



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL  
PARASITOLOGÍA

“IDENTIFICACIÓN DE LA DOSIS INMUNOGÉNICA DE LA VACUNA  
S3PVAC-PAPAYA ORAL EN CERDOS DE TRASPATIO”

T E S I S

QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

P R E S E N T A

HÉCTOR DÍAZ CHAPULA

TUTOR

DRA. EDDA LYDIA SCIUTTO CONDE I.I.B.

COMITÉ TUTORAL

DRA. SUSANA ELVIRA MENDOZA F.E.S.C.  
DR. JOSÉ ÁNGEL GUTIERREZ PABELLO F.M.Z.

CIUDAD DE MÉXICO. MÉXICO.

NOVIEMBRE 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# *Dedicatoria*

*Este documento está dedicado principalmente al Creador de todo lo que es...*

*Por haberme dado la oportunidad de vivir esta gran experiencia, y sobre todo por darme la oportunidad de conocer a muchas personas que contribuyeron en la realización de este proyecto, aportando su granito de arena tanto en mi vida personal como profesional....*

*También dedico este trabajo a una persona ejemplar como lo fuera en vida el*

*Dr. Carlos Larralde Rangel.*

*Porque sin conocerme me brindó la oportunidad de continuar con mis estudios cuando desafortunadamente perdí mi beca, fue un gesto noble que atesoro fielmente, donde quiere que se encuentre, Dr. este trabajo lo dedico en su memoria.... y por su aportación a la ciencia y el conocimiento...*

*Gracias...*

*Mirad las aves del cielo, que no siembran, ni siegan,  
Ni recogen en graneros; y  
Vuestro Padre celestial las alimenta.  
¿No valéis vosotros mucho más que ellas?  
Mateo 6:26*

# *In Memoriam*



*Dr. Carlos Larralde Rangel*

*Nunca como ahora constato la amplitud y diversidad de los dominios académicos de la UNAM, la inmensa diversidad y creatividad de los universitarios, su auténtico apego a la argumentación y al diálogo en sus intentos de persuasión, su repudio a la violencia.*

*Ciertamente que por ésta "raza hablará el espíritu"...*

*Carlos Larralde, 2008.*

# Agradecimientos

*En esta ocasión tengo el gusto y satisfacción de agradecer profundamente a...*

## **Mis Padres**

*Porque creyeron en mí y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en todo momento, y por la confianza que tienen por mí, fue lo que me hizo llegar hasta el final.*

## **A mis hermanos**

*Por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.*

*“Sería un honor poder expresar mediante estas líneas mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que con su ayuda han colaborado en la realización de este gran proyecto”.*

## **Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. CONACyT**

*Por el apoyo económico brindado para el desarrollo de este proyecto de maestría*

## **A la Universidad Nacional Autónoma de México. UNAM**

*Por brindarme la oportunidad de pertenecer a su programa de Maestría en Ciencias de la Producción y Salud Animal.*

## **A la Dra. Edda Lydia Scitto Conde.**

*Por aceptarme para realizar este proyecto bajo su dirección, gracias a su apoyo y confianza en mí, en mi trabajo, también a su capacidad para guiar mis ideas, ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante mi estancia con usted y esto ha sido la clave del buen trabajo de tesis que hemos realizado juntos.*



**Dra. Susana Elvira Mendoza**

**Dr. José Ángel Gutiérrez Pabello**

*Por aceptar ser parte de mi comité tutor, por su esfuerzo y dedicación quien, con sus conocimientos, experiencia, paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios de maestría con éxito.*

**A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM Ciudad Universitaria**

**Dra. Ada Nelly Martínez Villalobos**

*Por su gran colaboración y ayuda con los cerdos, con en el manejo y obtención de las muestras biológicas en la granja.*

**Al Instituto de Investigaciones Biomédicas (I.I.B). UNAM**

**Dra. Gladis Del Carmen Fragoso González**

**Dra. Gabriela Meneses Ruiz**

**M.C. Guadalupe Núñez Martínez**

**M.V.Z. Antonio Zamna Jiménez Zavala**

*Por su colaboración, ayuda y enseñanza en todo momento durante mi estancia en el laboratorio además de su apoyo, consejo y amistad.*

**Dra. Marisela Hernández González**

*Por la capacitación, enseñanza y asesoría en las técnicas que se utilizaron para la realización de este trabajo*

**Al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía SSA.**

**Dra. Laura Adalid Peralta**

**Dra. Andrea Toledo Rojas**

*Por la asesoría, capacitación y apoyo en las técnicas que se utilizaron para la realización de este trabajo.*

**Lic. Julio César Huesca Reyes**

*Por ser una pieza clave en la realización de este proyecto desde la logística con los cerdos, el adiestramiento de estos hasta la redacción de este trabajo.*

**ThetaHealing México®.**

**Lic. Renata Braun Salcido**

*Por haberme brindado el apoyo cuando más lo necesitaba y dado la oportunidad de conocer la técnica que ha cambiado mi vida.*



# ÍNDICE

Contenido	Pág.
<b>RESUMEN</b> .....	X
<b>SUMMARY</b> .....	XI
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. HIPÓTESIS.....	4
1.2. OBJETIVOS	
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	5
2.1. Generalidades	
2.2. Distribución geográfica	
2.3. Clasificación taxonómica de <i>Taenia solium</i> .....	6
2.4. Características morfológicas del parásito	
2.4.1. <i>Taenia</i>	
2.4.2. Cisticerco.....	7
2.5. Ciclo Biológico.....	8
2.5.1. <i>Taenia</i>	
2.5.2. Cisticerco.....	10
2.5.2.A En el Hombre	
2.5.2.B. En el Cerdo.....	11
2.6. Cisticercosis	
2.6. A. En el Hombre	
2.6. B. En el Cerdo.....	12
2.7. Diagnóstico de la cisticercosis en el cerdo.....	14
2.7.1. Examen de lengua	
2.7.2. Inspección de la canal.....	15
2.7.3. Diagnostico serológico	

2.8.	Tratamiento de la cisticercosis.....	16
2.8. A.	Tratamiento en humanos	
2.8. B.	Tratamiento en cerdos.....	17
2.9.	Medidas de prevención y control de la cisticercosis porcina	
2.9.1.	Métodos físicos	
2.9.2.	Métodos biológicos.....	18
2.10	Vacunación contra la cisticercosis.....	20
<b>III</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
3.1	Sitios experimentales	
3.1.A.	Cerdos	
3.1.B.	Ratones.....	24
3.2	Diseño experimental	
3.2.A.	Lechones	
3.2.B.	Ratones .....	25
3.3	Preparación de los pellets.....	26
3.4	Entrenamiento.....	27
3.4.A.	Lechones	
3.4.B.	Ratones .....	28
3.5	Inmunización.....	29
3.5.A.	Lechones .....	30
3.5.B.	Ratones.....	32
3.6	Toma de Muestras.....	33
3.6.A.	Lechones	
3.6:B.	Ratones	
3.6. B.1.	Infección.....	34
3.7	Proliferación linfocitaria.....	35
3.7.1.	Obtención de células mononucleares	
3.7.2.	Tinción con CFSE.....	38
3.7.3.	Obtención de las células para análisis por Citometría	



3.7.4. Citometría de flujo.....	39
3.7.5. Ensayo de ELISA.....	40
3.7.5. A. Lechones	
<b>IV RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
4.1 Lechones	
4.1.A. Inmunización vía oral con pellet	
4.1.B. Respuesta inmune celular .....	42
4.1.C. Respuesta inmune humoral	
4.2. Ratones.....	43
4.2.A Inmunización vía oral con pellet	
4.2.B Carga parasitaria en ratones inmunizados.....	44
<b>V DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
5.1 Lechones	
5.2. Ratones.....	48
<b>VI CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>VII BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>50</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Pág.
<b>FIGURAS</b>	
1 <i>Morfología de la Taenia solium</i> .....	7
2 Larva o cisticerco de <i>Taenia solium</i> .....	8
3 Ciclo biológico de la Taeniasis –Cisticercosis.....	9
4 Cisticercosis porcina (en diferentes órganos y tejidos).....	13
5 Sitio de experimentación.....	23
6 Lechones criados de forma rústica .....	23
7 Grupo de ratones experimentales .....	24
8 Distribución e identificación de los lechones por grupos.....	25
9 Grupos de ratones .....	26
10 Pellets en forma de barras para cerdos.....	27
11 Adiestramiento de los lechones .....	28
12 Pruebas de palatabilidad en ratones.....	29
13 Grupo de lechones.....	31
14 Cerdo al momento de ingerir el pellet.....	31
15 Ratones asilados previa inmunización .....	33
16 Obtención de plasmas de cerdo.....	34
17 Obtención de sueros de ratón.....	34
18 Conteo de carga parasitaria .....	35
19 Procesamiento de muestras para proliferación linfocitaria.....	37
20 Conteo de células en cámara de Newbouer.....	37
21 Plot de proliferación linfocitaria por citometría de flujo.....	39

## ÍNDICE DE CUADRO

Contenido	Pág.
<b>CUADROS</b>	
1 Clasificación taxonómica.....	6
2 Distribución de los ratones por grupos.....	26
3 Inmunización de cerdos.....	30
4 Grupo de ratones experimentales .....	32
5 Respuesta inmune celular.....	42
6 Respuesta inmune humoral.....	43
7 Efecto de la administración con sonda vs en forma de pellet.....	44
8 Efecto pellet vs sonda (repetición).....	45

## **IDENTIFICACIÓN DE LA DOSIS INMUNOGENICA DE LA VACUNA S3PVAC-PAPAYA ORAL EN CERDOS DE TRASPATIO.**

Héctor Díaz Chapula. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ).  
Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) Ciudad de México.

### **RESUMEN**

El complejo teniasis - cisticercosis aún sigue siendo un problema de salud pública en México y el mundo, especialmente en lugares donde los servicios sanitarios son deficientes. Aunado a esto, los malos hábitos higiénicos de las personas al preparar alimentos o en sus necesidades fisiológicas, como defecar al ras del suelo, siguen siendo actividades o acciones que facilita la infección de los cerdos que son criados de forma rústica o de traspatio, mismos que deambulan libremente teniendo fácil acceso a la materia fecal que pudiera estar contaminada por los huevos o proglótidos grávidos de la *Taenia solium*, permitiendo esto completar el ciclo biológico del parásito. Actualmente, se han probado diferentes versiones de vacunas con la finalidad de prevenir la infección de los cerdos en estas condiciones. El objetivo de este estudio fue determinar la dosis inmunogénica de la vacuna S3Pvac-papaya aplicada por vía oral; para ello fue necesario realizar diferentes pruebas de palatabilidad, volumen y consistencia tanto en ratones como en lechones, para su fácil aplicación, buscando la manera más rápida, segura y eficiente, para la vacunación, para ello se elaboraron pequeños pellets a base de pan molido y atún en aceite; esto permitió conocer la aceptación al pellet como vehículo demostrando así también que la vacuna conserva sus propiedades para ser administrada de forma oral y determinar por medio de la proliferación linfocitarias y de inmunoensayos que la dosis 1µg y 10 µg son capaces de producir una respuesta inmune favorable en los lechones de traspatio, vacunados por vía oral.

**Palabras clave:** Vacunación oral, cisticercosis, S3Pvac-papaya, cerdos de traspatio, respuesta inmunológica.

## **IDENTIFICATION OF VACCINE DOSES IMMUNOGENIC S3PVAC-PAPAYA IN ORAL BACKYARD PIGS.**

Héctor Díaz Chapula. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ).  
Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) Ciudad de México.

### **SUMMARY**

The complex taeniasis - cysticercosis still remains a public health problem in Mexico and the world, especially in places where sanitation is poor. In addition to this, bad hygiene habits of people preparing food or their physiological needs, such as defecating at ground level, remain activities or actions that facilitates infection of pigs that are raised in a rustic or backyard, same that roam freely with easy access to the stool that may be contaminated with eggs or gravid proglottids of *Taenia solium*, allowing it to complete the life cycle of the parasite. Currently, different versions have been tested vaccines in order to prevent infection of pigs under these conditions. The aim of this study was to determine the immunogenic dose of the vaccine S3Pvac-papaya applied orally; for it was necessary to perform different tests of palatability, volume and consistency in both mice and pigs, for easy application, looking for the fastest, safely and efficiently, for vaccination, for this small pellets were developed based breadcrumb and tuna in oil; this allowed to know the acceptance to the pellet as a vehicle and also demonstrating that the vaccine retains its properties to be administered orally and determining by the lymphocyte proliferation and immunoassays dose 1 .µg and 10 .µg are capable of producing a favorable immune response in piglets backyard, orally vaccinated.

**Keys Word:** Oral vaccination, cysticercosis, S3Pvac-papaya, pigs backyard, immune response.

## I. INTRODUCCIÓN

La cisticercosis es una enfermedad zoonótica presente tanto en México como en otros países, que afecta la salud humana y porcina principalmente, en los cerdos que son criados en forma rústica o de traspatio. En la práctica de crianza porcina, las deficientes o casi nulas condiciones sanitarias y la falta aún de conocimiento de la enfermedad, favorece al mantenimiento del ciclo de vida de *Taenia solium*, cuya forma larvaria, es el *Cisticercos cellulosae*. La cisticercosis afecta sustancialmente a la economía de los dueños de los animales afectados y la salud pública de la población en general.

La cisticercosis, se considera una zoonosis porque afecta tanto a humanos como a cerdos. Es importante resaltar que el humano es el único huésped definitivo natural de la *T. solium*. La prevalencia del complejo teniasis/cisticercosis depende estrechamente del vínculo que se establece entre el hombre y el cerdo (huésped intermediario) en condiciones insalubres, que son propicias para desarrollo de su ciclo biológico (Williams et al., 2006).

La cisticercosis humana y porcina es endémica en algunos países de América Latina, Asia y África. Esta enfermedad parasitaria está claramente asociada al subdesarrollo donde prevalecen las condiciones que favorecen su transmisión, inadecuadas y deficientes condiciones sanitarias, fecalismo al ras del suelo, carencia de drenaje y falta de agua potable. Estas condiciones, aunadas a la crianza rústica de los cerdos y a la ausencia o inadecuada inspección en los rastros, generan la situación óptima para promover la transmisión de la *T. solium* (Del Brutto, 2001; Fleury, et al., 2003; Sciutto, et al., 2003).

Cabe resaltar que el ser humano también puede llegar a ser un huésped intermediario presentando la cisticercosis; cuando esto ocurre el cisticerco frecuentemente se instala en el sistema nervioso central, causando la Neurocisticercosis (NCC), enfermedad que representa un grave problema de salud pública (Martínez et al., 2003). La NCC es una enfermedad aún presente en México. En un estudio reciente de prevalencia hospitalaria, realizado en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN), se demostró que su prevalencia se ha mantenido estable en 2-3%, aproximadamente, durante los últimos 15 años (Fleury, et al., 2010).

Para la prevención de esta parasitosis, resulta pertinente el uso de vacunas contra la cisticercosis porcina debido a que el cerdo es el hospedero intermediario indispensable para la continuidad del ciclo de vida de éste parásito. Por su parte, el Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) ha desarrollado la vacuna S33Pvac, que está constituida por tres péptidos: KETc7, GK-1, KETc1 y KETc12 originalmente identificados en el cisticerco de *Taenia crassiceps*. Las secuencias que codifican para éstos péptidos se han identificado con un alto grado de homología con otros cestodos, entre los que figuran: *T. solium*, *Taenia saginata*, *Taenia pisiformis*, *Echinococcus granulosus* y *multilocularis* (Sciutto, et al., 2013, Rassy et al., 2010).

La primera versión de esta vacuna generada de manera sintética, S3Pvac-sintética, mostró un efecto protector en contra de la cisticercosis porcina en condiciones naturales de transmisión, redujo al 50% la prevalencia y al 98% la cantidad de cisticercos viables (Huerta et al., 2001). La vacuna S3Pvac también demostró tener capacidad de destruir cisticercos recientemente instalados (Aluja et al., 2005).

La segunda versión de esta vacuna, "S3Pvac-Fago", se generó expresando los péptidos vacúnales en fagos filamentosos. Esta versión redujo en un 54% la prevalencia y al 89% la cantidad de cisticercos viables en condiciones naturales de infección (Morales, et al., 2008; Morales, et al., 2011).

Actualmente, se dispone de una tercera versión de la vacuna expresada en clones de callos transgénicos embriogénicos de papaya (S3Pvac-papaya) que ha demostrado inducir altos niveles de protección contra la cisticercosis por *T. crassiceps* en ratones y *T. pisiformis* en conejos de manera experimental, administrándola por vía oral (Betancourt et al., 2012).

Las vacunas contra la cisticercosis porcina que han sido evaluadas en campo son para ser administradas por vía parenteral. Sin embargo, su aplicación en cerdos de traspatio se complica debido a que este tipo de cerdos pasa la mayor parte del día deambulando en las calles y campos de las comunidades rurales, siendo necesario atraparlos para administrarles el inmunógeno. Estas limitaciones adquieren mayor relevancia si consideramos que la población porcina en México es de 14, 625,199 animales, datos reportados por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). De esta cifra, se calcula que alrededor del 30 y 40% corresponden a los llamados "cerdos de traspatio" (Aluja et al, 2006).

Por lo antes mencionado, surge la necesidad de ofrecer una vacuna oral que se suministre de manera rápida y fácil, que los mismos propietarios puedan administrarla directamente a sus cerdos, lo cual resulta indispensable para extender un programa de control a todo el territorio nacional. Por ello, este proyecto de investigación pretende identificar el rango de dosis efectiva de la vacuna S3Pvac-papaya aplicada por vía oral que pueda inducir



una respuesta inmune contra la cisticercosis porcina en cerdos criados en condiciones de traspatio.

## **I.1. HIPÓTESIS**

La vacuna S3Pvac-papaya oral en un rango de dosis de 1, 10 y 100 µg administrada por vía oral, es capaz de producir una óptima respuesta inmunogénica en cerdos criados en condiciones de traspatio.

## **I.2. OBJETIVOS**

### **I.2.1. OBJETIVO GENERAL**

Identificar cuál es la dosis óptima de la vacuna S3Pvac-papaya aplicada por vía oral capaz de inducir una respuesta inmune en cerdos criados bajo condiciones de traspatio

### **I.2.2. OBJETIVOS PARTICULARES**

- A) Evaluar diferentes métodos de administración de la vacuna por vía oral.
- B) Evaluar la respuesta inmune humoral inducida por la vacunación, detectando anticuerpos Ig G en plasmas de los lechones.
- C) Evaluar la respuesta inmune celular de memoria inducida, en los lechones, por la vacunación, a través de la cuantificación de los niveles de proliferación linfocitaria in vitro.

## **II. MARCO TEORICO**

### **2.1. GENERALIDADES**

El ciclo de vida de la *T. solium* es complejo y este ocurre entre el hombre y los cerdos. En el humano se puede presentar la teniasis: que es la infección causada por el cestodo en su fase adulta, y la cisticercosis cuando la fase larvaria se presenta en el humano o el cerdo (*Cordero del Campillo y Hidalgo-Argüello, 1999; Acha y Szyfres, 2003*). En este llegándose alojar principalmente en los músculos con mayor irrigación sanguínea y diversos órganos y en el hombre también puede llegar a afectar principalmente corazón, musculo esquelético y el sistema nervioso central (*Pawlowski, 2002*).

La cisticercosis en cerdos causa grandes pérdidas sobre todo en la producción porcina, por la presencia de los cisticercos en la carne y la ingestión de esta, sin las medidas óptimas de cocción, es una de las practicas más comunes en las que se infectar por el parásito. En el humano, la NCC, es una de las presentaciones de mayor importancia médica, por la presencia del cisticerco en el sistema nervioso central, provocando problemas neuropatológicos serios. (*White, 1997*).

### **2.2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA**

La teniasis/cisticercosis está presente en todo el mundo y es mucho más frecuente en países en desarrollo; en particular se encuentran numerosos casos en América Latina, en el este de Europa, norte de China, India y el este de África, especialmente en áreas urbanas y rurales que carecen de infraestructura sanitaria, que sufren de pobreza extrema e higiene deficiente y donde los cerdos deambulan libremente teniendo acceso a las heces

humanas (Anderson, 2005; Ruiz, 2004; W.H.O, 2000; Romero, 1993; Rodas, 1990; Soulsby, 1987).

### 2.3. LA CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *T. solium*

Phylum: *Platyhelminthes*

Clase	<i>Cestoda</i>
Subclase	<i>Eucestoda</i>
Orden	<i>Cyclophyllidea</i>
Familia	<i>Taeniidae</i>
Genero	<i>Taenia</i>
Especie	<i>Taenia solium</i>

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica (Willms KL, et al, 2006).

### 2.4. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PARASITO

#### 2.4.1. *Taenia*

La *T. solium* es un organismo hermafrodita de color blanco-marfil, aplanado y en su estado adulto pueden llegar a medir de 1.5 a 5 metros. Posee un escólex que mide aproximadamente un 1 mm de diámetro que está provisto de cuatro ventosas en forma de corona y un róstelo, con una doble corona de 22 a 32 ganchos con los que se fija a la mucosa del intestino (Náquira, 1999).

Su cuello es corto y enseguida de este se encuentra el estróbilo, que está constituido por tres tipos de proglótidos: inmaduros, maduros y grávidos (su maduración es conforme se alejan de la cabeza), encontrándose también a lo largo de ésta cadena estrobilar los poros uterinos (Náquira, 1999). **Figura 1.**

Los proglótidos maduros son cuadrangulares y presentan gónadas sexuales masculinas y femeninas, los poros genitales son unilaterales que se alternan en forma regular. Los proglótidos

grávidos son anchos, y contienen de 100,000 huevos (Náquira, 1999).



más largos que pueden llegar a 50,000 a (Náquira,

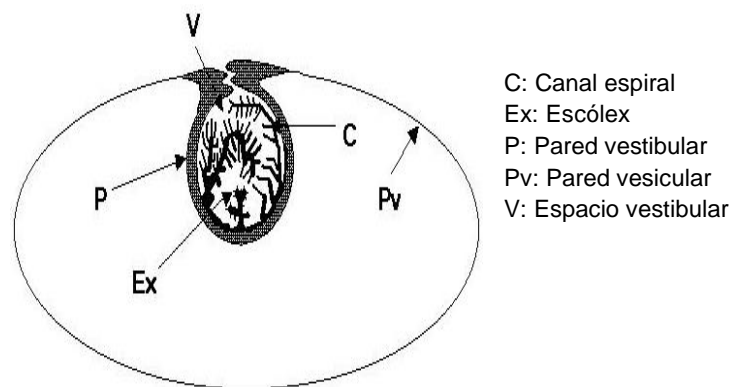
**Figura 1.** Morfología de *T. solium*. (Tomado de Flisser et al., 2006)

### 2.4.2. Cisticerco

Los huevos son morfológicamente similares a los de otras especies de tenidos e idénticos a los de *T. saginata*, son de paredes gruesas y radiadas que encierran al embrión hexacanto u oncósfera que es la forma infectante del parásito para el desarrollo de la cisticercosis (Náquira 1999; Castellanos et al., 2007).

El cisticerco es una vesícula translúcida, ovoide o circular de 5 a 10 mm de diámetro, dentro contiene un pequeño gusano o escólex invaginado, que puede permanecer en los tejidos del hospedero intermediario durante varios años (Dixon H, et al., 1944; 1961) y está rodeado por una cápsula de tejido conectivo lleno de un fluido transparente que contiene proteínas del parásito y del huésped. Cabe hacer notar que el tegumento y la pared vesicular (**Figura 2**) son el sitio de contacto del parásito con el hospedero y desempeña un papel central en el mantenimiento de la relación hospedero-parásito (Ambrosio J, et al., 1994).

El ciclo de vida continúa cuando el ser humano consume carne de cerdo infectada e ingiere uno o varios cisticercos viables. La masticación, las sales biliares y las proteasas digestivas destruyen la pared vesicular e inducen la salida o evaginación del escólex (Flisser. et al; 1994). Una vez evaginado el escólex, se fija en la pared del yeyuno por medio de sus ventosas y ganchos rostelares. A partir de entonces, el escólex comienza a crecer y diferenciarse hasta convertirse en un gusano adulto (Cañedo, et al., 1962).



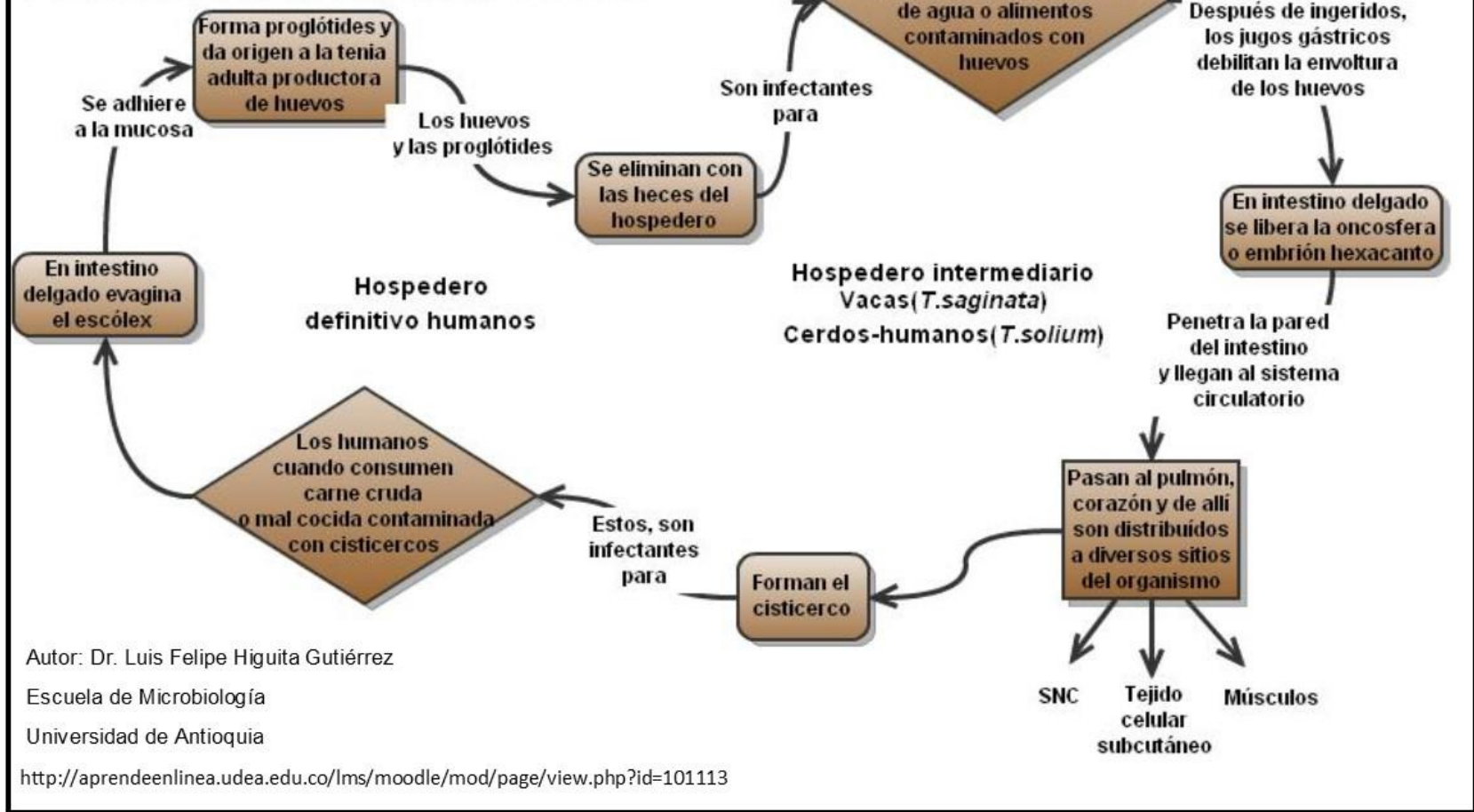
**Figura 2.** Larva o cisticerco de *T. solium*  
(Tomada de Ambrosio J, et al., 1994).

## 2.5. CICLO BIOLÓGICO

### 2.5.1 Tenia

El ciclo biológico de *T. solium* incluye dos hospederos: El cerdo como hospedador intermediario (cisticercosis) y los seres humanos como hospedadores definitivos (teniasis), que también puede llegar a ser hospedador intermediario accidental (cisticercosis) (Quiroz, 1997). **Figura 3.**

# Complejo Teniasis/cisticercosis



Autor: Dr. Luis Felipe Higuera Gutiérrez

Escuela de Microbiología

Universidad de Antioquia

<http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/mod/page/view.php?id=101113>

Figura 3. Ciclo biológico de la Taeniasis /Cisticercosis.



La teniasis se desarrolla cuando el hombre consume carne de cerdo con cisticercos; una vez que éstos son ingeridos, son expuestos a los jugos intestinales en el tracto digestivo lo que provoca su evaginación (exponiendo la cabeza o escólex) y se fijan a la mucosa del intestino por medio de cuatro ventosas y una doble corona de ganchos (*Williams, et al., 2006*).

Una vez fijados en el intestino se desarrolla la fase adulta (organismo hermafrodita), es en esta etapa donde se liberan los proglótidos grávidos que contienen los huevos maduros los cuales son expulsados por la materia fecal y estos al ser ingeridos por los cerdos, al cabo de 8 a 10 semanas se llegan a localizar principalmente en la musculatura donde se desarrolla la larva o cisticerco, (*Náquira, 1999, Nash y Neva, 1984; Quiroz, 1997; Matías, et al., 1983*).

Cuando los huevos son ingeridos por el hombre o el cerdo, pueden transformarse en cisticercos y solo en el hombre puede completar así el ciclo de vida albergando al parásito adulto (*Taenia*) (*Williams, et al., 2006*).

## **2.5.2 Cisticerco**

### **2.5.2.A. En el hombre:**

La cisticercosis en el hombre se produce al ingerir accidentalmente los huevos de *T. solium* principalmente en alimentos regados con aguas contaminadas con heces de personas infectadas, o por la falta de higiene en las personas portadoras de la taenia adulta por contacto ano-mano-boca (*Cordero del Campillo e Hidalgo, 1999; Quiroz, 1997*). **Figura 3.**

Al pasar por el tubo digestivo, las oncosferas son activadas, penetran en la pared intestinal y a través de los vasos sanguíneos o linfáticos llegan a diferentes órganos, en donde se transforman en cisticercos. Este proceso demora alrededor de dos o tres meses. Cuando los cisticercos se ubican en el SNC se desarrolla la NCC (Náquira, 1999; Reyes, 1996)

#### **2.5.2.B. En el Cerdo:**

Cuando el huevo llega al estómago se rompe debido a la acción de enzimas gástricas e intestinales, la oncofera sale y atraviesa las paredes del intestino y alcanza por vía sanguínea diferentes partes del organismo sobre todo la musculatura (maseteros, lomo, región escapular), corazón y lengua donde se enquista, crece y forma una vesícula blanquecina que contiene el escólex invaginado (Castellanos Sánchez, et al., 2007; Aluja A, et al., 1982; Sarti E, et al., 1992).

### **2.6. CISTICERCOSIS**

#### **2.6.A. En el Hombre**

Debido a la ingestión de los huevos de tenia, el ser humano obtiene la cisticercosis y dependiendo el sitio donde se aloje el parásito da lugar el padecimiento, como por ejemplo cuando llega a alojarse en el cerebro se le denomina NCC que es la afectación del sistema nervioso y depende principalmente de la cantidad, la localización y si está vivo o muerto. Las alteraciones convulsivas son las más frecuentes. Las alteraciones más comunes pueden ser: pérdidas de memoria, debilidad, irritación, trastornos de personalidad y convulsiones; estos padecimientos son causa importante de morbilidad y mortalidad humana (Sciutto, et al., 2002).

Después de la afección del SNC sigue el tejido subcutáneo y ojos. Cuando el cisticerco se encuentra en el tejido subcutáneo produce alteraciones desde nula hasta leves. Cuando se presenta una cisticercosis oftálmica pueden existir alteraciones de los campos visuales, generando dolor, ceguera y fotofobia, al encontrarse en el ojo es generalmente único, unilateral y si se encuentra vivo puede desplazarse, dando lugar a uveítis, retinitis, desprendimiento de la retina y ceguera (*Sciutto, et al., 2000*).

Cuando la localización es muscular las manifestaciones no se presentan de forma clínica, al menos que la infección se deba a la presencia de gran número de cisticercos. Si esto ocurre se puede manifestar por dolor muscular, calambres y cansancio (*Sarti et al., 1992*).

En la cisticercosis subcutánea se puede encontrar nódulos blandos, sin producir dolor e inflamación, algunos pueden desaparecer espontáneamente. Las afectaciones viscerales son poco frecuentes y generalmente asintomáticas. Se puede encontrar cisticerco en pulmón, miocardio, riñón y a nivel hepático (*Sciutto et al., 2000*).

A pesar de la disponibilidad de antihelmínticos eficaces, la enfermedad sigue siendo frecuente en muchas partes del mundo y hay una necesidad de adoptar medidas para el control de la infección (*Lightowers, et al., 2003*).

#### **2.6.B. En el Cerdo**

El cerdo que es el hospedador intermediario y por sus hábitos coprófagos, se llega a infectar al ingerir heces humanas (fecalismo al ras del suelo) contaminadas con huevos y/o proglótidos grávidos. También existen otras formas de infección

como lo son; el consumo de agua no potable, pastos y frutas regadas con aguas de canal o residual (Handali, et al., 2010; Sarti, et al., 1992).

La cisticercosis porcina se presenta con mayor frecuencia en los cerdos criados rústicamente o en traspatio, con respecto a los criados en sistemas de producción tecnificada (NOM-021-SSA2-1994).

La cisticercosis en el cerdo, es poco severa y generalmente asintomático cuando la infestación es baja, sin embargo, pueden presentarse la siguiente sintomatología: rechinar los dientes, respiración dificultosa, rigidez de las extremidades, adelgazamiento, sensibilidad del hocico y lengua, vértigo y hasta convulsiones. (Fleury, et al., 2006; Aluja, et al., 1982) (**Figura 4**).



**Figura 4.** Cisticercosis porcina (en diferentes órganos y tejidos).  
Fotografías de Héctor Díaz, 2014, CU. UNAM.

En el cerdo la fase larvaria se desarrolla principalmente en los músculos altamente irrigados (lengua, maseteros, corazón), presentando la apariencia de una vesícula blanca. Las larvas también pueden localizarse en el cerebro, pero probablemente el cerdo no llega a vivir el suficiente tiempo como para padecer los síntomas característicos de la NCC de los seres humanos (*Fleury A, et al., 2006; Aluja A, et al., 1982*).

Los cerdos adultos suelen ser más resistentes probablemente debido a que se produce una fuerte reacción inmuno-inflamatoria que evita alcanzar la madurez del cisticerco. En los porcinos pueden darse afecciones oculares, pero también alteraciones nerviosas las cuales son raras. Esto es debido a que los cerdos son sacrificados a una edad joven y así se evita el desarrollo completo de los signos (*Handali, et al., 2010*).

## **2.7. DIAGNÓSTICO DE CISTICERCOSIS EN EL CERDO**

### **2.7.1. Inspección de lengua**

Este examen se realiza comúnmente en zonas donde existe la enfermedad y se utiliza para detectar la presencia de cisticercos en los cerdos, previo al sacrificio o comercialización. Esta inspección consiste en la palpación de los nódulos y/o identificación visual de los cisticercos. Para ello, se sujeta el animal, se le introduce un palo en forma transversal en el hocico para mantenerlo abierto y se jala la lengua usando una tela. Los criterios utilizados para el diagnóstico son:

- a) La observación de los cisticercos en la superficie de la lengua
- b) La palpación de la lengua y su base
- c) La observación de rasgos que sugieran que fueron extraídos los cisticercos (práctica muy común por los dueños de los cerdos)

Este método es relativamente sensible (87%) y altamente específico (99%) para detectar la presencia de cisticercos. La ventaja de este examen es que es fácil de aprender y es de gran utilidad como método de evaluación, la desventaja es que es un método muy invasivo y estresante para el animal (González, et al., 1993).

### **2.7.2. Inspección de la canal**

El diagnóstico en canales se realiza haciendo cortes en los músculos con mayor irrigación sanguínea y vísceras del cerdo (pulmón, hígado) en búsqueda de cisticercos. El problema es que, si no se realiza el examen de manera cuidadosa, los cisticercos podrían pasar desapercibidos en la canal, principalmente cuando existen infecciones leves (González et al., 1990).

### **2.7.3. Diagnóstico serológico**

Las pruebas serológicas como la de ELISA, son utilizadas actualmente para el diagnóstico de la cisticercosis porcina, aunque presenta reacciones cruzadas con otros parásitos. Estas pruebas diagnósticas permiten detectar anticuerpos producidos por la exposición del cerdo a la infección por huevos de *T. solium*, (Flisser, et al., 1999, Sciutto, et al. 1998).

El diagnóstico de cisticercosis porcina mediante la detección de antígenos circulantes ha logrado buenos resultados cuando se ha empleado anticuerpos monoclonales dirigidos contra el *Cysticercus bovis*, metacésto de la *Taenia saginata* (Harrison et al., 1989; Brandt et al., 1992). Los anticuerpos monoclonales fueron desarrollados contra los antígenos de secreción - excreción del *Cysticercus bovis*. Estos demostraron ser más sensibles en la detección de la mayoría de los anticuerpos específicos en

comparación con los antígenos somáticos y líquido quístico (Brandt, et al., 2001). Estos anticuerpos monoclonales no presentaron reacción cruzada cuando se enfrentaron a sueros de animales infectados con quiste hidatídico y *Cysticercus tenuicollis* (formas larvarias de *Echinococcus granulosus* y *Taenia hydatigena*, respectivamente) (Harrison et al., 1989). Un ensayo similar fue desarrollado por otros grupos de investigadores con resultados similares (Van Kerekhoven, et al., 1998).

## **2.8. TRATAMIENTO DE LA CISTICERCOSIS**

### **2.8. A. En Humanos**

Durante mucho tiempo el tratamiento de la NCC estuvo dirigido solamente a controlar la sintomatología producida por la enfermedad, utilizando drogas anticonvulsivas, esteroides. Desde inicios de los años 80, se han desarrollado diversos tratamientos específicos encaminados a la muerte del parásito. Las principales drogas cisticidas usadas en humanos en la actualidad son el praziquantel y el albendazole (Del Brutto, et al., 1993; García, et al., 1997).

Los primeros estudios confirmarían la utilidad del praziquantel en todos los casos de NCC, sea como terapéutica única o como tratamiento después de cirugía. La dosis promedio recomendada~~s~~ es de 50 mg diarios por kilogramo de peso corporal durante 15 días, para evitar la exacerbación de la sintomatología que suele producirse. Al inicio del tratamiento, se recomienda que éste se inicie en pacientes hospitalizados y sea acompañado con la administración de dexametasona a una dosis de 4 a 6 mg/día (Martínez, 1984).

En el tratamiento con albendazol se observó que un estudio con 20 pacientes con diagnóstico de NCC quística parenquimatosa demostrada por tomografía axial computarizada (TAC), fueron tratados con 15 mg/Kg/día de albendazol durante 30 días, al término del tratamiento se observó una reducción del 96% de los quistes inicialmente (Ramos, 1991). Actualmente, el tratamiento con albendazol se administra en 3 ciclos de 15mg/Kg. /día durante 8 días y dexametasona como antiinflamatorio (Del Brutto y Sotelo, 1988).

### **2.8.B. En cerdos**

En la búsqueda de un tratamiento eficaz para la cisticercosis porcina, se han probado una serie de drogas parasiticidas, como el flubendazol (Tellez-Giron et al., 1981) que no llegó a mostrar un adecuado efecto cisticida, el praziquantel (Flisser et al., 1990) y albendazol (González, et al., 1995). Estas últimas, tienen el inconveniente de ser aplicadas en múltiples dosis, siendo un inconveniente para su administración en el campo. Finalmente, el oxfendazol ha resultado ser la mejor alternativa económicamente y de tratamiento para esta parasitosis ya que se utiliza a (González et al., 1996) una dosis de 30mg / Kg/día y elimina el 100% de los quistes a las 4 semana post tratamiento, y a las 12 semanas, los quistes se han reabsorbido al 100%, dejando una canal completamente higiénica (González, et al., 1998). Se ha demostrado también que los animales tratados con oxfendazol son resistentes a reinfecciones con cisticercosis (González et al., 2001)

## **2.9. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CISTICERCOSIS PORCINA**

### **2.9.1. Métodos físicos**



La inspección de carne en mataderos había resultado por años una forma efectiva de evitar la diseminación de la cisticercosis, esta estrategia fue empleada para erradicar la enfermedad en varios países hace ya más de 100 años. Lamentablemente en nuestro país no se han alcanzado los mismos resultados debido a la idiosincrasia y bajo desarrollo económico y cultural de los pobladores lo que ha hecho que aquellos criadores que llevan a sus animales al rastro sufran decomiso de los mismos (perdiendo la totalidad del mismo por ausencia de compensación), esto provoca que desvíe su sacrificio a rastros clandestinos o realizando la faena en sus propias viviendas de forma artesanal y comercializando la carne en mercados locales o ambulantes para su venta y distribución (González, 1993).

Existen otras alternativas que se han señalado que pudieran bloquear el ciclo biológico de *T. solium* como la inactivación del *C. cellulosae*, manteniendo la carne porcina infectada, en refrigeración a  $-24^{\circ}$  C,  $-15^{\circ}$  C o  $-5^{\circ}$  C durante 1, 3 o 4 días, a través de su cocción a punto de ebullición, antes de freír en trozos menores de 5 cm. (Quiroz, 1997; Markel y Vogue, 1992; García y Ristol, 1991).

La educación sanitaria constituye también un factor importante para la prevención y control, evitando que se cierre el ciclo de vida de *T. solium* (Sarti, et al., 1997).

### **2.9.2. Métodos biológicos**

Actualmente, se viene investigando la posibilidad de proteger a los cerdos por vacunación, como una alternativa eficiente para el control y/o erradicación del complejo teniasis/cisticercosis (Verástegui, et al., 2000; Lightowlers 1999; González et al., 2001; Evans et al., 1997). No obstante, uno de los principales obstáculos que se presenta para su desarrollo y evaluación de

forma experimental, es la dificultad que se presenta para obtención de huevos y/o proglótidos de *T. solium* que permitan evaluar a los candidatos, en forma paralela, es necesario desarrollar modelos animales de teniasis que permitan la obtención de huevos y/o proglótidos (Flisser y Lightowers, 2001).

Inicialmente se hicieron estudios, donde utilizaron cerdos que fueron inmunizados con antígeno crudo de oncosfera y de metacéstodos. Posteriormente, los cerdos fueron desafiados por inoculación de entre 200 y 2500 por punto de infección, vía intramuscular. El estudio demostró que los antígenos de oncosfera producen una protección total en comparación con los antígenos de metacésto, donde se cose recuperaron cisticercos degenerados y viables, con respecto al grupo control (Verástegui, et al., 2002).

En México se ha evaluado el efecto de antígenos de oncosferas de *T. solium* y antígenos recombinantes de *Taenia ovis*. Los animales fueron desafiados con huevos de *T. solium* y mostraron un nivel de protección del 89 y 93%, respectivamente (Plancarte et al., 1999). Los factores externos que afectan la respuesta a la vacunación son la raza, edad, estado nutricional, adyuvantes, etc. (Huerta, et al., 2000; Nascimento, et al., 1995), es importante considerarlos y cuantificarlos en los estudios de inmunización.

Se han generado diferentes tipos de vacunas que aún no se producen de manera comercial. En México se probó inicialmente una vacuna elaborada a base de extracto crudo de *T. solium* en cerdos de traspatio y se encontró que fue capaz de reducir la prevalencia de la enfermedad de 2.4 % a 0.45% diagnosticado mediante el examen de lengua (Molinari, et al., 1997). Posteriormente se desarrolló la S3Pvac, que es una vacuna que ha demostrado inducir protección tanto en condiciones experimentales como naturales de infección, esta vacuna ha sido desarrollada en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

La vacuna S3Pvac se encuentra constituida por tres péptidos (KETC1, KETC12 y GK1) que han demostrado tener capacidad protectora y estos se encuentran distribuidos extensamente en todas las fases de crecimiento del parásito, un estudio realizado en campo ha mostrado una reducción en la prevalencia de la cisticercosis porcina, que van de 14% a 7% (Huerta et al., 2001).

Estos estudios dejan suficiente información como para pensar que el uso de una vacuna permitiría proteger a los cerdos de la infección contra huevos de *T. solium* permitiendo cortar el ciclo de vida de este parasito y como consecuencia reduciría el nivel de infección, teniasis y cisticercosis, en el hombre.

## **2.10. Vacunación contra la cisticercosis**

Se puede inducir inmunidad en cerdos con antígenos de excreción/ secreción obtenidos en cultivos de oncosferas (Pathak K, et al., 1990), con extractos antigénicos del cisticerco de *T. solium* (Molinari J.L, et al., 1993; Nascimento, et al., 1993) o de *T. crassiceps* (Manoutcharian, et al., 1996; Sciutto, et al., 1995).

Las formas recombinantes empleadas en el caso de *T. ovis*, también, inducen una elevada protección en la cisticercosis porcina (Plancarte et al., 1999). También se han detectado antígenos totales de *T. crassiceps* que pueden correlacionarse con la respuesta inmune protectora. (Sciutto et al., 1995). Recientemente, se han publicado revisiones sobre la vacunación contra la cisticercosis (Flisser et al., 2001; Lightowlers et al., 2000).

El desarrollo de una vacuna útil para el control de la teniasis / cisticercosis no es simple. Al respecto, se ha

informado que la vacunación con altas dosis de antígeno de *T. crassiceps* en cerdos (Sciutto, et al., 1995) y en ratón (Sciutto, et al., 1991) parecen no ser protectoras o incluso podrían facilitar la infección, mientras que bajas dosis inducen la reducción de la carga parasitaria; también, se ha sugerido que el adyuvante empleado podría alterar la eficiencia de la protección en cerdos (Sciutto, et al., 1995).

Asimismo, se ha propuesto que algunos anticuerpos podrían facilitar la infección de *T. solium* en cerdos (Sciutto et al., 1995) y de *T. crassiceps* en ratón (Sciutto et al., 1996) y se ha encontrado que el genotipo puede influenciar la respuesta inmune a la infección por *T. crassiceps* en el ratón (Sciutto et al., 1991) y lo mismo se ha sugerido en la cisticercosis porcina (Sciutto et al., 1995).

Por las razones anteriormente mencionadas es indispensable buscar alternativas para la prevención y control de la cisticercosis especialmente en los cerdos que son criados de forma rustica

Con los avances que se tienen hoy en día como la biología molecular la vacuna S3Pvac ha ido cada vez más evolucionando, se ha comprobado en estudio previos de su efectividad, ahora se busca conocer el comportamiento al ser aplicada por vía oral; es importante el poder determinar que cual es la dosis que mejor induce niveles óptimos de anticuerpos contra la infección y sobre todo que no pierda sus propiedades inmunogenicas al momento de pasar por todo el proceso digestivo, y lograr proteger al cerdo con la finalidad de interrumpir el ciclo de vida y eventualmente disminuir la probabilidad de infectarse tanto el cerdo como el humano.

La vacuna S3Pvac papaya oral se encuentra expresada en callos transgénicos embriogénicos de papaya, la cual demostró inducir altos niveles de protección en contra de la cisticercosis

experimental murina, administrada por vía oral. Para poder establecer las bases necesarias para comenzar su evaluación en contra de la cisticercosis porcina en condiciones naturales de transmisión y de tratamiento, es necesario conocer la respuesta inmune que genera y a que dosis administrándola oralmente en cerdos.

Este proyecto pretende determinar la dosis optima de vacunación en los cerdos y evaluar la respuesta inmune humoral y celular inducida específicamente con el propósito final de disponer de una nueva vacuna oral, de bajo costo, accesible y de fácil administración.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. SITIOS EXPERIMENTALES**

Las fases de experimentación se emplearon tanto para lechones como ratones. Para los experimentos realizados en ratones, estos se llevaron a cabo en el Bioterio del IIB mientras que para los cerdos los diferentes experimentos se realizaron en varias etapas y sitios con diferentes condiciones de hacinamiento, mismas que a continuación se describen.

##### **3.1.A. Cerdos**

La fase experimental con los lechones se realizó durante siete meses, de junio a diciembre del 2014, en un predio ubicado a las afueras de la delegación Tláhuac, en la Ciudad de México. 19°29'51'' 75 "N, y una longitud de 98°97'86'' 36 "O, con una temperatura promedio anual de 12 a 18°C y una precipitación pluvial anual de 600 - 800 mm con un clima templado, subhúmedo, con lluvias en verano (67%), se eligió este sitio ya que se apegaba a

las condiciones que se encuentran en cerdos en traspatio.

Como apreciar en lugar no se con las más medidas de



en las los criados

**Figura 5.**

se puede este cumplen mínimas

bioseguridad e higiene que debe cubrir una explotación porcina, los cerdos son criados de manera rústica, en corrales o jaulas improvisadas, elaboradas con materiales de desecho como madera, alambre, plástico, fierro, etc. No son instalaciones tecnificadas, la alimentación consta de desperdicios orgánicos (vegetales, fruta, pan, tortillas) y el agua que se les suministra no es potable. Además de que no cuentan con sistema de drenaje y alcantarillado, aunado a esta condición insalubre, se puede apreciar que no hay limpieza en las porquerizas, los lechones deambulan libremente entre sus heces y los desperdicios de comida con los mismos que son alimentados. **Figura.6.**

**Figura 5.** Sitio de experimentación

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Predio "El Edén", Tlaltenco.CD.México



**Figura 6.**  
criados de  
rústica  
Fotografía  
Díaz, 2014,  
Edén",

Lechones  
forma

de Héctor  
Predio "El

Tlaltenco.CD.México

### 3.1.B. Ratones

El experimento con ratones se realizó en las instalaciones de la unidad de modelos biológicos ubicada en la sede del circuito Escolar del Bioterio de la Antigua sede del Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Los ratones se encuentran en ambiente controlado de temperatura e iluminación, llevando una dieta de alimento balanceado en forma de comprimido y el agua suministrada es potable, colocaron 6 ratones por caja como máximo. **Figura 7.**



**Figura 7.** Grupo de ratones experimentales  
Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria

## **3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **3.2. A. Lechones**

Para el experimento se utilizó una población de 40 lechones entre machos y hembras (15 machos castrados y 25 hembras), criados bajo condiciones de traspatio, con un rango de edad de entre 2 y 4 meses de edad. **Figura 8.**





**Figura 8.** Distribución e identificación de los lechones por grupos  
Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Predio "El Edén", Tlaltenco.CD.México

Los cerdos experimentales se distribuyeron de manera aleatoria en cuatro grupos estuvo formado por 10 individuos y cada grupo se evaluó con las siguientes dosis, (1 $\mu$ g, 10 $\mu$ g, 100  $\mu$ g y solución salina, respectivamente), cada cerdo fue aretado y marcado de forma consecutiva del 1 al 40, para su identificación y registro.

### **3.2.B. Ratones**

Se realizó un primer experimento y su repetición, en los cuales se utilizaron 96 ratones hembras BALB/cAnN, de seis semanas de edad que fueron distribuidas al azar en ocho grupos colocando cuatro ratones por cada caja, Los grupos se formaron de manera aleatoria, con el siguiente orden. Cuadro 2, **Figura 9.**



**Figura 9. Grupos de ratones**

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria

**Cuadro 2.** Distribución de los ratones por grupos.

Forma de administración	Sonda	Pellet
Inmunización con:	Grupos	
Solución salina	G1	G4
Vacuna (S3PVa-papaya)	G2	G5
Fruto	G3	G6

### 3.3. PREPARACIÓN DE LOS PELLETS

Para la elaboración de los pellets, se realizaron una serie de pruebas de tamaño y palatabilidad que fueron evaluadas en cerdos de diferentes edades y condiciones de crianza, así como en ratones. Se elaboraron dos tipos de pellet:

1. Pellet con saborizantes: Harina de maíz, agua, aceite y saborizantes artificiales de anís y nuez.

2. Pellet de atún: Mezcla de pan molido y atún en aceite enlatado.

En cuanto al tamaño y forma de los pellets, en los lechones se utilizaron de forma rectangular con un peso de 5 gr, **Figura 10.** y en ratones de forma circular con un peso de 1 gr.



**Figura 10..** Pellets en forma de barra para-cerdos  
Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria

### **3.4. ENTRENAMIENTO**

#### **3.4. A. Lechones**

El entrenamiento para que los cerdos ingirieran rápidamente la vacuna constó en ofrecerles los dos tipos de pellet puro a cada cerdo, en un principio se dejaba sobre el suelo para que el lechón lo ingiriera cuando se sintiera seguro; conforme se fueron acostumbrando a la interacción en el corral y a perder el miedo,

los lechones consumían mejor el pellet a base de atún, lo que permitió poderles dar el pellet en la boca, llevando el registro del consumo y datos de cada animal.

Para lograr que los lechones consumieran el pellet sin problema, el entrenamiento se realizó un mes antes del inicio del experimento. Figura 11. Por las condiciones en las que se encuentran los cerdos, no reciben ningún tipo de manejo zootécnico.



**Figura 11.** Adiestramiento de los lechones.

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Predio "El Edén", Tlaltenco.CD.México

### **3.4.B. Ratones**

Para el entrenamiento se utilizaron tres ratones machos BALB/cAnN de 5 meses (Se eligieron de esta edad porque su sistema inmune no estaba del todo maduro), estos fueron colocados en una

tina de aluminio para contenerlos por una semana, los pellets se les administraban solo de noche debido a que la mayor actividad en los ratones es diurna. Para ello durante la noche se les retiraba el alimento comercial y se sustituía por los pellets, de manera alternada, y de esta manera se pudieron probar las diferentes combinaciones (atún, anís, nuez), posteriormente también se probó la combinación de pan y atún, mezcla que también fue aceptada por los ratones. Figura.12.



**Figura 12.** Pruebas de palatabilidad en ratones.

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Rayas #32. CD. México

### **3.5. INMUNIZACIÓN**

Para establecer las dosis de las inmunizaciones en ambas especies, se consideraron dosis utilizadas de manera oral en ratón y conejo, de esta manera se plantearon los tratamientos que se utilizaron para estos experimentos en rangos menores y mayores de los que ya se conocían previamente (Fuentes, et al., 2011, Figueroa, et al., 2014)

### 3.5. A. Lechones

Se crearon cuatro grupos, tres de ellos serían inmunizados a diferentes dosis de vacuna y uno solo grupo sería control, las dosis que se aplicaron estaban constituidas en una tercera parte de cada uno de los extractos de las clonas transgénicas que expresan cada uno de los péptidos recombinantes (KETc1, KETc 7, KETc12) que conforman la vacuna S3Pvac papaya.

Se realizaron tres inmunizaciones a intervalos de 15 días por vía oral (pellet). Los pellets tenían un peso de 5 gr (de forma rectangular), los cuales contenían las dosis de 1, 10 y 100 µg de la vacuna completa y cada dosis fue administrada en 200µl de solución salina como vehículo. Cuadro 3.

**Cuadro.3.** Inmunización de cerdos

<b>Grupos inmunizados con 200 µl de:</b>
Solución salina (Control)
Dosis de vacuna (extracto soluble de S3Pvac-papaya)
1 µg
10 µg
100 µg

Los lechones estaban separados en cuatros grupos, previamente identificados por el número de arete (del 1 al 40), fueron aislados, para ser inmunizados uno por uno, para asegurar que cada lechón recibiera la dosis correspondiente, la vacunación se realizó por las mañanas, momentos antes de que fuesen alimentados, se optó por que los lechones se mantendrían en ayunas, con la

finalidad de asegurar que cada lechón ingiriera más rápido su pellet, de manera más segura, aunado a esto, los lechones ya estaba familiarizados con el proceso de separación y la ingesta de los pellets, debido al entrenamiento que se les había dado anteriormente, esto contribuyó a que el proceso fuera más ágil y con el menor estrés posible. **Figuras 13 y 14.**



**Figura 13.** Grupo de lechones

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Predio "El Edén", Tlaltenco.CD.México



**Figura 14.** Cerdo al momento de ingerir el pellet.

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Predio "El Edén", Tlaltenco.CD.México

### 3.5.B. Ratón

Para los experimentos que se realizaron en ratones, se hizo una primera prueba con su repetición, para ambas versiones de la administración de la vacuna se plantearon dos grupos con tres variables cada uno, mismos que se describen en el **Cuadro 4**.

Con los grupos de fueron inmunizados con el extracto soluble de papaya y la vacuna (S3-Pvac), se utilizó una dosis de 1.7 constituido en un volumen final de 200µl de solución salina como vehículo y, para el grupo control solo se le administro el mismo volumen, pero solo de solución salina fisiológica Para el grupo de pellet se le administraron 50 µl de solución salina para el grupo control, y para los grupos de fruto y vacuna se utilizó la dosis de 1.7 µg de extracto soluble de papaya y de vacuna completa en 50 µl de solución salina como vehículo.

**Cuadro. 4.** Grupos de ratones experimentales

Forma de Administración/ Grupo	Sonda (200 µl)	Pellet (50 µl en 1 gr)
Solución salina (Control)	✓	✓
Extracto soluble (1.7 µg /dosis):		
Vacuna S3Pvac-papaya	✓	✓
Fruto	✓	✓

Los ratones fueron inmunizados con pellet, al día cero y al día diez, previamente, los ratones eran separados en cajas individuales, durante la noche, retirando el alimento comercial y



se les dejaba el pellet, al día siguiente eran devueltos a sus respectivas cajas. **Figura 15.**



**Figura.15.** Ratones aislados previa inmunización.

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria

### **3.6. TOMA DE MUESTRAS**

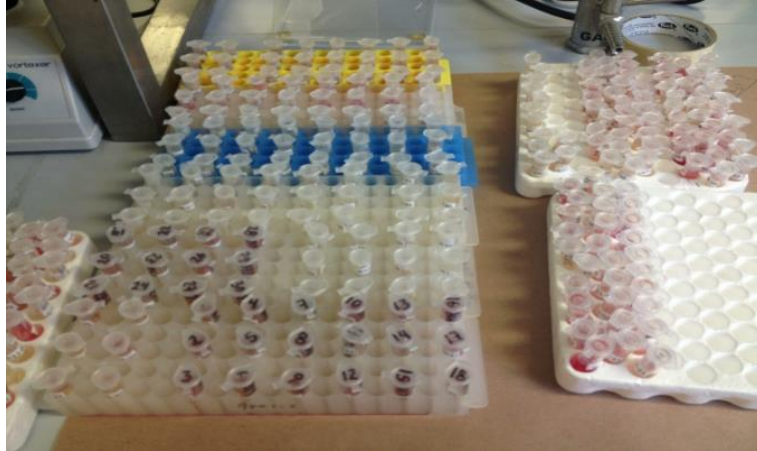
#### **3.6.A. Lechones**

Se tomó una muestra de 5 y 8 ml de sangre periférica por cerdo proveniente de la arteria yugular utilizando el Sistema Sarsted con tubos vacutainer con EDTA como anticoagulante al día cero (antes de la primera inmunización) y 10 días después de la tercera inmunización.

Las muestras fueron centrifugadas a 1, 200 rpm (revoluciones por minuto), se colectó el plasma y congeló a  $-70^{\circ}\text{C}$  para su conservación **Figura 16.**

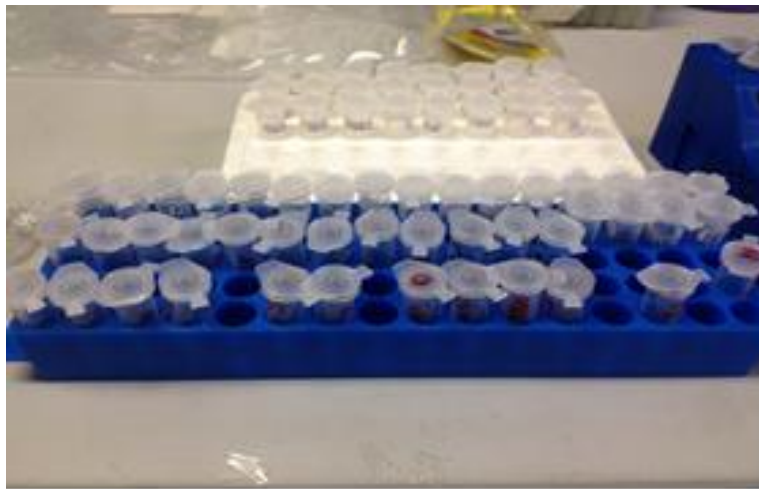
#### **3.6. B. Ratones**

Los ratones fueron anestesiados con sevorane previo a la toma de la muestra de sangre, al día cero y día 20 post inmunización, por vía retro ocular utilizando un capilar. Las muestras fueron centrifugadas a 1, 200 rpm por 10 minutos, se colecto suero y congelo a -70 °C para su conservación. **Figura 17.**



**Figura 16.** Obtención de plasmas de cerdo.

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria



**Figura. 17.** Obtención de sueros de ratón

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria

### **3.6. B.1. Infección**

Todos los ratones fueron infectados, diez días después de la segunda inmunización se inoculando 20 cisticercos por ratón por vía intraperitoneal. 30 días después de la infección fueron humanitariamente sacrificados y se cuantifico la carga parasitaria en cada uno de ellos. **Figura 18.**



**Figura. 18.** Conteo de carga parasitaria.

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria

### **3.7. PROLIFERACIÓN LINFOCITARIA**

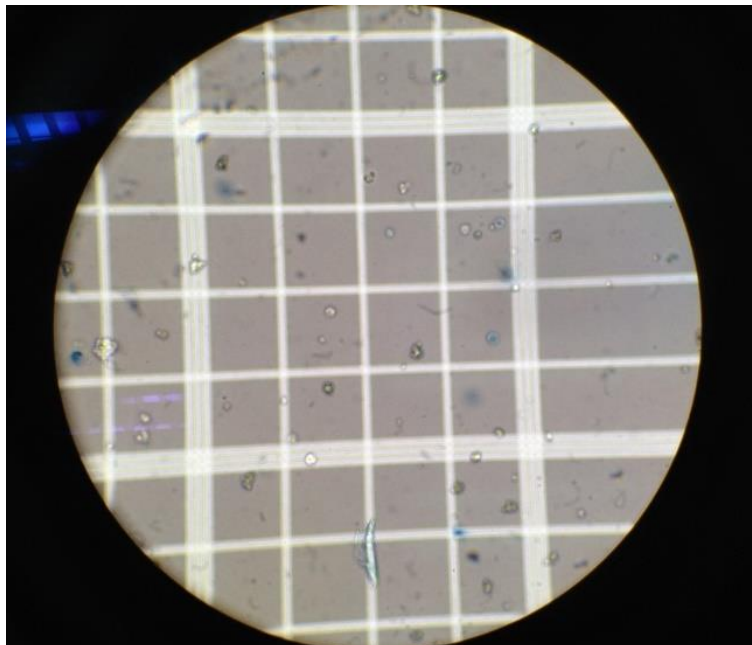
#### **3.7.1. Obtención células mononucleares.**

A los cerdos se les tomo una muestra de 5 y 8 ml de sangre utilizando tubos con anticoagulante (**Figura 19**)

- 1). Las muestras fueron centrifugadas a 1, 200 rpm por 10 minutos, se extrajo el plasma y fue colocado en tubos eppendorf de 500µl; A cada ml de plasma se le adicionó 1 ml de medio RPMI 1640 no suplementado
- 2). Agrega al gradiente de Ficoll (aproximadamente 10 ml,).
- 3). Se centrifugó a 2,500 rpm durante 30 min a 4°C,
- 4). Se recuperó la interface, que contiene las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) y se le adicionaron 4 ml de RPMI sin suplementar.
- 5). Se centrifugaron a 1,500 rpm por 7 minutos a 4°C, posteriormente se les descarto el sobrenadante y el pellet se resuspendió con 1 a 2 ml de buffer de lisis de eritrocitos.
- 6). Se incubó por 5 minutos en hielo agitándolo constantemente.
- 7). Se le adicionaron 3 ml de RPMI sin suplementar y se centrifugaron a 1,500 rpm por 7 min a 4°C, se repitió dos veces más.
- 8). Se resuspendió en 2 ml de RPMI suplementado y se contaron las células haciendo una dilución 1:1 en azul de tripano (20 µl de colorante +20 µl de células)
- 9). Se llevó a cabo el conteo de células y se ajustó a una concentración de  $10 \times 10^6$  células por 1 ml. **Figura 20.**



**Figura. 19.** Procesamiento de muestras para proliferación linfocitaria.  
Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria



**Figura 20.** Conteo de células en cámara de Newbouer

### **3.7.2. Tinción con CFSE**

1). Se preparó una solución de Carboxifluorosceín Diacetato Succinimidil Ester, (CFSE) a una concentración de 5 mM. Posteriormente, se preparó en condiciones de esterilidad, 1 ml de PBS a una dilución 1:100 se cubrió con papel aluminio para protegerlo de la luz ya que es fotosensible.

2). Se adicionaron 10  $\mu$ l de CFSE a  $10 \times 10^6$  PMBCs, re suspendidas en 90 $\mu$ l de RPMI suplementado

3). Se incubaron a 37°C durante 10 minutos en agitación constante.

4). Se lavaron por centrifugación dos veces con 2 ml de RPMI suplementado frío a 1, 500 rpm por 7 minutos a 4°C.

5) Las células se ajustaron a  $1 \times 10^6$  PBMCs en 500 $\mu$ l de RPMI suplementado, posteriormente se adiciono 1 ml de medio RPMI suplementado. Posteriormente, prepararon las siguientes muestras: Concanavalina A (ConA) (5 $\mu$ g/ml), medio RPMI suplementado, 0.6 y 6  $\mu$ g S3Pvac -papaya.

6). Las muestras se incubaron en placas de 96 pozo, a 37° C, por 72 hrs en una atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.

### **3.7.3. Obtención de células para Citometría**

1). Se colocaron  $5 \times 10^6$  PMBCs por ml de RPMI suplementado, en placas de 24 pozos, a cada pozo adiciono 1 ml de células y 1 ml de

tratamiento correspondiente, obteniendo un volumen final de 2ml por pozo.

2). Se incubaron por 48 horas a 37°C en una atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.

3). La placa se centrifugo a 1,500 rpm por 5 minutos a 4°C, se recuperó 1 ml del sobrenadante y fue almacenado a -70°C.

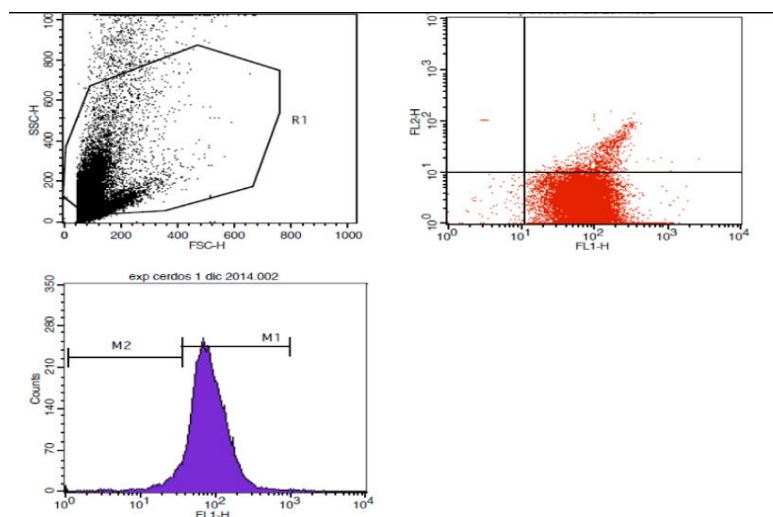
4.) Las células fueron resuspendidas en el sobrenadante restante y centrifugadas a 1,500 rpm por 5 minutos a 4°C, se descartó el sobrenadante y al pellet de células se le adicionaron 100µl de trizol y almacenaron a -70°C.

#### 3.7.4. Citometría de flujo

1). Las células PBMC estimuladas contenidas en cada pozo fueron resuspendidas cuidadosamente y se transfirieron a tubos para FACS.

2). Se centrifugaron a 1,500 rpm por 10 minutos a 4°C, se descartó el sobrenadante y las células se re suspendieron en 200 µl de PBS.

3). Antes de leerlas en el FACS Scan, se le agregó un poco de solución FACS Flow. Figura 21



**Figura 21.** Plot de proliferación linfocitaria por Citometría de flujo.

Fotografía de Héctor Díaz, 2014, Bioterio IIB. CD Universitaria

### **3.7.5. ELISA**

#### **4.7.5. A. Lechones**

1) Se sensibilizaron placas de ELISA de 93 pozos con 100  $\mu$ l/pozo de la vacuna completa S3Pvac-papaya a una concentración de 1  $\mu$ g/pozo en buffer de carbonatos pH=9.6. Se incubo durante toda la noche a 4°C.

2) Se lavó 3 veces la placa con 250  $\mu$ l/pozo de PBS-Tween 0.3%

3) Se bloqueó con 200 $\mu$ l/pozo de PBS-BSA 1% Tween 0.3% y se incubo a 37°C durante 1 hr.

4) Se lavó como en la etapa 2.

5) Incubar con 100 $\mu$ l/pozo del plasma de los cerdos a una dilución 1:100 en PBS-BSA1% Tween 0.3% y se incubo durante 30 minutos a 37°C. Al término, se lavó como en la etapa 2

6) Posteriormente se adiciona el conjugado anti-Ig G de cerdo HRP (No. AAI41P, Serotec). una dilución de 1:12,000 en PBS-BSA1%-Tween 0.3% y se incubo por 30 minutos a 37°C. Al término, se lavó como en la etapa 2

7) La reacción se reveló por adición de 100  $\mu$ l/pozo del sustrato Tetrametlbencidina (TMB) (Invitrogen) se incubo en hielo durante 5 minutos, cubierta de la luz. La reacción se detuvo por adición de 100  $\mu$ l/pozo de ácido sulfúrico 0.2M (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

8) Se tomó la lectura de densidad óptica a 450 nm.





## **IV. RESULTADOS**

Los experimentos aquí descritos fueron aprobados por el Subcomité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales Experimentales (SICUAE) para su realización en base a los lineamientos de ética y bienestar animal que marcan las normas para el cuidado y uso de animales en experimentación con el número de aprobación: MC-2014-45.

Los resultados obtenidos en los diferentes experimentos realizados en ambas especies, se describen a continuación.

### **4.1. Lechones**

Se vacunaron un total de 39 lechones, machos (castrados) y hembras, con un rango de edad entre los 2 y 4 meses, de los cuales solo murió un animal del grupo control, posterior a la primera toma de muestra, el resto de éstos llegó hasta la finalización del experimento (día 45)

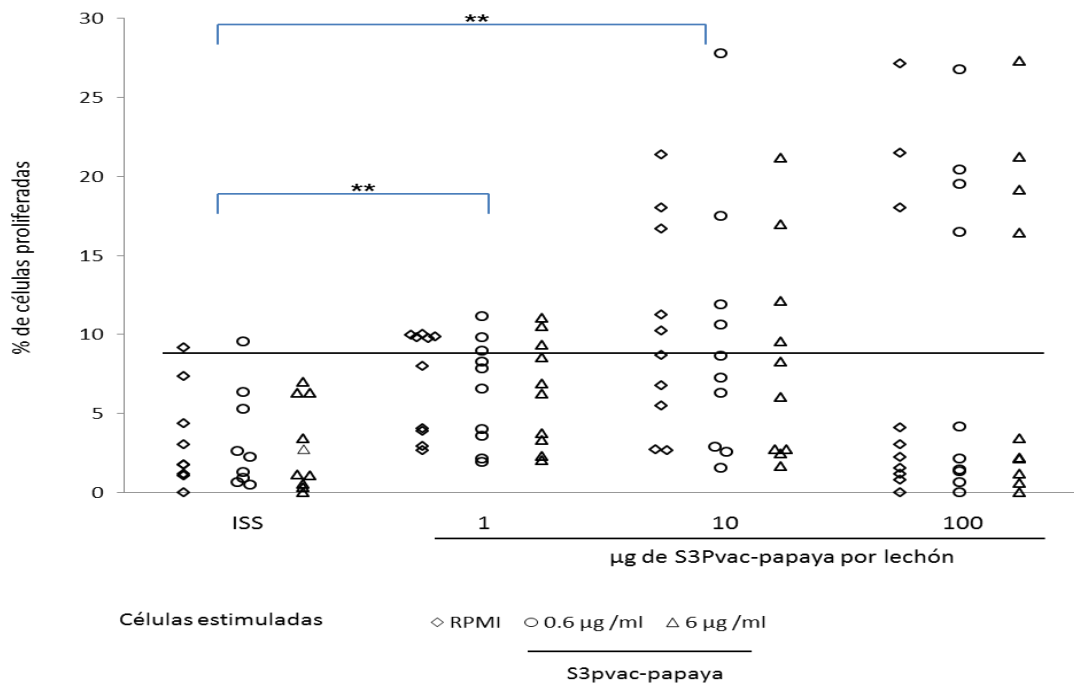
#### **4.1.A. Pellets**

Se realizaron varias pruebas para encontrar el sabor, olor, consistencia, forma y tamaño del pellet, con la finalidad de que al ser ofrecido al cerdo este lo pudiera aceptar e ingerir de una forma rápida y fácil, se demostró que el cerdo tuvo mayor afinidad por el pellet constituido por pan molido y atún, combinación que facilitó su ingestión. Las pruebas de tamaños y volúmenes, mostraron que la mejor presentación fue en forma rectangular para el tiempo de ser vacunado se utilizó en forma esférica con un peso de 5gr, volumen y tamaño ideal para inocular la cantidad de vacuna necesaria para la inmunización.

#### 4.1.B. Respuesta inmune celular

La respuesta de proliferación celular de los lechones inmunizados por vía oral con 1µg y 10 µg se incrementó de forma significativa, con respecto a los animales control que solo recibieron solución salina ( $P < 0,01$ ). No se encontraron diferencias entre el grupo control y los grupos tratados in vitro, con el inmunógeno ( $P > 0,05$ ) Ver Cuadro 5.

**Cuadro 5.** Respuesta inmune celular.

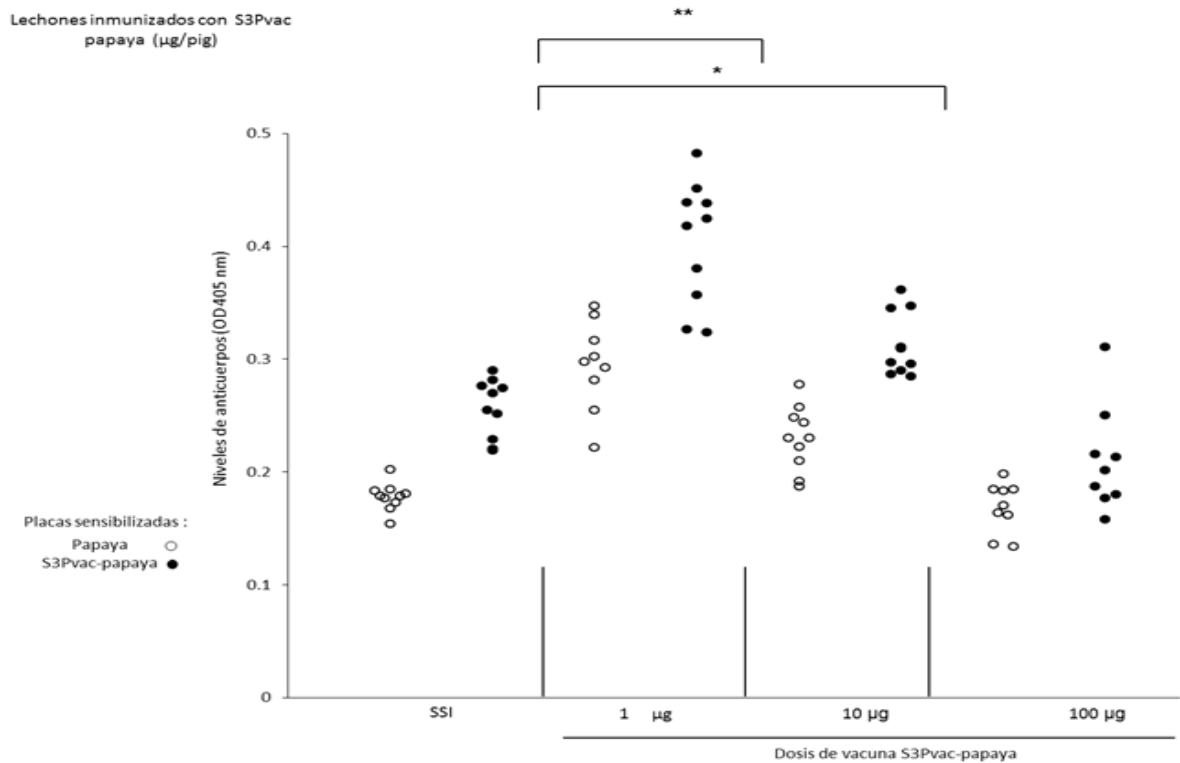


#### 4.1.C Respuesta inmune humoral

Los niveles de anticuerpos detectados por la prueba de ELISA en los sueros de los lechones vacunados vía oral con el pellet y la vacuna *S3Pvac-papaya* a las concentraciones de 1µg y 10 µg por dosis, mostraron altos niveles de anticuerpos en los lechones

vacunados con respecto al grupo control y el vacunado con 100  $\mu\text{g}/\text{dosis}$  ( $P < 0,05$ ) **Ver Cuadro 6.**

**Cuadro 6.** Respuesta inmune humoral.



#### 4.2. Ratones.

Se utilizaron un total de 96 hembras BALB/cAnN de 4 a 5 semanas de edad, para un primer ensayo de inmunización con su repetición y posteriormente todos fueron desafiados con 20 cisticercos de cisticercos de *T. crassiceps*. El experimento tuvo una duración de 60 días. cuando los ratones fueron sacrificados y se determinó la carga parasitaria en cada ratón.

##### 4.2.A. Pellets

Se hicieron pruebas de palatabilidad, tamaño, consistencia, inicialmente se utilizaron tres ratones machos sanos del bioterio que estaba fuera de protocolo, estos fueron aislado en un contenedor, fuera del bioterio, con la finalidad de observar la aceptación del pellet, se hicieron varias comparaciones entre el alimento comercial con el que eran alimentados a diario y con los pellets con sabor a nuez, y anís, observándose que su preferencia fue en este mismo orden ante tal situación, se decidió restringir el alimento comercial y solo dar los pellets saborizados, se observó que los ratones tardaban demasiado tiempo en comerse los pellets y se optó por alimentarlos de noche, sin embargo, el consumo no fue lo suficientemente aceptable y se sustituyeron por los pellets que se administraron a los lechones, constituidos de pan molido y atún, observándose una aceptación ya que el consumo era más eficiente, Por el volumen de la vacuna fue necesario preparar pellet de 1gr

#### **4.2.B. Conteo de carga parasitaria.**

El conteo de la carga parasitaria se realizó 30 días después de la infección los resultados mostraron que no había una diferencia estadísticamente significativa entre administración de la vacuna con sondo o en forma de pellet y el efecto de la vacuna S3Pvac-papaya con respecto al extracto soluble de la papaya (fruto) **Tabla 7.**

**Tabla 7.** Efecto la administración con sonda vs en forma de pellet

Grupo	Número de cisticercos por ratón			
	Sonda	X ± STD	Pellet	X ± STD
Control	0,0,8,7,2,5,12,10	5.5 ± 4.5 <sup>a</sup>	0,0,8,14,10,24,8,35	12.3± 11.9 <sup>a</sup>
Inmunizado con:				
Fruto	0,0,0,6,51,12,0,0,	8.8 ± 17.6 <sup>a</sup>	0,0,0,0,0,0,0,0,	0 <sup>b</sup>
S3Pvac-papaya	0,0,0,0,0,0,0,0	0 <sup>b</sup>	0,0,0,0,0,0,0,0,	0 <sup>b</sup>

Se realizó un segundo ensayo (repetición) con la finalidad de confirmar la capacidad y propiedades inmunogénicas de la vacuna, por ser administrada vía oral, , ya que aplicándola por medio de sonda se asegura la administración directa de la vacuna, en comparación con el pellet, ya que el ratón pudiese desbaratar el pellet y perderse parte de la dosis de la vacuna, afectando la concentración de vacuna administrada/dosis. Los resultados mostraron que cada ratón fue inmunizado con la dosis correspondiente y que no existe diferencia estadísticamente significativa entre la vía y el biológico administrado. **Tabla 8.**

**Tabla 8.** Efecto pellet vs sonda (repetición)

Grupo	Número de cisticercos por ratón			
	Sonda	X ± STD	Pellet	X ± STD
Control	0,0,6,9,8,0,6,10	4.8±4.2	1,4,2,4,2,3,0,0,	2±1.6
Inmunizado con:				
Fruto	10,0,0,0,0,0,0,0,	1.2 ± 3.5	0,0,0,0,0,0,0,0,	0
S3Pvac-papaya	0,0,0,0,0,0,0,13,	1.6 ± 4.5	0,0,4,0,0,0,0,2,	0.75± 1.4

## V. DISCUSION

El objetivo de este trabajo fue determinar la dosis inmunogénica de la vacuna S3Pvac-papaya que fuera capaz de producir una respuesta inmune en los lechones criados en traspatio.

### 5.1. Lechones

Para la realización de este trabajo de investigación se buscaron localidades que presentaran condiciones de crianza de cerdos de traspatio en una condición nutricional deficiente, las camadas no eran uniformes en peso, condición corporal, tamaño, por estos motivos rango utilizado fue de 2 a 4 meses para poder tener un N apta que nos permitiera desarrollar el ensayo ya que entre los mismos lechones no se podría distinguir la edad por las condiciones en que se encontraba aunado a esto no se tenían registro de ningún tipo como las fechas de nacimiento, número de lechones por camada, razas.

Estos lechones solo fueron inmunizados para esta etapa experimental ya que el objetivo antes mencionado era encontrar a que dosis obtendría una buena respuesta inmune (*Fuentes et al; 2011*).

Conociendo los hábitos alimenticios de los cerdos, se sabe que son omnívoros, para poder formular un medio que funcionara como vehículo de la vacuna y que no perdiera sus propiedades, se tomó como referencia lo descrito por *Figueroa et al; (2014)*, cambiando un poco los ingredientes y la forma de presentación del pellet, para este se utilizó solo pan molido el atún completo (incluido el aceite), con la que se elaboraron los pellets tanto para la vacuna como los ensayos.

Para poder lograr que los lechones consumieran el pellet sin problema, fue necesario hacer un entrenamiento previo para que se familiarizaran con la alimentación en forma de pellet, El entrenamiento fue más extenso debido a que los lechones no tenían ningún tipo de manejo zootécnico, y esto causaba que lo lechones tuvieran un comportamiento nervioso, asustadizo, huraños, inicialmente se probaron pellet a base de harina, aceite vegetal y saborizante artificial de nuez y anís, sabores que son agradables al cerdo, pero con esta presentación era más tardado que el lechón lo ingiriera, se hizo también la prueba con cerdos de granja tecnificada y con los mismos lechones del experimento durante el entrenamiento previo a la vacunación, pero no tuvieron mucha aceptación por los lechones y se optó utilizar la formulación previamente descrita por *Figuroa et al.* (2014),

En trabajos anteriores donde se ha utilizado la vacuna S3Pvac tanto en campo como *in vitro*, se ha demostrado que es capaz inducir una respuesta inmune, se ha probado en diferentes especies, en sus diferentes presentaciones y vías de administración, para este caso se utilizó la versión expresada en callos transgénicos embriogénicos de papaya (*S3Pvac-papaya*) y fue administrada por vía oral (*Hernández et al., 2007*), donde los antígenos conservan su capacidad inmunogénica ya que es capaz de producir una respuesta inmune específica en el cerdo.

Para determinación de las dosis a utilizar se tomaron en cuenta reportes (*Figuroa, et al., 2014; Fuentes, et al., 2011; Huerta, et al., 2001; Morales, et al., 2008*) en los que ha sido evaluadas diferentes dosis y vías de administración de la vacuna S3Pvac-papaya, estableciendo una evaluación de dosis en el rango de 1 a 100  $\mu\text{g}$ , que consideraba un incremento diez veces mayor

Se cree que, a mayor dosis de vacuna, es menor la protección, por ellos se planteó establecer los rangos en cantidades pequeñas



y encontrar en que parámetro se genera una mejor respuesta, en base a los resultados obtenidos se puede decir la dosis de 1 y 10 µg es capaz de inducir una buena respuesta inmune, por lo que se podría pensar en una segunda etapa donde se evalué esta misma dosis con lechones que podrían ser infectados de forma experimental o que cursen con la infección natural y evaluar la efectividad de la vacuna antes, durante después de la infección, observarlos a la necropsia y medir la respuesta inmune humoral y celular inducida

## **5.2. Ratones.**

Los experimentos de ratones se hicieron en paralelo al de los lechones, con la finalidad de evaluar las mismas condiciones de vacunación, al ser aplicadas por medio de los pellets, se pudo demostrar que tanto los cerdos como los ratones tienen la misma aceptación por la fórmula a base de pan molido y atún, se observó que no existen diferencias en la vacunación utilizando el extracto soluble de la papaya (fruto) y la vacuna S3Pvac-papaya, ambas demostraron inducir protección en los ratones infectados experimentalmente.

Un que se ha demostrado la eficiencia de la vacuna S3Pvac también en ratones y se ha demostrado que reduce alrededor del 87% el número de cisticercos datos reportados por *Manoutcharian, et al;* (2001 y 2004). Al momento del conteo de la carga parasitaria, se observó que en algunos ratones, los cisticercos contabilizados excedían a los que fueron inoculados, (20 cisticercos por ratón), muchos de estos no crecieron quedando en un tamaño muy pequeño, se podría creer que al igual que la vacuna en la versión sintética puede causar daños a los cisticercos como lo describe *Huerta, et al;* (2001), para el caso de los ratones los cisticercos que lograron establecerse en el peritoneo, pudieron quedar atrofiados o dañados a se podría plantear que en trabajos futuros se pueda

evaluar el efecto de la vacuna en este tipo de cisticercos que llegan a tener cierta resistencia.

## VI. CONCLUSIONES

Los péptidos vacúnales expresados en callos transgénicos embriogénicos de papaya, que componen a la vacuna S3Pvac papaya las dosis de 1 µg, 10 µg y 100 µg. evaluada en lechones de traspatio inducen una respuesta inmune protectora, siendo las dosis 1 y 10 µg las que demostraron inducir una mejor respuesta inmune. Es importante poder definir estas dosis en estudio futuros cual es más efectiva y si es necesaria una revacunación y en que intervalos de tiempo hay que estar vacunándolos con la finalidad de mantener o aumentar la capacidad protectora de la vacuna ante la infección.

Con la información obtenida se podría continuar realizando estudios adicionales, donde el tamaño de los grupos de cerdos sea más grande y puedan ser desafiados con huevos de *T. solium* en condiciones naturales de la enfermedad, determinar la viabilidad de los parásitos instalados y estados de desarrollo

Con estas aportaciones se podría disminuir la infección en los cerdos y por consecuencia en el humano sobre todo en las zonas geográficas de alta prevalencia, reduciendo su repercusión económica y de salud pública. Es importante seguir investigando y evaluando mecanismos alternativos de control y/o erradicación de esta enfermedad. La vacunación oral representa una alternativa importante para proteger al hospedero intermediario que es el cerdo para evitar la infección también en el hombre, quizá aún falta para que la vacuna se comercialice, pero cada vez se avanza más en descubrir diferentes métodos que nos lleven a encontrar una forma de erradicar el complejo teniasis/cisticercosis.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

### A

1. **Acha P y B Szyfres.** 1992. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da. ed. p763-773. Publicación Científica N° 503. OPS.
2. **Aluja AS y Larralde C.** 2006 Cisticercosis: Guía para profesionales de la Salud. Fondo de Cultura Económica. México.Pp.41-86.
3. **Aluja AS 1982.** Frequency of porcine cysticercosis in Mexico, pp 53-62 en A. Flisser, K. Willms, J.P. Laclette, C. Larralde, C. Ridaura, and F. Beltrán (ed.), Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives. Academic Press. New York, U.S.A.
4. **Aluja AS, Villalobos NM, Nava G, Rodarte LF, Fragoso G, Sciutto E, et al.** 2000. Therapeutic capacity of the synthetic peptide-based vaccine against *Taenia solium* cysticercosis in pigs. Vaccine. 5; 23:4062-4069.
5. **Ambrosio J, Landa A, M.T. Merchant y JP. Laclette.** 1994. Protein uptake by cysticerci of *Taenia crassiceps*. Arch. Med. Res. 25: 325-330.
6. **Anderson María del Rosario.** 2005. Enfermedades de origen alimentario: a su prevención. Díaz de Santos. España. Pág. 128-132

### B

7. **Betancourt MA, De Aluja AS, Sciutto E, Hernández M, Bobes RJ, Rosas G, et al.** 2012. Effective protection induced by three

different versions of the porcine S3Pvac anticysticercosis vaccine against rabbit experimental *Taenia pisiformis* cysticercosis. *Vaccine*; 30: 2760-7.

8. **Brandt J, S. Geerts y P. Dorny.** 2001. Desarrollo de la prueba ELISA para la detección de antígenos en circulación de la cisticercosis en base a dos anticuerpos monoclonales. En Cuadernos del ISIP, Rev Fac. Med Vet y Zoot. Univ Central del Ecuador. Benitez W. Vol II (1). p. 19-21. Memorias del International Work Shop: El complejo Teniasis - Cisticercosis.
9. **Brandt J, S. Geerts, R. de Deken, F. Ceulemans, L. Brijs y N. Falla et al.** A monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating excretory-secretory antigens in *Taenia saginata* cysticercosis. *Int J Parasitol*; 1992. 22(4): 471-7.

## C

10. **Castellanos Sánchez VO, Sánchez Rodríguez, S de Aluja A, Gómez E Conde, Hernández Jáuregui P et al.** 2007. Temas Selectos de Microbiología. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. Teniasis/cisticercosis; mecanismos de evasión a la respuesta inmune, 2007. pp. 269-288.
11. **Castellanos Sánchez VO, Sánchez Rodríguez, S. de Aluja A, Gómez E Conde et al.** tomado de Rocha Gracia RC, Lozano Zarain P, Martínez Laguna y (Eds). 2007. Temas Selectos de Microbiología. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. Teniasis/cisticercosis; mecanismos de evasión a la respuesta inmune, pp. 269-288.
12. **Cordero del Campillo M y A Hidalgo.** 1999. Cisticercosis (*C. Cellulosae*) en Parasitología Veterinaria. Editado por M.

Cordero del Campillo y F. A. Rojo V. Pp.493-495. Editorial Mc Graw Hill-Interamericana, Madrid.

## **D**

13. **Del Brutto OH y J Sotelo.** Neurocysticercosis: An update. Reviews of Infectious Diseases. 1988. 10: 1075-87.
14. **Del Brutto OH, Rajshekhar V, White AC Jr, Tsang VC, Nash TE et al.** 2001. Proposed diagnostic criteria for neurocysticercosis. Neurology.;57(2):177-83.
15. **Dixon H y F. Lipscomb.** 1961. Cysticercosis: An analysis and follow-up of 450 cases. Stationery office, Medical Research Council Special Reports Series, 229, 58: London.
16. **Dixon H y W. Hardgraves.** 1944. A further ten years clinical study covering 248 cases. Quart. J. Med. 13: 107-121

## **E**

17. **Evans C, AE González, RH Gilman, M Verastegui, HH García et al.** 1997. Immunotherapy for porcine cysticercosis: implications for prevention of human disease. Am J Trop Med Hyg 56:33 - 37.

## **F**

18. **Figueroa D A, Huerta B G, Sciutto C E, Espinosa R M.** 2014. Evaluación de la inmunogenicidad y efecto protector de la vacuna oral S3Pvac-papaya contra la cisticercosis en cerdos. Tesis. Universidad Autónoma de Guerrero. Chilpancingo, Guerrero. México.
19. **Fleury A, Escobar A, Chavarria A, Carrillo-Mezo R, Sciutto E.** 2006. Cisticercosis guía para profesionales de la salud, Cisticercosis en el ser humano, Fondo de Cultura Económica, México D.F.; pag 41:59-62.

20. **Fleury A, Moreno García J, Valdez Aguerrebere P, de Sayve Durán M, Becerril Rodríguez P et al.** 2010. Neurocysticercosis, a persisting health in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis*, 4:805.
21. **Flisser A y Gyorkos TW.** 2007. Contribution of immunodiagnostic tests to epidemiological/intervention studies of cysticercosis/taeniosis in Mexico. *Parasite Immunol.*;29:637-649.
22. **Flisser A y MW Lightowers.** 2001. Vaccination against *Taenia solium* Cysticercosis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 96: 353-356.
23. **Flisser A, A Plancarte, G. Avila.** 1999. Application of diagnostic methods for cysticercosis and taeniosis to epidemiological studies. In *Teniasis/Cysticercosis by Taenia solium*. 2da ed. p 40-52. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
24. **Flisser A, D Gonzalez, M. Shkurovich, I Madrazo, D Correa et al.** Praziquantel treatment of porcine brain and muscle *Taenia solium* cysticercosis. Radiological, physiological and hystopatological studies. 1990. *Parasitol. Res.* 76(3):263-9.
25. **Flisser A, Vargas-Parada L y Laclette JP.** 2006. *Taenia solium*: un parásito cosmopolita. *Investigación y Ciencia*.
26. **Flisser, K. Willms, J.P. Laclette, C. Larralde, C. Ridaura, y F. Beltrán et al.** 1994. *Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives*. Academic Press. New York, U.S.A.
27. **Fuentes RO, Abarca RE, Huerta OM.** 2011. Evaluación de la capacidad inmunogenica de la vacuna Oral S3Pvac - papaya contra

la cisticercosis porcina. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México.

## **G**

- 28. García E y A Ristol.** 1991. Cisticercosis cerebral. Aportaciones al conocimiento de una enfermedad endémica en España e Hispanoamérica. Pp. 23-54. Aran S.A. Madrid - España.
  
- 29. Gonzalez A E, C Gavidia, N Falcon, T Bernal, M Verastegui, et al.** 2001. V.C. T. sang and The Cysticercosis Working Group in Peru. Protection of pigs with cysticercosis from further infections after treatment with oxfendazole. Am J Trop Med Hyg 65:15 -18.
  
- 30. Gonzalez A E, C Gavidia, R H Gilman, H H Garcia, N Falcon, T. Bernal et al.** 1996. Tratamiento de la cisticercosis porcina. Teniasis/Cysticercosis by Taenia solium. p 109-120. H.H. García y S.M. Martinez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
  
- 31. Gonzalez A E, M Castro, R H Gilman et al.** 1993. The Marketing of Cisticercotic Pigs in the Sierra of Peru. Bull Word Health Organ. 71: 223-228.

## **H**

- 32. Handali S, Klarman M, Gaspard AN, Dong XF, Laborde R, Noh J et al.** 2010. Development and evaluation of a magnetic immunochromatographic test to detect Taenia solium, which causes taeniasis and neurocysticercosis in humans. Clin Vaccine Immunol.;17:631-637.
  
- 33. Harrison L J, G Joshua, R M Parkhouse.** 1989 Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in T. saginata cysticercosis. Parasitic immunology, 11:351-370.



34. **Hernández M, Cabrera-Ponce JL, Fragoso G, López-Casillas F, Guevara-García A et al.** 2007. A new highly effective anticysticercosis vaccine expressed in transgenic papaya. *Vaccine.* ; 25:4252-4260.
35. **Huerta M, de Aluja AS, Fragoso G, Toledo A, Sciutto E et al.** 2001. Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in a controlled field trial in rural Mexico. *Vaccine* 12;20: 262-266.
36. **Huerta M, de Aluja AS, Fragoso G, Toledo A, Sciutto E et al.** Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in a controlled field trial in rural Mexico. *Vaccine.* 2001, 20:262-266.

## **L**

37. **Lightowlers M W, Flisser A, Gauci C G, Heath D D, Jensen O, Rolfe R.** 2000. Vaccination against cysticercosis and hydatid disease. *Parasitol Today.* 16:191-96
38. **Lightowlers M W.** 2003. Vaccines for prevention of cysticercosis. *Acta Trop.*;87:129-135.
39. **Lightowlers, M.W.** 1999. Eradication of *Taenia solium* cysticercosis: a role for vaccination of pigs. *International journal for Parasitology.* 29:811-817. *Parasitic immunology.*

## **M**

40. **Manoutcharian F, Gevorkian G, Cano A, Almagro JC.** 2001. Phage displayed biomolecules as preventive and therapeutic agents. *Current Pharmaceutical Biotechnology;* 2:217-223.

41. **Manoutcharian K, Díaz-Orea A, Gevorkian G, Fragoso G, Acero G, Sciutto E et al.** 2004. Recombinant bacteriophage-based multiepitope vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*.;99:11-24.
42. **Markell E y M Vogue.** 1992. *Medical Parasitology*. 7a edition. p232 - 242. W.B. Saunders company. México.
43. **Matias Z, Z Pawlowski, E J Soulsby et al.** Guidelines for surveillance, prevention and control of Cysticercosis/Taeniasis. 1983World Health Organization. 71-72 (WHO/VPH 83.49).
44. **Molinari J L, D Rodríguez, P Tato, R Soto, F Arechavaleta, S Solano.** 1997. Field trial for reducing porcine *Taenia solium* cysticercosis in Mexico by systematic vaccination of pigs. 1997. *Vet Parasitol.* Apr;69(1-2):55-63.
45. **Molinari JL, R Soto, P Tato, D Rodriguez, A Retana et al.** 1993. Immunization against porcine cysticercosis in an endemic area in Mexico: a field and laboratory study. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 49: 502-512.
46. **Morales J, Martínez JJ, Manoutcharian K, Hernández M, Fleury A et al.** 2008. Inexpensive anti-cysticercosis vaccine: S3Pvac expressed in heat inactivated M13 filamentous phage proves effective against naturally acquired *Taenia solium* porcine cysticercosis. *Vaccine*.;26:2899-2905.
47. **Morales J, S de Aluja A, Martínez JJ, Hernández M, Rosas G et al.** 2011. Recombinant S3Pvac-phage anticysticercosis vaccine: Simultaneous protection against cysticercosis and hydatid disease in rural pigs. *Veterinary Parasitology*. 176:53-58.

## **N**

- 48. Naquira C.** 1999. Taenia solium: biological cycle and characteristics.. Teniasis/Cysticercosis by Taenia solium. 2da ed. p 7-15. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Peru.
- 49. Nascimento E, JO Costa, MP Guimaraes y C.A. Tavares.** 1995. Effective immune protection of pigs against cysticercosis. Vet Immunol. Immunopathol. 45:127-137.
- 50. Nash TE y FA Neva.** 1984. Recent advances in the diagnosis and treatment of cerebral cysticercosis. New England Journal of Medicine 311:1492-6.
- 51. Norma Oficial Mexicana, NOM-021-SSA2-1994.** Para la vigilancia, prevención y control del binomio Teniasis /Cisticercosis en el primer nivel de atención médica. (Modificación de la NOM-021-SSA2-1994), diario oficial de la federación, 1996.

## **Q**

- 52. Quiroz H.** Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. 1997.P p286 - 348. Editorial; Limusa. México, D.F.

## **R**

- 53. Ramos JM.** Informe de 20 casos de neurocisticercosis parenquimatosa tratados con albendazol. 1991. Rev. Med. IMSS; 29(1):29-32, ene.-feb.

54. **Reyes H.** Teniasis. 1996. En Parasitología Clínica. Cap. 23. 3ra. Edición. De Antonio Atías. Publicación Técnica Mediterraneo. Santiago de Chile.
55. **Rodas Barahona.** 1990. "Contribución al estudio de la epidemiología de la taeniasis-cisticercosis, en la cabecera del municipio de San Luis, departamento de El Peten". Tesis. Universidad San Carlos de Guatemala. 57p
56. **Romero Cabello R.** 1993. Microbiología y parasitología humana; bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. Médica Panamericana. México. D. F. Pág. 574-582.
57. **Ruiz Sandino JL.** 2004. "Evaluación del conocimiento sobre la teniasis/cisticercosis y uso de la educación popular como medida preventiva en la zona de León, agosto a noviembre de 2003". Tesis Universidad Autónoma de Nicaragua UNAN-LEON. 65p

## **S**

58. **Sarti E, PM Schantz, A Plancarte, M Wilson, IO Gutiérrez et al.** 1992. Prevalence and risk factor for *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos, Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg.
59. **Sarti E, PM Schantz, A Plancarte, M Wilson, IO Gutiérrez et al.** 1992. Prevalence and risk factor for *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos, Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg.
60. **Sciutto E, A Aluja, G Fragoso, LF Rodarte, M Hernández et al.** 1995. Immunization of pigs against *Taenia solium* cysticercosis: factors related to effective protection. Veterinary Parasitology 60: 53-67.

61. **Sciutto E, Fragoso G, Fleury A, Laclette JP, Larralde C 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; 2:1875-1890.
62. **Sciutto E, Fragoso G, Manoutcharian K, Gevorkian G, Larralde C et al.** New Approaches to Improve a Peptide Vaccine Against Porcine Taenia solium Cysticercosis, *Archives of Medical Research*, 2002; 33:371-378.
63. **Sciutto E, Martínez JJ, Villalobos NM, Hernández M, José MV et al.** 1998. Limitations of current diagnostic procedures for the diagnosis of Taenia solium cysticercosis in rural pigs. *Vet Parasitol.* Nov 27; 79(4):299-313.
64. **Soulsby E.** 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos, 7ma edición, p 106-113. Nueva Editorial Interamericana, México. DF.
- V**
65. **Van Kerekhoven, IM Vanteenkiste, Claes M, S Geerts, J Brandt.** 1998 Improved detection of circulating antigen in cattle infected with Taenia saginata metacestodes. *Vet. Parasitol.* 76: 269-274.
66. **Verastegui M, AE Gonzalez, RH Gilman, C Gavidia, N Falcon, T Bernal.** The Cysticercosis working group in Perú. 2000. Experimental infection model for Taenia solium cysticercosis in swine. *Veterinary Parasitology.* 94: 33 - 44.
67. **Verastegui M, RH Gilman, AE Gonzalez, HH Garcia, C Gavidia et al.** Taenia solium oncosphere antigens induce immunity in pigs

against experimental cysticercosis. 2002. Vet. Parasitol. 108: 49-62.

## **W**

- 68. W. H. O. (World Health Organization.)** 2000. Bulletin of the World Health Organization. Policy and Practice. A proposal to declare neurocysticercosis and international reportable disease. Volumen 78 #3 Pág. 399-403
- 69. White A C Jr.** 1997. Neurocysticercosis: a major cause of neurological disease worldwide. Clin Infect Dis. 24:101 -1 3; quiz 114-5.
- 70. Willms KL, Vargas-Parada L, Laclette JP.** Biología del parásito en Cisticercosis. Guía para profesionales de la salud. Larralde C, S de Aluja A (Eds.) México, Fondo de Cultura Económica. Secretaria de Salud, Instituto Nacional de Salud Pública, Fundación Mexicana para la salud; 2006:19-38.

## **Páginas de Internet**

1. Consulta en  
<http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/mod/page/view.php?id=101113> el 06 de September de 2016