth of the piglets. Pregnant sows were slaughtered
167 by their owners 2–3 months after parturition.

168 Vaccination of pigs

169 Half of the piglets in each litter received two subcutaneous injec-
170 tions of S3Pvac-Phage at 3–4 months of age and 1 month later, and
171 the other half of the litter received only saline as placebo. When
172 litters were composed by an odd number of piglets, the additional
173 pigs were vaccinated. The pigs' age at vaccination (3–4 months)

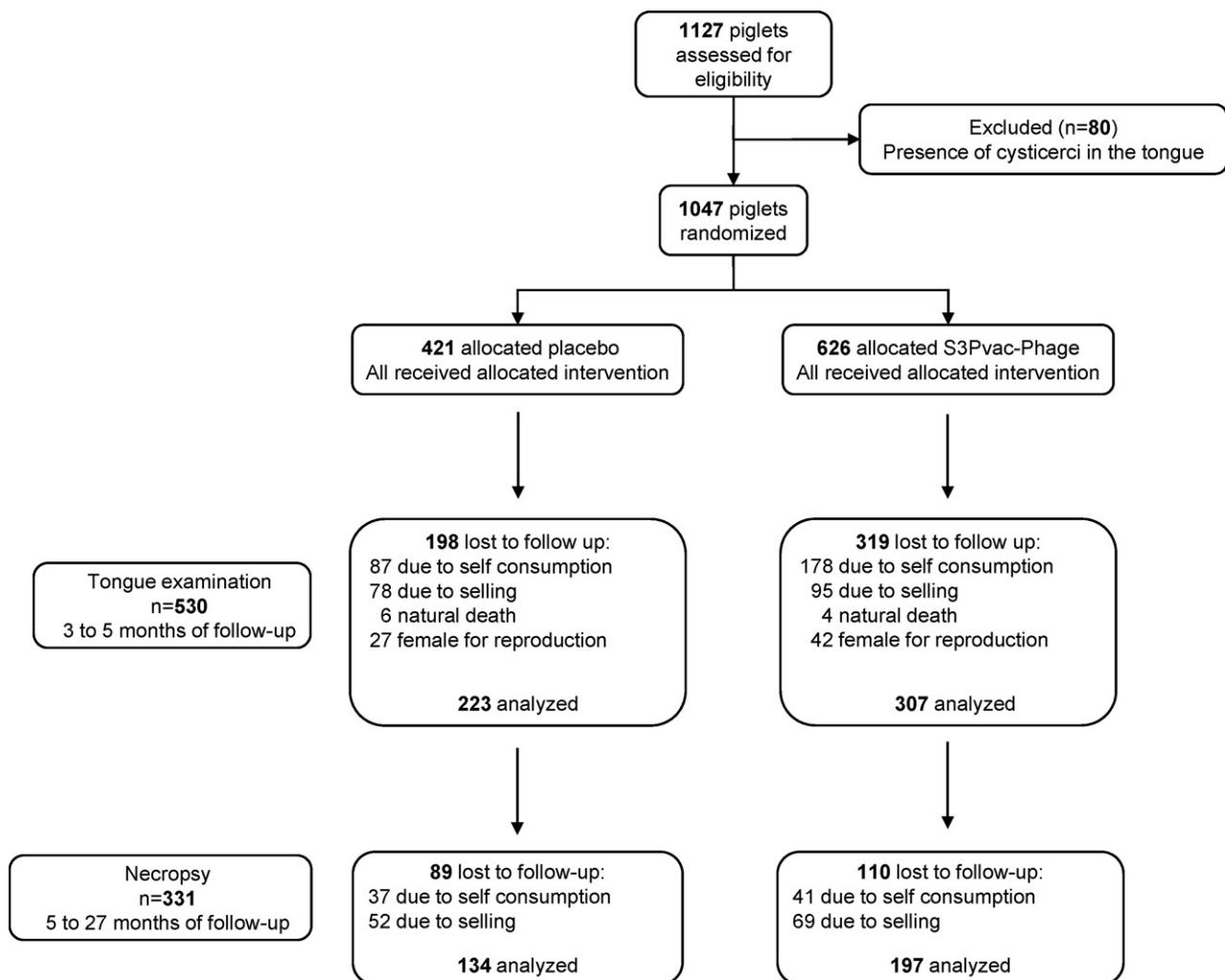


Figure 1. Flow chart, vaccination survey in 16 Mexicans communities (April 2004–July 2006).

was chosen considering that high mortality (up to 50%) is expected in rural piglets before 2 months of age [19]. The S3Pvac-Phage vaccine composed by the four recombinant phages was autoclaved and adjusted to 4×10^{12} phage particles in 2 ml of media containing 0.05% of formaldehyde. Two millilitres of such vaccine preparation were injected subcutaneously at the base of the pigs' ears. The vaccine was maintained at 4–10 °C until used. Control pigs were each injected with 2 ml of saline only.

Follow-up of the vaccination trial

The 16 communities included in this study were visited weekly to look after the pigs included in the trial and to identify any modification in their localization in the community or disappearance due to their selling or death and to determine their reproductive status. For this purpose pigs were double-labelled using a microchip and an earring that permitted the visual identification of those included in the vaccination trial. After 7–9 months of age (3–5 months after vaccination), their tongues were inspected for cysticercosis. At 5–27 months of age, when their owners slaughtered the pigs for consumption, cysticercosis was diagnosed at necropsy by dissecting masseters, tongue, diaphragm, heart and the liver in search of visible cysticerci by making scalpel slices every half-centimetre. The number of cysticerci found in each pig was registered and the owners were instructed not to consume the meat if the pig was infected. Diagnosis of porcine cysticercosis was performed by six thoroughly trained technicians from Dirección General de Ganadería, directly supervised by one of veterinarians of our research team. Following the instructions of the veterinarians the infected carcasses were not consumed by the owners or were extensively cooked before consumed.

Statistical analysis

Data were processed in Excel 7.0 (Microsoft). Statistical calculations were performed using the computer program Statistica 9.0 (StataCorp LP, College Station, USA) and the statistical program of EPI-Info, SPSS (SPSS Inc, Chicago, USA) and SAS 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, USA). Descriptive analyses were based on frequencies and percentages for qualitative variables and means and standard deviations for quantitative variables. Comparisons were made using the Student's *t*-test or the Mann–Whitney *U*-test. Frequencies were compared using the χ^2 -test, with Yates' correction or two-tailed Fisher's exact tests when necessary. Adjusted relative risks (RRa) with the corresponding 95% confidence interval (95% CI) and *P* values were estimated by a multivariate logistical regression. We incorporated in the multivariate model, all variables of interest for which we found a *P* value of less than 0.25 in univariate analyses, by a backward stepwise procedure. All analyses of efficacy, using tongue examination or necropsy, as criteria of diagnosis were made at the end of study.

A two-sided *P* value of less than 0.05 was considered to indicate statistical significance.

Results

Sample size changes during the vaccine trial

A total of 1127 piglets of 3 months of age were examined by tongue inspection before vaccination. Eighty pigs (7.1%) were found infected and excluded from the study. Of the other 1047 non-cysticercotic piglets 626 were vaccinated and 421 were used as controls. Baseline characteristics of the 1047 pigs were not significantly different between control and vaccinated pigs (Table 1). Most male pigs ($n=427$) and few sows ($n=20$) were castrated by

their owners at different times prior to slaughter arguing it quickens weight gain and improves the quality of the meat.

Changes in sample size occurred as the trial proceeded, as shown in Fig. 1 according to CONSORT Statement [23]. Because of the extremely harsh social and economic conditions of the communities involved, by the end of the trial, 49% of the pigs originally included were missing, mostly on account of their being consumed or sold. The diagram in Fig. 1 shows in detail the number and design allocation of the missing pigs.

Tongue inspections were made at 3–5 months after vaccination on 530 of the piglets included in the trial. Nearly half of the included pigs ($n=517$) could not be inspected because they had been consumed or sold by their owners or were sacrificed without timely notice to the project's personnel (198 and 319, respectively in placebo and in the S3Pvac-Phage group). The residual 102 pigs (44 controls and 58 vaccinated) were not examined because of consumption. Necropsies were performed at 5–27 months of age on 331 pigs (197 and 134 pigs in the vaccinated and control group, respectively) because the residual 199 pigs (89 controls and 110 vaccinated) were consumed or sold without timely notice to the project's personnel.

Considering the high number of piglets lost during the two stages of follow-up (tongue inspection, necropsy), analyses of efficacy were adjusted to ensure the statistical representation of the initial population. The variables of adjustment were identified using a logistic regression of the initial variables and the initial number of observations done (1047). Variables significantly linked with pig loss at tongue inspection were: origin (household, purchased), castration (yes, no), Piglets' breed (Criollo, other) and sex (male, female). Variables significantly linked with pig loss at the necropsy examination were: weight and castration (yes, no). Neither vaccination nor placebo were linked with loss at tongue inspection

Effect of vaccination as determined by tongue inspection

Table 2 shows the effect of vaccination on the number of infected pigs in the 530 pigs examined by tongue inspection at 7–9 months of age: cysticercosis was diagnosed in 12 pigs (3.9%) of the vaccinated group and in 29 pigs (13.0%) of the control group, corresponding to a vaccine efficacy of 70%. In the S3Pvac-Phage group an adjusted relative risk (adjustment on origin, castration, piglets' breed and sex as previously described) of 2.7 (CI₉₅: [1.8–4.2], *P*<0.0001) was estimated, which means that cysticercosis frequency in vaccinated pigs are nearly threefold less than that of the placebo group (number of observations used = 530, *R*² = 0.32).

Effect of vaccination as determined by necropsy

Table 3 shows that vaccination significantly decreases the number of infected pigs (13/197 = 6.6% in vaccinated group vs. 19/134 = 14.2% in control group, *P*=0.036) and also significantly reduces the number of cysticerci counted at necropsy (8.4 ± 14.4 in vaccinated group vs. 65.5 ± 74.2 in control group, *P*=0.013). All the cysticerci detected were macroscopically vesicular. The relative risk of vaccinated pigs at necropsy was 2.3 (CI₉₅: [1.2–4.3], *P*=0.0113, adjustment on weight and castration as previously described), which means that frequency of cysticercosis in vaccinated pigs is nearly half that of placebo controls (number of observations used = 331, *R*² = 0.48).

Relevance of biological and exposure factors on cysticercosis prevalence

Table 4 shows the different pig-associated factors and their relation with cysticercosis as determined by necropsy. In the univariate

Table 3

Effect of vaccination on the number of pigs infected and the parasite load according to necropsy at 5–27 months of age

Community	^a Control	^b Number of cysticerci	^a Vaccinated	^b Number of cysticerci
Ajuchitlan	5/19	265	3/28	25
Chimalacatlan	2/9	71	2/10	5
El Limon	1/14	109	1/14	27
Huautla	1/31	69	2/28	21
Xochipala	0/1	0	1/7	6
Huaxtla	1/1	86	0/7	0
El Tepehuaje	0/2	0	0/1	0
Huizaxtla	0/0	0	0/2	0
La Era	1/7	107	1/4	2
Los Elotes	0/4	0	0/7	0
Los Sauces	1/11	40	3/23	49
Quilamula	2/12	44	0/15	0
Rancho Viejo	1/7	15	0/24	0
San Jose de Pala	3/10	182	0/13	0
Santiopa	1/6	60	0/14	0
El Vergel	0/0	0	0/1	0
Total	19/134	1048	13/197	135
Prevalence	14.2%		6.6%	
Mean ± S.D.		65.5 ± 74.2		8.4 ± 14.4

^a Number of infected pigs/total number of pigs inspected by necropsy in the control and in the vaccinated group in each of the 16 communities.

^b Number of cysticerci recovered in the control or vaccinated pigs infected in each community. Vaccine efficiency: 54.15% (reduction in the number of infected pigs) or 87.1% (reduction in the number of cysticerci).

Table 4

Effect of biological and exposure variables on infection determined by necropsy

	Infected	Infected	P-Value
Gender (male/female)	9/23	157/142	0.009
Gestation (yes/no)	12/11	20/123	0.0001
Castration in female (yes/no)	1/22	4/138	0.53
Castration in male (yes/no)	9/0	142/15	1
Month since castration in male	12.3 ± 4.2 ^a	9.5 ± 5.4	0.12
Free roaming (yes/no)	32/0	289/10	0.6
Open water (yes/no)	27/5	243/56	0.8
Latrine (presence/absence)	15/17	266/73	0.001
Vaccination (yes/no)	19/13	115/184	0.036

^a Mean ± S.D.

analysis, male ($P=0.009$), absence of gestation ($P=0.0001$), lower time since castration in males ($P=0.004$), latrine in the owners' household ($P=0.001$) and vaccination ($P=0.036$) were related to a lower prevalence of cysticercosis. A multivariate logistic regression was performed including those factors that were related to infection with a significance under $P<0.1$ in univariate analysis. The presence of latrine ($P=0.039$), gestation ($P<0.0001$) and vaccination ($P=0.004$) were factors that significantly associated with protection according to this multivariate analysis.

Table 5

Relevance of exposure and sexual factors in the vaccine efficacy in the 331 pigs diagnosed at necropsy

	Controls		Vaccinated		P ^c	P ^d
	^a Frequency of infection	^b (X ± S.D.)	^a Frequency of infection	^b (X ± S.D.)		
Sex						
Male	3/63	54 ± 16	6/103	11 ± 10	1	0.02
Female	16/71	55 ± 35	7/94	10 ± 14	0.007	0.008
Latrines						
Yes	8/97	47 ± 39	7/144	7 ± 6	0.29	0.019
No	11/37	61 ± 28	6/53	14 ± 17	0.05	0.003
Gestation						
Yes	10/13	51 ± 33	2/19	3 ± 1	<0.001	0.06
No	6/58	62 ± 41	5/76	13 ± 17	0.5	0.034

X: mean; S.D.: standard deviation.

^a Number of infected pigs/total number of pigs.

^b Mean of cysticerci ± S.D. in infected pigs.

^c Difference in the frequency of infected pigs between control and vaccinated groups.

^d Difference in the number of parasites between control and vaccinated groups.

Relevance of biological and exposure factors in the vaccine efficacy

Table 5 summarizes the effect of exposure and sexual factors on the vaccine efficacy as determined at necropsy and measured in terms of reduction of infected pigs and reduction in the number of the cysticerci in those infected. Only the three parameters significantly related to cysticercosis (**Table 4**) were used for this analysis: the sex of the pigs, if female had or not one gestation, and if the pigs' owners had or not latrines in their houses. As **Table 5** shows, the vaccine significantly reduced the percent of infected pigs in females but not in males. The vaccine also reduced the frequency of cysticercosis in females that had been pregnant and to similar extents in pigs whose owners had or had not latrines at home. In addition, the vaccine significantly reduced the number of cysticerci in vaccinated pigs disregarding any of the other variables considered.

Weight gain and age

Table 6 shows the weight gain of pigs in which tongue and necropsy diagnosis coincided. Their weights increased similarly between 3–4 and 7–9 months of age, regardless of whether they were vaccinated or controls and whether infected or not. However,

Table 6

Weight of the control and vaccinated pigs included in the trial

	Age (months)			P ^a	P ^b
	3–4	7–9	12		
Controls					
Infected	11	18 ± 10.6	43.2 ± 24.4	52.1 ± 11.9	0.006
Not-infected	71	15.1 ± 8.5	45.4 ± 20	63.4 ± 18.4	<0.0001
Vaccinated					
Infected	6	6 ± 2	30.8 ± 18.5	41.7 ± 7.5	0.004
Not-infected	127	14.8 ± 8.9	43.9 ± 19.8	61.2 ± 19.1	<0.0001

Increase of the weight of 215 pigs in which cysticercosis was diagnosed by tongue inspection and necropsy.

^a Differences in the weight between 3–4 and 7–9 months.

^b Differences in the weight between 7–9 and 12 months of age.

after 7–9 months of age, a non-significant 28% increase in weight was detected in control or vaccinated pigs if they had acquired cysticercosis, while those healthy still significantly increased their weight by 39%.

Discussion

This study shows the extent of the protective capacity of the S3Pvac-Phage vaccine against naturally acquired porcine cysticercosis under realistic conditions of transmission in a highly endemic region of Mexico [1].

A high number of pigs were lost for follow-up despite close weekly surveillance. This is neither surprising nor novel for in-the-field evaluation trials in underdeveloped regions [15]. Undisciplined human behaviour is emblematic of communities under pressure by harsh social and economic conditions, as they occur in rural Mexico. However, the number of pigs lost during the trial from the control and the vaccinated group did not significantly differ at tongue examination ($P=0.21$) nor at necropsy ($P=0.90$), indicating unbiased withdrawal of the pigs. That is, infected pigs were not preferentially withdrawn from the initial sample.

However, in order to examine the effect of pig loss upon the validity of our statistical conclusions, an independent research group (co-authors from Université de Limoges), expert in statistical analysis, was invited to more thoroughly examine the database, reduce bias and improve the robustness of the conclusions reached. All their statistical approaches performed (Student's *t*-test, Mann-Whitney *U* or χ^2 with Yates' correction or two-tailed Fisher's exact tests or the logistic analysis) confirmed that vaccination significantly reduced the prevalence and intensity of porcine cysticercosis in the sample studied by tongue inspection and by necropsy at time of slaughter. Also, when using the most rigorous maximum Bias Approach to statistical analysis of trials with numerous missing data, in two of its modalities, it confirmed significant protective effects of vaccination. However, no differences in prevalence due to vaccination were significant in its most stringent modality of considering as cysticercotic all missing pigs, vaccinated or not. An unlikely possibility since similar numbers of vaccinated and not vaccinated pigs were documented as missing and because it would imply a cysticercosis prevalence level close to 50% among the included pigs. Their results showed that S3Pvac-Phage significantly reduced the prevalence of cysticercosis among the vaccinated pigs by 54.2% and, most significantly, reduced the intensity of infection with vesicular cysts by 87.1%. It is important to note that a pig was considered infected regardless of its total parasite load: the pig was scored as positive even if only one cysticercus was found in its muscles. Thus, the higher efficacy of a vaccine in reducing the parasite load is a more sensitive response variable than the stringent goal of sterile immunity. The latter may perhaps be of use for negotiations dealing with international import of potentially

contaminated meats but, for lowering transmission in a defined endemic region, a reduction of 87% in the number of parasite larvae that may eventually transform into tapeworms could significantly impact the endemia to the low levels of impending extinction of the parasite [24].

The efficacy of the S3Pvac-Phage vaccine reported in this study is similarly high to that obtained using the synthetic first version of the anti-cysticercosis vaccine (S3Pvac) when also tested under realistic conditions of rural Mexico [16]. We believe this is a major achievement since the significant lower cost of this new version makes its application feasible for extensive control programs in undeveloped countries.

Other important findings are also disclosed by this trial.

The vaccine significantly reduced the number of cysticerci in pigs exposed to different levels of exposure: high (absence of latrines) or low (presence of latrines). Indeed, in the absence of vaccination, cysticercosis prevalence changed from 8.2 to 29.8% if the owners of the pigs had or not latrines in their households, the relevance of improving sanitary conditions in the rural areas. However, vaccination plus latrines dropped down the overall cysticercosis prevalence further, from 29.8 (without both variables) to 4.8% (with both of them): a prime example of positive interactions between control measures aimed against porcine cysticercosis.

The roles of sexual factors upon cysticercosis prevalence and vaccination effects are also emphasized by this study. A higher prevalence of cysticercosis was found in females (22.5%) vs. castrated male pigs (4.8%). The vaccine did not modify the percentage of male pigs totally protected possibly because castration inhibits the effective TH1 mediated immune response to vaccination, as it happens in murine cysticercosis [25]. Nevertheless, the vaccine significantly reduced the number of cysticerci established in both females and castrated males to a similar relative extent (81% of reduction vs. controls). The increase of cysticercosis prevalence in pregnant sows is also intriguing. Ten of the thirteen pigs that were pregnant in the control group became infected. Albeit the low number of pigs included in this group, the significant relation between pregnancy and cysticercosis points to a role of hormonal factors in cysticercosis, very much in line with the consistently higher prevalence of cysticercosis in sows found in different epidemiological studies [1,26]. Nonetheless, the vaccine managed to reduce the parasite loads even in the more permissive pregnant sows. Clearly, the relevance of sexual factors merits further studies considering their prominent role under experimental conditions in murine cysticercosis caused by the closely related cestode *Taenia crassiceps* [25] and earlier epidemiological hints coming from porcine and human cysticercosis [26–30].

Another finding of practical importance is that vaccination did not reduce the weight gain of pigs but cysticercosis did (Table 6). So that, the net effect of vaccination not only lowers prevalence of porcine cysticercosis but also implies economic benefit by allowing for a normal weight gain in the protected pigs.

In summary, this article exhibits clear evidence of the usefulness and limits of the newly developed and less costly vaccine S3Pvac-Phage under realistic conditions of porcine-cysticercosis transmission.

Acknowledgements

The authors thank Cesar Medina Rojas, Roberto Oregón Morales, José López Reyeros, Ubaldo Leal Ponciano, David García Herrera, Oscar Cruz Bartolomé, Juan Antonio Hernández, Diana Hernández, Mario Kemler Valencia, Antonio Linares Ibáñez, Humberto Cisneros, Julián Rodríguez, Alfredo Blas Brito, Salvador Linares Lara, Conrado Canovas Olmos, Francisco Gadea, Elias Salinas Grandaos, Herminio Jiménez, Nelly Peña H., Manuel Alejandro, Julián

Rodríguez Cabrera, Silvia Vargas and Mercedes Baca for their technical support. The authors also thank the program ECOS-North, (Evaluation-orientation de la Coopération Scientifique, France, Amérique Latine) which permitted the collaboration of a French research group comprised by some authors (Quet F and Bonnabau H) under the leadership of Pierre Marie Preux. This investigation was partially supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología 185946, 46953-m, 2004-01-040, the Fundación Produce, Morelos A.C. and Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Morelos, México, CEAMISH-Universidad Autónoma del Estado de Morelos, LISIG-UAEM, Autoridades Municipales de Tlaquiltenango, Tepalcingo y Ciudad Ayala del Estado de Morelos, CBTA No. 8 de Xoxocotla and the Dirección General de Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México IN-221905.

References

- Rodríguez Cabrera, Silvia Vargas and Mercedes Baca for their technical support. The authors also thank the program ECOS-North, (Evaluation-orientation de la Coopération Scientifique, France, Amérique Latine) which permitted the collaboration of a French research group comprised by some authors (Quet F and Bonnabau H) under the leadership of Pierre Marie Preux. This investigation was partially supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología 185946, 46953-m, 2004-01-040, the Fundación Produce, Morelos A.C. and Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Morelos, México, CEAMISH-Universidad Autónoma del Estado de Morelos, LISIG-UAEM, Autoridades Municipales de Tlaquiltenango, Tepalcingo y Ciudad Ayala del Estado de Morelos, CBTa No. 8 de Xoxocotla and the Dirección General de Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México IN-221905.

References

 - [1] Morales J, Martínez JJ, García-Castella J, Peña N, Maza V, Villalobos N, et al. *Taenia solium*: the complex interactions of biological, social, geographical and commercial factors, involved in the transmission dynamics of pig cysticercosis in highly endemic areas. Ann Trop Med Parasitol 2006;100(2):123–35.
 - [2] Rodríguez-Canul R, Fraser A, Allan JC, Domínguez-Alpizar JL, Argaez-Rodríguez F, Craig PS. Epidemiological study of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in a rural village in Yucatan State, Mexico. Ann Trop Med Parasitol 1999;83:57–67.
 - [3] Fleury A, Morales J, Bobes RJ, Dumas M, Yanez O, Pina J, et al. An epidemiological study of familial neurocysticercosis in an endemic Mexican community. Trans R Soc Trop Med Hyg 2006;100:551–8.
 - [4] Montano SM, et al., Cysticercosis Working Group in Peru. Neurocysticercosis: association between seizures, serology, and brain CT in rural Peru. Neurology 2005;65(2):229–33.
 - [5] Rodríguez-Hidalgo R, Benítez-Ortiz W, Praet N, Saa LR, Vercruyssse J, Brandt J, et al. Taeniasis–cysticercosis in Southern Ecuador: assessment of infection status using multiple laboratory diagnostic tools. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006;101(7):779–82.
 - [6] Preux PM, Druet-Cabanac M. Epidemiology and aetiology of epilepsy in sub-Saharan Africa. Lancet Neurol 2005;4(1):21–31.
 - [7] DeGiorgio CM, Medina MT, Duron R, Zee C, Escueta SP. Neurocysticercosis. Epilepsy Curr 2004;4:107–11.
 - [8] De la Garza Y, Graviss EA, Daver NG, Gambarin KJ, Shandera WX, Schantz PM, et al. Epidemiology of neurocysticercosis in Houston, Texas. Am J Trop Med Hyg 2005;73(4):766–70.
 - [9] Sorvillo FJ, DeGiorgio C, Waterman SH. Deaths from cysticercosis United States. Emerg Infect Dis 2007;13:230–5.
 - [10] Scuitto E, Fragoso G, Fleury A, Laclette JP, Sotelo J, Aluja A, et al. *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 Infect 2000;2:1875–90.
 - [11] Pawlowski ZS, Allan J, Sarti E. Control of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis: from research towards implementation. Int J Parasitol 2005;35:1221–32.
 - [12] Nash TE, Singh G, White AC, Rajshekhar V, Loeb JA, Proano JV, et al. Treatment of neurocysticercosis: current status and future research needs. Neurology 2006;67(7):1120–7.
 - [13] Levine MZ, Lewis MM, Rodriguez S, Jimenez JA, Khan A, Lin S, et al. Development of an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (ELTB) assay using two baculovirus expressed recombinant antigens for diagnosis of *Taenia solium* taeniasis. J Parasitol 2007;93(2):409–17.
 - [14] Serpa JA, Yancey LS, White Jr AC. Advances in the diagnosis and management of neurocysticercosis. Expert Rev Anti Infect Ther 2006;4(6):1051–61.
 - [15] Scuitto E, Rosas G, Hernandez M, Morales J, Cruz-Revilla C, Toledo A, et al. Improvement of the synthetic tri-peptide vaccine (S3Pvac) against porcine *Taenia solium* cysticercosis in search of a more effective, inexpensive and manageable vaccine. Vaccine 2007;25(8):1368–78.
 - [16] Huerta M, de Aluja AS, Fragoso G, Toledo A, Villalobos N, Hernandez M, et al. Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in a controlled field trial in rural Mexico. Vaccine 2001;20:262–6.
 - [17] Manoutcharian K, Diaz-Orea A, Gevorkian G, Fragoso G, Acero G, Gonzalez E, et al. Recombinant bacteriophage-based multiepitope vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis. Vet Immunol Immunopathol 2004;99:11–24.
 - [18] Del Rey A, Roggero E, Randolph A, Mahuad C, McCann S, Rettori V, et al. IL-1 resets glucose homeostasis at central levels. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103(43):16039–44.
 - [19] Scuitto E, Morales J, Martinez JJ, Toledo A, Villalobos MN, Cruz-Revilla C, et al. Further evaluation of the synthetic peptide vaccine S3Pvac against *Taenia solium* cysticercosis in pigs in an endemic town of Mexico. Parasitology 2007;134:129–33.
 - [20] Manoutcharian K, Terrazas LI, Gevorkian G, Acero G, Petrossian P, Rodriguez M, et al. Phage-displayed T-cell epitope grafted into immunoglobulin heavy-chain complementary-determining regions: an effective vaccine design tested in murine cysticercosis. Infect Immun 1999;67(9):4764–70.
 - [21] Lemeshow S, Hosmer DW, Janelle K, Lwanga SK. Adequacy of sample size in health studies. John Wiley & Sons Ltd.; 1990.
 - [22] Elashoff JD, Lemeshow S. Sample size determination in epidemiologic studies. In: Ahrens W, Piegot J, editors. Handbook of epidemiology. Berlin/Heidelberg: Springer; 2004. p. 559–94.
 - [23] Moher D, Schulz KF, Altman DG. For the CONSORT Group, The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. Lancet 2001;357:1191–4.
 - [24] Heesterbeek JA, Roberts MG. Threshold quantities for helminth infections. Math Biol 1995;33(4):415–34.
 - [25] Morales-Montor J, Larralde C. The role of sex steroids in the complex physiology of the host–parasite relationship: the case of the larval cestode of *Taenia crassiceps*. Parasitology 2005;131(Pt 3):287–94.
 - [26] Morales J, Velasco T, Tovar V, Fragoso G, Fleury A, Beltran C, et al. Castration and pregnancy of rural pigs significantly increase the prevalence of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis. Vet Parasitol 2002;108:41–8.
 - [27] Peña N, Morales J, Morales-Montor J, Vargas-Villavicencio A, Fleury A, Zarco L, et al. Impact of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis on the hormonal levels of free ranging boars. Vet Parasitol 2007;149(1–2):134–7.
 - [28] Del Brutto OH, García E, Talámas O, Sotelo J. Sex-related severity of inflammation in parenchymal brain cysticercosis. Arch Intern Med 1988;148(3):544–6.
 - [29] Larralde C, Montoya RM, Scuitto E, Diaz ML, Govezensky T, Colorti E. Deciphering western blots of tapeworm antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus granulosus*, and *Taenia crassiceps*) reacting with sera from neurocysticercosis and hydatid disease patients. Am J Trop Med Hyg 1989;40:282–90.
 - [30] Fleury A, Dessein A, Preux PM, Dumas M, Tapia G, Larralde C, et al. Symptomatic human neurocysticercosis—age, sex and exposure factors relating with disease heterogeneity. J Neurol 2004;251(7):830–7.