

18.
2er.
01672

Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
División de Estudios de Posgrado

EVALUACION DEL EFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE PRAZIQUAN-
TEL EN CERDOS PARASITADOS NATURALMENTE CON EL
METACESTODO DE LA Taenia solium

T E S I S

Que para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS
(AREA PATOLOGIA)

p r e s e n t a

MV. HECTOR ALEJANDRO TORRES LOZANO

ASESORES: DRA. ANA FLISSER
MVZ. ALINE S. DE ALUJA
MVZ. RICARDO NAVARRO

México, D. F.

1990



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

LISTA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCION.....	1
1. VISION PANORAMICA DE LA TENIASIS/ CISTICERCOSIS.....	3
2. CICLO DE VIDA.....	4
3. ASPECTOS CLINICOS DE LA TENIASIS/ CISTICERCOSIS.....	5
3.1. Aspectos clínicos de la Teniasis.....	5
3.2. Aspectos clínicos de la Cisticercosis Humana.....	5
3.3. Aspectos clínicos de la Cisticercosis Porcina.....	7
4. EPIDEMIOLOGIA DE LA TENIASIS/CISTICERCOSIS... 7	
4.1. Epidemiología de la Teniasis.....	7
4.2. Epidemiología de la Cisticercosis Humana.....	8
4.3. Epidemiología de la Cisticercosis Porcina.....	9
5. INMUNOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS.....	11
6. PATOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS.....	14
7. DIAGNOSTICO DE LA TENIASIS/CISTICERCOSIS.....	16
7.1. Diagnóstico de la Teniasis.....	16

7.2.	Diagnóstico de la Cisticercosis Humana.	16
7.3.	Diagnóstico de Cisticercosis Porcina.	18
8.	TRATAMIENTO DE LA TENIASIS/CISTICERCOSIS.	19
8.1.	Tratamiento de la Teniasis.	19
8.2.	Tratamiento de la Cisticercosis Humana.	20
8.3.	Tratamiento de la Cisticercosis Porcina.	21
9.	PRAZIQUANTEL (Pzq).	22
9.1.	Propiedades.	22
9.2.	Espectro de acción.	22
9.3.	Acción antihelmíntica.	23
9.4.	Farmacocinética.	24
9.5.	Dosificación.	26
9.6.	Toxicología.	27
II.	OBJETIVOS.	28
1.	OBJETIVO PRINCIPAL.	28
2.	OBJETIVOS SECUNDARIOS.	28
III.	HIPOTESIS.	29
IV.	MATERIAL Y METODOS.	30
1.	ANIMALES EXPERIMENTALES.	30
2.	PROGRAMA DE DOSIFICACION DEL Pzq.	30
3.	TOMA DE MUESTRAS.	31

4.	PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.....	31
4.1.	Pruebas hematológicas.....	31
4.2.	Pruebas inmunológicas en suero sanguíneo.....	32
4.2.1.	Ensayo Inmunoenzimático (EIE)...	32
4.2.2.	Inmunolectrotransferencia (IET)	34
4.3.	Estudio Anatómo-patológico.....	35
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
V.	RESULTADOS.....	38
1.	ANIMALES EXPERIMENTALES.....	38
2.	PRUEBAS HEMATOLOGICAS.....	38
2.1.	HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO.....	38
2.2.	PROTEINAS PLASMATICAS.....	39
2.3.	LEUCOCITOS.....	39
2.4.	RECUESTO DIFERENCIAL.....	39
2.4.1.	Neutrófilos.....	39
2.4.2.	Neutrófilos en banda.....	40
2.4.3.	Eosinófilos.....	40
2.4.4.	Linfocitos.....	41
2.4.5.	Monocitos.....	41
2.4.6.	Basófilos.....	41
3.	PRUEBAS SEROLOGICAS.....	45
3.1.	ENSAYO INMUNOENZIMATICO	45
3.1.1.	Grupo 1.....	45
3.1.2.	Grupo 2.....	45
3.1.3.	Grupo 3.....	46

3.1.4. Grupo 4.....	46
3.2. PRUEBA DE INMUNOELECTROTRANSFERENCIA...	48
4. ESTUDIO ANATOMO-PATOLOGICO.....	55
4.1. PATOLOGIA MACROSCOPICA.....	55
4.1.1. Prueba de Evaginación <i>in vitro</i> ...	58
4.2. PATOLOGIA MICROSCOPICA.....	60
4.2.1. Grupo 1.....	60
4.2.2. Grupo 2.....	60
4.2.3. Grupo 3.....	61
4.2.4. Grupo 4.....	61
VI. DISCUSION.....	65
LITERATURA CITADA.....	76

LISTA DE CUADROS

Página

CUADRO 1:	Distribución y características de los animales incluidos en el experimento.....	32
CUADRO 2:	Valores de absorbancia obtenidos en cada uno de los sueros de cerdos tratados y no tratados con Pzq.....	48
CUADRO 3:	Frecuencias del reconocimiento de las bandas por grupos.....	49
CUADRO 4:	Bandas de glicoproteínas (GF) antigénicas reconocidas en los diferentes sueros de cerdos tratados y no tratados con Pzq.....	52
CUADRO 5:	Aspecto macroscópico de cisticercos musculares hallados en cada uno de los cerdos tratados y no tratados con Pzq.....	56
CUADRO 6:	Número total y localización anatómica de los cisticercos cerebrales en los cerdos tratados y no tratados con Pzq.....	57
CUADRO 7:	Resultados de la prueba de evaginación realizada en cisticercos de cerdos tratados y no tratados con Pzq.....	58
CUADRO 8:	Clasificación ordinal del aspecto histopatológico de cisticercos musculares y cerebrales en cerdos tratados con una dosis de Pzq.....	62

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1: Valores de hemoglobina, hematocrito y proteínas plasmáticas obtenidas durante la prueba.....42

FIGURA 2: Valores de leucocitos, neutrófilos, neutrófilos en banda y eosinófilos obtenidos durante la prueba.....43

FIGURA 3: Valores de linfocitos, monocitos y basófilos obtenidos durante la prueba.....44

FIGURA 4: Valores de densidad óptica (D.O.) obtenidos en los sueros de los animales utilizados en la prueba.....47

FIGURA 5: Ensayo de Inmunolectrotransferencia en los grupos tratados (1,2,3,) no tratado (4) y libres de infección (T).....50

FIGURA 6: Número de bandas reconocidas por los sueros de los animales utilizados en la prueba.....51

FIGURA 7: Resultados obtenidos en la prueba de evaginación.....59

FIGURA 8: Resultado de la evaluación histológica de cisticercos en los animales de los grupos 1 y 2.....63

FIGURA 9: Resultado de la evaluación histológica de cisticercos en los animales de los grupos 3 y 4.....64

I. INTRODUCCION

La cisticercosis es un padecimiento frecuente y endémico en México, tanto en seres humanos como en cerdos, y aunque en los primeros se ha manifestado en todos los estratos sociales, de hecho es sinónimo de miseria, ignorancia y condiciones higiénico-sanitarias deficientes de la población, características que se comparten con la mayoría de países de América Latina y otros en vías de desarrollo^{5,14,17,20,22,70}.

El binomio Teniasis/Cisticercosis ocasiona graves problemas de salud que implican altos costos por concepto de atención médica en el humano y cuantiosas pérdidas económicas en la industria porcícola por el decomiso de canales infectadas^{3,5}.

Aún cuando Aristóteles habla ya de los cisticercos en los cerdos y refiere este conocimiento a tiempos más remotos, la naturaleza de los quistes y su relación con la tenia no fué conocida sino hasta hace 170 años, gracias a las observaciones de Kuchenmeister⁵².

La enfermedad es causada por la larva de *Taenia solium* que se localiza en diversos tejidos y que afecta a hombre y cerdo especialmente, siendo el primero de ellos además huésped definitivo de la tenia y por lo tanto etapa principal dentro de la epidemiología y ciclo de vida del parásito.

Debido a su alto índice de morbilidad con base en diagnósticos clínicos y serológicos de cisticercosis humana, México es uno de los países con la más alta incidencia de esta enfermedad y a pesar de que muchos investigadores se dedican a buscar alternativas para el control, diagnóstico y tratamiento, poco se ha podido mejorar en el panorama de esta infección parasitaria en los países en vía de desarrollo.

Los cerdos han sido un modelo excelente para evaluar el efecto de diversos medicamentos utilizados en el tratamiento de la enfermedad en pacientes humanos. Entre los ensayados en esta especie para interrumpir el ciclo biológico del parásito se cuenta el Praziquantel (Pzq)^{10, 19, 21} cuyos resultados han sido prometedores. Para aplicarlo como método de rutina en el cerdo es costoso, además, por ser de administración prolongada es poco práctico en Medicina Veterinaria. Al intentar establecer un programa corto y de fácil administración con este medicamento para tratar la cisticercosis porcina, se lograría interrumpir el ciclo de vida de este parásito y disminuir la frecuencia de esta terrible enfermedad tanto en el ser humano como en el cerdo.

La presente investigación tiene el objetivo de establecer si dosis únicas de Pzq, repartidas en tres tomas durante un día, pueden destruir los cisticercos en cerdos infectados naturalmente.

1. VISION PANORAMICA DE LA TENIASIS/CISTICERCOSIS

En contraposición con la mayoría de las enfermedades zoonóticas, el hombre constituye un eslabón esencial en la epidemiología y persistencia de la teniasis y la cisticercosis. Es el huésped definitivo, portador de la *T. solium* que contamina con sus deposiciones los campos y ofrece la oportunidad de que el cerdo se infecte por coprofagia. Las tenias pueden sobrevivir por muchos años en el intestino delgado del hombre y el número de huevos que elimina se cuenta por cientos de miles en un solo día; además, el uso de aguas negras para el riego o de agua contaminada de río u otra fuente para abrevar los animales, es un factor que contribuye a la difusión de la cisticercosis.

A pesar de los indiscutibles avances de la ciencia con miras a dilucidar los aspectos bioquímicos, inmunológicos y ultraestructurales del cisticerco, el panorama de la infección ha cambiado muy poco, pues ésta sigue prevaleciendo en los países con un bajo nivel socioeconómico en los que se consume la carne de cerdo.

En este panorama de tecnología avanzada y retraso sociocultural simultáneamente establecidos, la solución obvia para erradicar la enfermedad es eliminar el fecalismo humano en campo abierto mediante el mejoramiento del nivel de sanidad ambiental y personal en las áreas rurales, aunados a

métodos de cría más higiénicos y organización cuidadosa en la inspección de las carnes.

Desafortunadamente, observaciones realizadas en las áreas rurales en las que se origina el problema, han demostrado que la idiosincrasia de los habitantes hace difícil la introducción de cambios de costumbres arraigadas desde generaciones, por lo que con el fin de acelerar la lucha contra ésta y otras enfermedades zoonóticas, es necesario encontrar alternativas. Una de ellas sería un tratamiento medicamentoso de fácil aplicación y bajo costo que pudiera ser establecido como programa masivo e interrumpir de esta forma, el ciclo de vida del parásito.

2. CICLO DE VIDA

La forma adulta de la *Taenia solium* habita únicamente en el intestino delgado del hombre, tiene una longitud variable entre 2 y 7 metros. Los proglótidos (segmentos) grávidos se desprenden del estróbilo en grupos de 5 a 6 con un total de huevos calculado entre 30,000 y 60,000 para cada uno ^{8,5,49,56}.

El cerdo criado en forma extensiva, por sus hábitos coprofágicos puede ingerir un gran número de huevos, los embriones u oncosferas se liberan en el intestino del huésped, penetran la pared y así se difunden por el sistema circulatorio hacia diferentes tejidos en el curso de 24 a 72 horas⁸. El desarrollo completo del cisticerco se

efectúa en 9 a 12 semanas^{3,5,56} y toma la forma de una vesícula llena de líquido dentro de la cual se encuentra el escólex invaginado provisto de ventosas y ganchos, esta es la forma celulosa. En el ser humano existe otra forma más grande, irregular y lobulada, la forma racemosa, con predilección por cavidades ventriculares subaracnoideas y la base del cráneo^{5,29,29,38}.

Cuando el hombre consume carne de cerdo que contiene cisticercos vivos, la larva emerge en el intestino delgado, su escólex evagina, y se fija en la mucosa intestinal. El desarrollo de la larva a adulto y la expulsión de los primeros proglótidos en las heces ocurre después de 62 días con persistencia del cístodo hasta por 25 años^{38,49,56}.

3. ASPECTOS CLINICOS DE LA TENIASIS/CISTICERCOSIS

3.1. Aspectos clínicos de la Teniasis

La teniasis es una infección no fatal y generalmente asintomática. Cuando llega a manifestarse, los síntomas consisten en dolor abdominal, náusea, malestar general, pérdida de peso, cambios de apetito, constipación y mareo. Este cuadro leve hace difícil el diagnóstico y así, la parasitosis puede pasar desapercibida por muchos años^{3,5}.

3.2. Aspectos clínicos de la Cisticercosis Humana

Ha existido cierta controversia para establecer la clasificación de esta enfermedad en el hombre. Aún así,

existe consenso de que los pacientes se clasifican en dos grupos: sintomáticos y asintomáticos^{8d}.

Los pacientes que presentan sintomatología se agrupan en 4 categorías de acuerdo a la localización del parásito^{8d}:

Cisticercosis Diseminada: Los parásitos están distribuidos en tejido subcutáneo, músculo estriado y visceras en algunas ocasiones.

Oftalmocisticercosis: Los parásitos se localizan en ojo y estructuras anexas.

Neurocisticercosis: Los parásitos se encuentran en el Sistema Nervioso Central (SNC).

Cisticercosis Mixta: Los parásitos están en más de una localización de las ya mencionadas.

En general, cuando las larvas no se encuentran en el sistema nervioso, la cisticercosis suele ser asintomática.

Las manifestaciones clínicas dependen del número y localización de las larvas, del tiempo de evolución y de la extensión y gravedad de la respuesta inflamatoria del huésped^{5,20,8d}. En la neurocisticercosis, la enfermedad cursa principalmente con epilepsia, meningitis e hipertensión intracraneal con sus signos de cefalea, náusea, vómito y vértigo^{3,5,14,20,51,57,8d}. De acuerdo con Estañol y col.²⁸, la cisticercosis cerebral en el hombre se divide en formas benignas y malignas. La forma maligna causa hidrocefalia y requiere por lo general de tratamiento quirúrgico y medicamentoso mientras que la forma benigna es asintomática.

Es importante indicar que la presencia de cisticercos en el SNC, en muchos casos, no se manifiesta con sintomatología clínica. En varios países latinoamericanos se encontró que en 46.8% de los cadáveres con cisticercos hallados en el SNC al practicársele la autopsia, no se habían comprobado manifestaciones clínicas en vida³. Briceño y col. (1961) informó el 43.3% de casos asintomáticos mientras que Rabiela y col. (1979) el 80% en hallazgos de autopsias^{57,62}.

3.3. Aspectos Clínicos de la Cisticercosis Porcina

Las manifestaciones clínicas de la cisticercosis en el cerdo, han sido poco estudiadas y generalmente pasan inadvertidas^{3,5}, probablemente debido a que, dadas las características de la explotación porcina, los cerdos no viven más allá de 9 meses y no se establece la relación huésped-parásito necesaria para desarrollar el cuadro clínico⁴⁵.

Aún así, se han referido algunos casos graves en los que los cerdos muestran disnea, marcha vacilante y caquexia. Cuando las larvas se localizan en el encéfalo pueden causar algunos disturbios neurológicos como agresividad, somnolencia, indiferencia y otros⁵.

4. EPIDEMIOLOGIA DE LA TENIASIS/CISTICERCOSIS

4.1. Epidemiología de la Teniasis

En 1947 se estimó que cerca de 2.5 millones de la

población de Latinoamérica estaban parasitados con *Taenia solium*. Acha³ supone que desde entonces el número de personas infectadas debe haber aumentado con el crecimiento de las poblaciones humana y animal. Sin embargo, esto no se puede demostrar ya que la prevalencia de la teniasis no se conoce bien. No es una enfermedad notificable y la información disponible se basa en estudios aislados de algunos sectores específicos de la población, realizados con métodos coproparasitológicos poco sensibles^{8,9,62}.

A nivel mundial, la *Taenia solium* se encuentra restringida a regiones con un bajo desarrollo social y económico; es endémica en América Latina, el sur de África y el sureste de Asia no islámico, pero no se poseen datos respecto a la prevalencia debido a los métodos diagnósticos utilizados^{5,33}.

En México, los datos de casos de teniasis notificados a la Dirección General de Epidemiología SSA, indican una prevalencia entre el 0.5 al 6.0% durante el último lustro y se estableció en algunas entidades federativas de la siguiente manera: Morelos (11.4%), D.F. (8.7%), Guanajuato (7.8%) y Michoacán (7.1%)⁶².

4.2. Epidemiología de la Cisticercosis Humana.

La neurocisticercosis, la forma de presentación más grave de la infección en el ser humano, se ha observado en 17 países latinoamericanos con una tasa de 0.43% en

autopsias; así, se ha estimado que de cada 100000 habitantes, 100 sufren de la forma cerebral y posiblemente 30 de la ocular o periocular. Las tasas más altas de morbilidad se encuentran en Brasil, Chile, Perú, El Salvador, Guatemala y México³.

La frecuencia de neurocisticercosis en México es alta cuando se le compara con otros países del continente. Las tasas de prevalencia e incidencia no son confiables debido a que están basadas en datos de pacientes hospitalizados y series de autopsias de algunos hospitales. Para los años comprendidos entre 1983 y 1985 se encontró que los estados mayormente afectados fueron Guerrero (24.4%), Michoacán (12.7%), Estado de México (12.0%), San Luis Potosí (7.8%) y Puebla (7.1%)⁶².

4.3. Epidemiología de la Cisticercosis Porcina

La información sobre cisticercosis porcina proviene de los registros de la inspección veterinaria de carnes en mataderos y frigoríficos³. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los métodos usuales de inspección, basados en cortes hechos en los lugares de localización preferente del parásito, descubren sólo una parte de las canales infectadas^{3,5}. También es importante señalar que los cerdos criados en los pequeños ranchos campesinos, donde suelen tener oportunidad de ingerir deposiciones humanas, en general son sacrificados por los propios dueños sin inspección veterinaria o son vendidos en forma clandestina en los

mercados^{2,5}.

En todas partes donde existe la teniasis humana también se encuentra la cisticercosis animal, con variaciones en la prevalencia de una región a otra³. En las Américas, Brasil; que tiene más del 65% del total de cerdos de América Latina, registró una tasa de infección por cisticercos del 0.83%. Tasas similares se observaron en México, Chile, Colombia, Panamá y Honduras. En Sudáfrica está por debajo del 1.5%. En Europa, la cisticercosis porcina está desapareciendo³.

En México, al estudiar la frecuencia de decomiso por cisticercosis en 75 rastros, de 23 estados del país, se obtuvo para 1980-1981 un promedio nacional de 1.55%, con un rango del 0.004 al 10%. Los estados más afectados fueron Guanajuato y Michoacán con 10%, Tlaxcala y Chihuahua con 3.32%, y Coahuila y Durango con 2.37 y 2.21% respectivamente^{1,2,5,6}. En 1981 se decomisaron 264 mil canales porcinas y las pérdidas totales se estimaron en más de EUA \$43 millones^{1,2,3}.

Los métodos de diagnóstico serológico, entre los que se cuenta la inmunolectroforesis, realizada por Romero (1980) e Inclán (1981) en cerdos sacrificados en rastros, reportaron un 38.6% y 30.4% respectivamente de resultados positivos⁴.

Si se confirma que la presencia de anticuerpos reflejan una infección, los datos sugieren que la cisticercosis porcina es más frecuente de lo que se detecta en la

inspección sanitaria de rutina.

5. INMUNOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS

El conocimiento de la respuesta inmune en la cisticercosis es importante por varias razones, entre ellas: ayuda al diagnóstico de la enfermedad, determina e identifica los elementos que sirven como fundamento para evaluar las posibilidades de una vacuna y analiza los diversos mecanismos inmunológicos de que se vale el parásito para sobrevivir y evadir el sistema inmune^{5,21}. Finalmente, esta información permite tomar medidas de control que puedan alterar el equilibrio de la parasitosis y proveer mayores datos sobre la historia natural de la enfermedad.

La respuesta inmune en la cisticercosis bovina y ovina ha sido enfocada principalmente al desarrollo de una vacuna (Rickard y Willians, 1982)²¹ y ha permitido realizar ensayos experimentales con el propósito de determinar si se puede producir inmunidad contra esta parasitosis. En ratas y ratones infectadas con *Taenia taeniaeformis* y conejos con *Taenia pisiformis* se ha podido demostrar que es factible evitar la cisticercosis o reducir el número de cisticercos implantados cuando se emplean métodos inmunológicos⁵ a través de la respuesta humoral, específicamente los anticuerpos de clase IgG y el sistema del complemento^{5,21}. Así, ante la existencia de uno o varios cisticercos en los tejidos del huésped, se crea una

respuesta inmune específica que le protege en contra de una segunda infección^{21,81}.

A pesar de esto, los cisticercos establecidos en la primera infección no son afectados por la respuesta del huésped y logran sobrevivir por largos períodos^{21,81}.

En ensayos realizados con cerdos se han detectado mayor número de cisticercos infiltrados por eosinófilos en animales que fueron inmunizados con extracto crudo del parásito y después han sido desafiados con huevecillos. Esta información, aunque insuficiente, puede ser el punto de partida con respecto al uso eventual de vacunas en el ser humano⁸.

La respuesta inmune humoral del ser humano con neurocisticercosis se estudió inicialmente por inmunolectroforesis (Flisser y col. 1974) en la que se enfrentó un extracto crudo del parásito con los sueros de pacientes y se determinó que la respuesta es heterogénea^{5,21,84} ya que los sueros reaccionan con un número y tipo variable de antígenos^{5,21,83,84}. La inmunolectroforesis (IEF), permitió establecer una clasificación de los antígenos del cisticercos de acuerdo a su movilidad electroforética; de esta manera se han definido 8 antígenos denominados con las primeras letras del alfabeto. El antígeno B (AgB), un componente isoeléctrico del extracto, es el más frecuentemente reconocido^{5,21,84}. Se ha demostrado que, además, tiene amplia distribución en los tejidos del

cisticercos especialmente en las células tegumentales, lo que sugiere que son las responsables de su síntesis y que ello lo convierte en un antígeno de secreción⁴⁴.

La secreción del AgB es congruente con el hecho de que sea el antígeno más reconocido por los sueros de pacientes pues éste entra en contacto con el sistema inmune del huésped. A pesar de ello, la respuesta específica anti-B es incapaz de dañar al cisticercos por estar dirigida a un antígeno que se libera⁴⁵.

Los anticuerpos (Ac) presentes en el suero de pacientes se han analizado por medio del Ensayo Inmunoenzimático (EIE) en donde se estableció que la IgG anti-extracto es la más frecuente (85%) seguida por las IgM e IgA (50% y 26% respectivamente)^{21, 24}. Mediante la misma prueba, el estudio inmunológico del líquido cefalorraquídeo (LCR) demostró el mismo orden de frecuencia aunque con niveles diferentes. Estos resultados sugieren que el establecimiento y magnitud de la respuesta inmune dependen de la localización anatómica del cisticercos²¹.

De igual forma, la respuesta inmune celular parece estar disminuida en los enfermos con cisticercosis y aún más, las personas infectadas parecen tener mayor susceptibilidad a algunas enfermedades relacionadas con una respuesta inmune mal regulada^{5, 21}.

6. PATOLOGIA DE LA CISTICERCOSIS

La patología desencadenada por la presencia de parásitos en los diversos tejidos, muestra las características comunes a toda reacción inflamatoria cuya intensidad varía de acuerdo con la respuesta inmunológica de cada individuo y etapa evolutiva del cisticerco^{5,28} tanto en el animal como en el ser humano.

En el hombre, por lo general la inflamación es de tipo crónico, se localiza alrededor del parásito e incluye células plasmáticas, linfocitos, eosinófilos, macrófagos y células gigantes. En ocasiones, se hace notable un infiltrado perivascular con engrosamiento de la íntima de los vasos del sistema nervioso central. Una vez terminado el proceso destructivo, el cisticerco se hialiniza y calcifica^{5,28,29,38,57}.

En cerdos, las lesiones encontradas en músculo esquelético han permitido establecer los criterios descriptivos para la clasificación ordinal de siete grados propuesta por Aluja y Vargas⁴ según la respuesta inflamatoria, el estado de degeneración de las larvas y la cantidad de tejido cicatrizal. La definición de los siete grados es la siguiente:

Grado 0: Sin reacción inflamatoria, en el parásito no existen cambios degenerativos.

Grado 1: Inicia la reacción inflamatoria, focal, por

linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos.

Grado 2: Aumenta la reacción inflamatoria, los eosinófilos son más aparentes y difusos y existe hiperemia y diapedesis en arteriolas y capilares en la periferia de la zona inflamada.

Grado 3: Se inicia la reacción granulomatosa, los eosinófilos se agrupan para formar la "primera línea de ataque" y se adhieren a la pared vesicular de la larva logrando finalmente penetrar en la cavidad de ésta. Los macrófagos empiezan a alinearse en forma de palizada y se forman algunos agregados linfoides. En este grado empieza a existir la degeneración larval.

Grado 4: La reacción rodea casi toda la cavidad que contiene al parásito y aparecen células gigantes. Los eosinófilos y células epitelioides se necrosan y los agregados de linfocitos aumentan en actividad y tamaño.

Grado 5: El parásito está completamente degenerado y no es posible reconocer detalles estructurales. El contenido de la vesícula es una masa acidófila de restos necróticos. Los fibroblastos y fibrocitos son numerosos y los agregados linfoides tienden a disminuir.

Grado 6: Existe invasión por tejido fibroso, en algunas de las cicatrices pueden detectarse ganchos o corpúsculos calcáreos. La calcificación se establece en menos de un 10% de parásitos.

7. DIAGNOSTICO DE LA TENIASIS/CISTICERCOSIS

7.1. Diagnóstico de la Teniasis

El diagnóstico de teniasis se realiza por la observación de proglótidos grávidos o huevecillos en las heces mediante exámenes coproparasitológicos (tamizado para proglótidos o técnicas de concentración y flotación para huevecillos)^{3,5,22}.

Debido a que la eliminación de proglótidos no es cotidiana y a que las técnicas carecen de especificidad y sensibilidad confiables, es necesario repetir los exámenes si los resultados fueran negativos. Es aconsejable utilizar varias técnicas simultáneamente para llegar a un nivel óptimo de diagnóstico²⁴.

7.2. Diagnóstico de la Cisticercosis Humana

A la fecha, el diagnóstico de cisticercosis humana tiene su fundamento en métodos parasitológicos, radiológicos e inmunológicos.

El diagnóstico de cisticercosis subcutánea se realiza por biopsia de los nódulos o en material de autopsia en donde se demuestra la presencia del parásito^{3,23}; la cisticercosis ocular puede detectarse por medio del oftalmoscopio³. El diagnóstico de la neurocisticercosis se ha visto notablemente facilitado por los avances de la ciencia médica y la biotecnología aunque para la vigilancia epidemiológica los métodos serológicos son los que ofrecen mejores perspectivas⁵.

Los procedimientos utilizados para el diagnóstico son:

Clinicos: Debido a la gran variedad de manifestaciones que produce la enfermedad no es posible establecer el diagnóstico clínico con certeza. En algunas ocasiones mediante un examen clínico cuidadoso, puede detectarse la localización del parásito en el tejido nervioso⁵.

Radiológicos: En la actualidad, la tomografía computarizada y la resonancia magnética son los procedimientos de elección para lograr el diagnóstico preciso de la enfermedad⁵ pues permiten localizar la larva y correlacionarla con las manifestaciones clínicas en un solo estudio⁶⁰.

Inmunológicas: Se han utilizado pruebas cualitativas y cuantitativas; las primeras sólo indican reactividad del suero o del LCR de un individuo ante un antígeno de la larva, es decir, indican la presencia de Ac específicos. Las pruebas cuantitativas, mediante diluciones del suero o LCR, titulan cantidades de inmunoglobulinas específicas permitiendo seguir la evolución del padecimiento⁴².

En las técnicas utilizadas se emplean diversos antígenos (Ag) entre los que predomina el extracto crudo. En la actualidad se ha puesto interés especial en la obtención de antígenos purificados con objeto de disminuir las reacciones cruzadas que frecuentemente se presentan entre los diferentes helmintos y en particular, entre los céstodos⁴².

Para la búsqueda de Ac anticisticerco, desde 1948 se emplea la técnica de fijación de complemento (Nieto, 1948). En 1975 se estandarizó la IEF en suero; existen otras pruebas como la hemaglutinación pasiva (HA), inmunofluorescencia (IF), la doble inmunodifusión (DID) y más recientemente, el ensayo inmunoenzimático (EIE)^{5,30} y la inmuno-electrotransferencia enzimática (IET)⁷⁴. Estas dos últimas han demostrado extraordinarios resultados, pues sus niveles de sensibilidad son del orden de 90% y 98% respectivamente; su principal obstáculo es que no se conoce con exactitud cuál es el nivel de especificidad sobretodo en población abierta asintomática⁵.

7.3. Diagnóstico de Cisticercosis Porcina

Dado que en la mayor parte de los animales no se manifiestan signos, la inspección en pie se lleva a cabo por medio del exámen visual y palpación de las caras lateral e inferior de la lengua. Con este método, sólo pueden ser detectados un 40% a 70% de los animales con infección⁵.

Las pruebas inmunológicas ensayadas para el diagnóstico de cisticercosis (fijación de complemento, hemaglutinación indirecta, intradermoreacción, inmunodifusión en gel, y precipitación capilar) muestran sensibilidad y especificidad tan baja que no se puede recomendar su aplicación⁴². Rodríguez-del-Rosal y col.⁵⁰ desarrollaron una prueba para detectar productos del parásito en suero, mediante el uso de un anticuerpo un anticuerpo monoclonal que ofrece

perspectivas interesantes para el inmunodiagnóstico de la cisticercosis porcina, pues se informa de una sensibilidad hasta del 91%.

Los cisticercos en el cerdo, se localizan en los músculos estriado y cardíaco, encéfalo, tejido subcutáneo y excepcionalmente en médula espinal. Es baja su frecuencia en vísceras⁵. En los rastros, donde se realiza la inspección sanitaria y diagnóstico *post-mortem*, se efectúa un corte en los músculos tríceps y ancóneo derechos; no siendo este sistema óptimo pues muchas infecciones leves pasan inadvertidas⁵.

8. TRATAMIENTO DE LA TENIASIS/CISTICERCOSIS

8.1. Tratamiento de la Teniasis

En general, se utilizan medicamentos cestocidas de los cuales los más utilizados en la actualidad son:

- Albendazol. Antihelmíntico de amplio espectro, actúa sobre nemátodos, cestodos y tremátodos ejerciendo su efecto al bloquear la captación de glucosa. Es de los medicamentos más potentes que existen siendo tolerado hasta en dosis de 10 mg/kg por 30 días. Se ha informado que es eficaz contra la cisticercosis porcina y bovina^{5,25}.

- Praziquantel. Indicado para el tratamiento de múltiples parasitosis, en particular, esquistosomiasis y teniasis por *Taenia solium*, en el de cisticercosis por el

metacóstodo de la *Taenia solium* en el hombre y el cerdo y por el de *Taenia saginata* y *Taenia ovis* en bovinos y ovinos respectivamente. Su eficacia es alta (96%) a dosis únicas de 5-10 mg/kg. No se aconseja administrar a pacientes sospechosos de neurocisticercosis o cisticercosis ocular^{5,89} a menos que se manejen apropiadamente para evitar efectos secundarios en SNC²⁵.

- Niclosamida. Actúa directamente en los segmentos o proglótidos de las tenias, los que se hacen susceptibles a la acción de las enzimas proteolíticas. Debido a que no tiene acción sobre los huevecillos, tiende a exponer al paciente a cisticercosis cuando son eliminados a la luz intestinal. Debe laxarse al paciente dos horas después de administrado el medicamento^{25,89}. Su eficacia, aunque teóricamente del 90%, puede bajar mucho por inestabilidad de la droga o producción inadecuada de la misma^{5,89}.

8.2. Tratamiento de la Cisticercosis Humana

El tratamiento de la cisticercosis humana puede ser sintomático, quirúrgico o químico.

- Sintomático: Enfocado al control de crisis convulsivas (anticonvulsivantes), cefalea (analgésicos), hipertensión intracraneana (esteroides y diuréticos) y alteraciones de conducta (psicodrogas).

- Quirúrgico: Depende de la localización y características anatomopatológicas de la cisticercosis

cerebral. Así, existen diferentes procedimientos que no siempre son la solución para el problema.

El más empleado por sus aparentes buenos resultados es la derivación de LCR hacia aurícula o peritoneo, aunque generalmente es necesario reintervenir porque el tubo de derivación se ocluye^{5,24,25}.

- Químico: Basados en la selección adecuada de los enfermos, mediante un preciso diagnóstico de todos los aspectos de la enfermedad, estos tratamientos han dado buenos resultados⁵.

Los medicamentos más frecuentemente utilizados son el Praziquantel (Pzq) y el Albendazol (Alb)^{5,25,40,50,66,70,76} todos con eficacia variable y aún con aspectos clínico-patológicos por aclarar.

B.3. Tratamiento de la Cisticercosis Porcina

Entre los medicamentos ensayados se cuentan el Alb^{5,25}, el Flubendazol⁷⁰, el Mebendazol⁵ y el Pzq^{10,10,80}. Con este último, Chavarría y col.¹⁰ lograron la destrucción completa de los parásitos musculares en cerdos infectados naturalmente al utilizar un protocolo de tratamiento de 50 mg/kg por 5 días. Esta misma dosis administrada por 15 días demostró ser efectiva para la destrucción de cisticercos cerebrales en el cerdo¹⁰. Recientemente, Flisser y col.⁸¹ evaluaron el efecto del medicamento tanto en el huésped como en el parásito utilizando 50 mg/kg/día de Pzq por 15 días. Los resultados obtenidos reconfirmaron el efecto deletéreo del tratamiento

sobre los parásitos.

Téllez Girón⁷⁴ utilizando Flubendazol, un medicamento comercialmente discontinuado, obtuvo una eficacia del 100% al tratar cerdos portadores de la infección.

9. PRAZIQUANTEL (Pzq)

Es un derivado de la pirazinoisoquinolina, sustancia cuya actividad antihelmíntica ha sido ampliamente demostrada desde 1972^{p, 18, 19, 22, 39, 41}. Seubert y col. sintetizaron el fármaco óptimo que resultó ser EMBAY B440 o Praziquantel 2-(ciclohexilcarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazin (2,1-aliso-quinolin-4-ona)^{18, 22}. Clínicamente es eficaz contra un amplio espectro de infecciones por céstodos y tremátodos en animales y humanos³⁹.

9.1. Propiedades

El PZQ es un polvo cristalino, inodoro e incoloro, de sabor amargo, estable por años a temperaturas ambientales; es soluble en solventes orgánicos e insoluble en el agua¹⁸. En su estructura química presenta un centro asimétrico en posición 11b, un grupo oxo en posición 4 esencial para el amplio espectro antihelmíntico, un grupo tioacil en posición 2 y un derivado acil-aromático (el benzoil) que es uno de los componentes más activos^{p, 39}.

9.2. Espectro de Acción

El PZQ es efectivo en todas las especies de

esquistosomiasis del ser humano y contra la mayoría de infecciones por céstodos que coexisten en los pacientes y en los animales. Esto es particularmente cierto para *Taenia solium*, *T. saginata*, *T. hydatigena*, *T. pisiformis*, *T. ovis*, *T. taeniaeformis*, *Dipylidium caninum*, *Mesocestoides corti*, *Echinococcus granulosus*, *Hymenolepis nana*, *Diphyllobothrium latum* y *D. pacificum*^{P. 13, 37, 39, 72, 73}.

Algunos estudios preliminares han indicado que la *Fasciola hepática* no es afectada por el Pzq a dosis bajas debido a la presencia de un tegumento grueso aunque otras especies del parásito sí lo son^{P. 10, 13, 39}.

9.3. Acción Antihelmíntica

El Pzq es rápidamente incorporado en forma reversible por los helmintos *in vitro*, pero no es metabolizado por los parásitos³⁹. Los sitios bioquímicos de acción del medicamento se desconocen¹³.

Algunas teorías se han propuesto para explicar dos fenómenos constantes observados tanto en tremátodos como en céstodos susceptibles a la droga. En su mínima concentración efectiva, provoca un incremento en la actividad muscular seguido de contracción y parálisis espástica^{13, 36, 39, 64}; este efecto, potencialmente reversible, podría ser la causa de que los parásitos pierdan su capacidad de fijación a los tejidos del huésped³⁹.

En concentraciones mayores, pero aún dentro de los

márgenes terapéuticos, el Pzq causa vacuolización y vesiculación del tegumento en los parásitos susceptibles. Si es suficientemente marcado este efecto, los eosinófilos del huésped se adhieren al tegumento, entran y lisan los tejidos del parásito y se activan los mecanismos de defensa llevando finalmente a la destrucción del parásito^{13, 20, 20, 64}.

Los dos eventos descritos ocurren muy rápidamente, requieren más o menos las mismas concentraciones de la droga y son dependientes del calcio externo. La permeabilidad de la membrana a los cationes divalentes está aumentada especialmente para el calcio^{9, 22, 25}, si éste se elimina del medio o se somete a un exceso de magnesio, desaparece la contracción muscular y la vacuolización del tegumento^{10, 22, 26}. Estos efectos inmediatos son consideradas como acciones primarias del PZQ, pero la droga también influye el metabolismo de carbohidratos en el parásito. La captación de glucosa es inhibida y así, disminuye el contenido de glucógeno^{13, 22}.

Tan importantes como los fenómenos ya mencionados, el Pzq además inhibe la producción de huevos en las hembras de esquistosomas a concentraciones relativamente bajas; obviamente se altera algún proceso fisiológico aunque su mecanismo se desconoce¹³.

9.4. Farmacocinética

El Pzq es muy efectivo cuando se administra a animales

de laboratorio por vía oral, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal mostrando disminución en su actividad cuando se utilizan las vías intravenosa e intranasal. Es efectivo igualmente cuando se aplica en forma tópica pero se requiere de altas dosis¹³.

La concentración máxima de Pzq es alcanzada en roedores, cánidos, primates y óvidos en un lapso de 30-60 minutos después de una dosis oral y su absorción es casi completa^{13, 27}; en el hombre, la concentración máxima se observa en el transcurso de 1-2 horas y la absorción oscila entre un 80 a 100%^{13, 22}. La rápida aparición del medicamento en la sangre permite asumir que se absorbe a partir del estómago completándose a nivel del intestino delgado^{P. 13, 22} por lo que las diferencias en las condiciones del vaciado gástrico y el pH pueden influir en la velocidad de absorción^{P. 13, 22, 60}.

El Pzq es metabolizado rápida e intensamente en el hígado y sólo un bajo porcentaje del medicamento intacto alcanza la circulación sistémica cuando se administra por vía oral¹³. Al llegar al hígado, vía vena porta, se biotransforma en sus derivados hidroxilados observándose variaciones en su efecto farmacológico. En términos generales, la concentración plasmática de la droga no metabolizada (el principio biológico activo) encontrada en la circulación sistémica es sólo alrededor de un 5% de su concentración total aunque a dosis muy elevadas puede incrementarse ésta al evadir la

biotransformación hepática⁴⁸.

En el plasma, la capacidad de unión del Pzq a las proteínas plasmáticas varía entre un 80 a 90% y su vida media se sitúa entre 60 y 90 minutos para la droga metabolizada^{22,7P}.

El medicamento no metabolizado atraviesa la barrera hematoencefálica y llega al LCR en 10 minutos, difícilmente pasa la barrera placentaria y no es secretado activamente en la leche de mujeres lactantes^{9,22,49,69}.

El medicamento es eliminado principalmente a través de los riñones aunque un pequeño porcentaje se encuentra en bilis y mucosa gastrointestinal^{40,45,72}. La eliminación renal es muy rápida, 60% en las primeras 8 horas y más del 90% a las 24 horas²².

9.5. Dosificación

En general, la dosis promedio utilizada para combatir infecciones por esquistosomas en el ser humano se sitúa entre los 20 y 50 mg/kg (dosis única) con la que se obtiene un porcentaje de curación cercano al 80% ante cualquier especie del parásito⁴⁸. Para el tratamiento de infecciones por cístodos adultos, se recomiendan dosis únicas entre 10 y 25 mg/kg^{3P}.

9.6. Toxicología

La toxicidad aguda es muy baja después de una administración oral o parenteral^{22,35}. La dosis letal (LD₅₀), por vía oral en roedores, se ubica entre 2000 y 4000 mg/kg o aún valores más altos cuando se divide la dosis en dos aplicaciones por vía subcutánea. Repetidas administraciones diarias a razón de 300 mg/kg en ratas, no revelaron efectos negativos sobre la fertilidad, parto, lactancia y desarrollo del recién nacido ni daños orgánicos cuando se evaluaron macro y microscópicamente^{18,22}.

En el ser humano, no se demuestran alteraciones fisiológicas, psicológicas, neurológicas, químicas, hematológicas e inmunológicas con dosis de 25 mg/kg. Pacientes infectados con algunos de los tremátodos y cístodos más grandes manifiestan dolor epigástrico, náusea (con vómito o diarrea) y cefalea de evolución transitoria con desaparición de los síntomas dentro de las 48 horas siguientes a la administración del medicamento^{18,22}.

Los estudios a largo plazo, incluyendo toxicidad crónica combinada y pruebas de carcinogenicidad, demostraron baja toxicidad sin detectar efectos carcinogénicos. El medicamento tampoco produjo acciones embriotóxicas o teratogénicas^{11,18,22,40,59}.

II. OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar el efecto sobre el huésped y el parásito de diferentes dosis de Pzq, administradas en un solo día, a cerdos parasitados naturalmente con el metacóstono de la *Taenia solium* mediante estudios hematológicos, serológicos y anatomo-patológicos.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

2.1. Comparar la reacción inflamatoria producida en el encéfalo con aquella del tejido muscular en los cerdos tratados con una dosis total de Pzq dividida en tres tomas en un solo día.

2.2. Conocer la cinética de la respuesta hematológica antes y después del tratamiento con Pzq.

2.3. Conocer la cinética de la respuesta inmune humoral antes y después del tratamiento con Pzq.

2.4. Determinar la sensibilidad y especificidad de la técnica de IET para detectar anticuerpos en cerdos con cisticercosis antes y después del tratamiento.

2.5. Determinar la sensibilidad y especificidad de la técnica del EIE para detectar anticuerpos en cerdos con cisticercosis antes y después del tratamiento.

III. HIPOTESIS

1. El tratamiento de la cisticercosis porcina, con dosis únicas de Pzq repartidas en un solo día, es altamente eficiente.
2. La dosis mayor de Pzq es más efectiva que la menor para el tratamiento de la cisticercosis porcina.
3. La respuesta inmune humoral, el perfil hematológico y los cambios histológicos de las larvas, son diferentes con las diversas dosis utilizadas.

IV. MATERIAL Y METODOS

1. ANIMALES EXPERIMENTALES

Se adquirieron 24 cerdos criollos, cuyas características se describen en el cuadro 1, criados en traspatio que tenían infecciones naturales por el metacéstodo de la *Taenia solium*. El diagnóstico de cisticercosis se realizó por medio de la inspección ocular y palpación de las superficies ventral y lateral de la lengua.

Se formaron, de manera aleatoria, 4 grupos, 3 experimentales y un testigo. La ambientación necesaria se cumplió en 3 semanas durante las cuales recibieron cuidados de tipo técnico e higiénico que incluyeron vacunación contra el cólera porcino y tratamiento con antibióticos, antipiréticos y antiinflamatorios para controlar infecciones bacterianas, cuando éstas se presentaron.

2. PROGRAMA DE DOSIFICACION DEL PRAZIQUANTEL (Pzq)

Una vez pesados los animales de cada grupo recibieron la dosis total correspondiente de Pzq (Cuadro 1). Dadas las características farmacocinéticas del medicamento, la dosis total fué administrada en tres tomas en un día para así lograr niveles plasmáticos constantes durante este tiempo.

El Pzq se administró mezclado con el alimento en forma de

"torta" de manera individual a cada animal, lográndose que lo ingirieran todo a pesar de su naturaleza amarga. Los animales del grupo 4 fueron testigos y no recibieron tratamiento.

3. TOMA DE MUESTRAS

Durante el transcurso de la fase experimental se obtuvieron de 7 a 10 ml de sangre de la vena cava anterior según la técnica descrita por Benjamin¹² los días -3 (previos al tratamiento), 3, 10, 17, 26 y 34 postratamiento (T₁, T₂, T₃, T₄, T₅ y T₆). Se utilizaron 2 ml para estudio hematológico y el resto para la obtención de suero.

4. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

4.1. Pruebas hematológicas

Los 2 ml de sangre para estudio hematológico fueron transferidos a frascos de vidrio que contenían EDTA como anticoagulante para realizar las determinaciones de hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas y cuentas totales y diferenciales de leucocitos de acuerdo con las técnicas descritas por Schalm⁶⁸ y Benjamin¹². Para la interpretación de los resultados, se tomaron como referencia los valores considerados normales en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (MVZ Rosa M. Gordillo, comunicación personal).

4.2. Pruebas Inmunológicas en suero sanguíneo

Los 8 ml de sangre sin anticoagulante se mantuvieron a temperatura ambiente, una vez formado el coágulo se procedió a centrifugar cada muestra a 2000 rpm por 20 minutos. El suero obtenido se conservó a temperatura de -20°C hasta su utilización.

CUADRO No. 1 DISTRIBUCION Y CARACTERISTICAS DE LOS ANIMALES INCLUIDOS EN EL EXPERIMENTO

No. cerdo	No. grupo	doais	sexo	peso (kg)	edad (meses)
1	1	100 mg/kg	H	60	14
2	1	100 mg/kg	H	60	12
3	1	100 mg/kg	M	20	5
4	1	100 mg/kg	M	20	5
5	1	100 mg/kg	H	20	6
6	1	100 mg/kg	M	20	6
7	2	50 mg/kg	H	60	15
8	2	50 mg/kg	H	60	14
9	2	50 mg/kg	H	65	8
10	2	50 mg/kg	H	25	5
11	2	50 mg/kg	H	25	6
12	2	50 mg/kg	M	25	6
13	3	25 mg/kg	H	40	8
14	3	25 mg/kg	M	57	14
15	3	25 mg/kg	H	81	14
16	3	25 mg/kg	M	20	5
17	3	25 mg/kg	M	20	5
18	3	15 mg/kg	M	25	6
19	4	0 mg/kg	H	70	8
20	4	0 mg/kg	M	55	6
21	4	0 mg/kg	M	20	6
22	4	0 mg/kg	H	20	6
23	4	0 mg/kg	M	40	10
24	4	0 mg/kg	M	16	5

4.2.1. Ensayo Inmunoenzimático (EIE)

Para la detección de Ac fué utilizado el EIE adaptado por Plancarte y col.⁵⁵ con algunas modificaciones: como

antígeno se utilizó un extracto crudo de larvas de *Taenia solium* a partir de cisticercos extirpados de músculos de cerdos infectados. En todas las larvas se eliminó el líquido vesicular; las paredes y los escólices fueron homogenizados en una solución salina 0.15 M amortiguada con fosfatos 0.01M, a pH 7.2 (PBS) conteniendo KCl 3M durante toda la noche manteniéndose en agitación ligera a 4°C. El homogenizado se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos a 4°C y se dializó contra PBS. Posteriormente se volvió a centrifugar a 20000 rpm. El sobrenadante se ajustó a 15 mg/ml de proteína y fue almacenado a -20°C hasta su utilización²⁶.

Se dializaron 50 µg/ml de proteína de extracto crudo del parásito en amortiguador de carbonatos a pH 9.2 y se sensibilizaron pozos (Inmuolón-Dynatech) con 100 µl por pozo incubándose durante toda la noche a 4°C. Se lavaron los pozos 3 veces con 200 µl de PBS con 0.05% de Tween-20 durante 5 minutos cada vez.

Se realizaron incubaciones de 2 horas a 37°C con 100 µl/pozo de las siguientes muestras y reactivos intercaladas con 3 lavados: suero sin diluir, conjugado de anti-IgG cerdo marcado con fosfatasa alcalina (Sigma) a la dilución de 1:500 y p-nitrofenilfosfato de sodio (Sigma), sustrato de la fosfatasa alcalina (este último se incubó 15 minutos). Se procedió a la lectura inmediatamente y se obtuvieron los valores de absorbancia en un elisómetro a 405 nm. En cada uno de los ensayos se incluyeron 4

controles negativos y todas las muestras se trabajaron por duplicado.

Inicialmente se definió punto de corte para distinguir los animales infectados del resto de los individuos. Para esto, se estudiaron por EIE 18 muestras de cerdos sin cisticercosis obtenidas en la granja experimental de Zapotitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El promedio aritmético de los valores de absorbancia de los sueros de estos cerdos más tres veces su desviación estandar fue considerado como punto de corte⁸⁰, todos los animales con valor igual o superior se consideraron positivos.

4.2.2. Prueba de Inmunolectrotransferencia (IET)

El segundo método utilizado para la búsqueda de Ac fue la IET descrita por Tsang y col.⁷⁴ que a continuación se describe con las modificaciones correspondientes: Las tiras diagnósticas de membrana de nitrocelulosa con los antígenos glicoproteicos específicos para *T. solium* ya adsorbido utilizadas en esta prueba, fueron amablemente proporcionadas por la Dra. Marianna Wilson del CDC de Atlanta, Ga., EUA. El suero fue diluido en una solución al 5% de leche en polvo descremada (Nestlé) en PBS-Tween⁷⁵.

En placas de Accutran (Schleicher y Schuell) se incubaron las tiras con 0.5 ml de suero a 4°C en agitación permanente toda la noche y luego se lavó 5 veces a intervalos

de 5 minutos entre lavado y lavado con PBS-Tween. Después se agregó Proteína A-peroxidasa 1:1000 (Sigma) en PBS-Tween y se incubó 1 h a temperatura ambiente, se lavó nuevamente 5 veces con la solución de PBS-Tween y 2 veces con PBS sin Tween. Se reveló con solución de 50 mg/ml de 3-3'-diaminobenzidina -DAB- (Sigma) y para detener la reacción se agregó PBS.

Los sueros negativos se obtuvieron de animales sanos en la granja experimental de Zapotitlán, UNAM. El criterio diagnóstico en la prueba de IET es el reconocimiento de al menos una de las 7 bandas específicas para cisticercosis que se manifieste en las tiras diagnósticas.

4.3. Estudio Anatómo-patológico

Se efectuó sacrificio por electrochoque a todos los animales a los 30 días a partir de haber ingerido el Pzq.

Una vez realizada la necropsia detallada de los animales, según técnica descrita por Aluja⁷, los cisticercos se clasificaron en transparentes, turbios y en forma de granos de arroz (Aluja, comunicación personal), de acuerdo únicamente a su apariencia macroscópica. Las larvas fueron medidas y extraídas de los tejidos y se sometieron a la prueba de evaginación *in vitro* utilizando 25% de bilis de bovino en RPMI (Gibco) según técnica adaptada por Correa y col.²⁰ para clasificarlos en viables y no viables.

En todos los animales se tomaron muestras de músculo estriado y corazón con larvas, se fijaron en formalina al 10% amortiguada a pH 7.2. Los encéfalos fueron extraídos y se colocaron sobre una capa de algodón en recipientes de vidrio donde permanecieron por un mínimo de 40 días inmersos en la formalina amortiguada hasta su completa fijación. Una vez lograda, fueron cortados coronalmente en rebanadas de 4 mm mediante el uso de una rebanadora eléctrica para carnes frías y se tomaron muestras con larvas para el estudio microscópico.

Para el estudio histológico, las muestras se incluyeron en parafina y se obtuvieron cortes de 5 μ m de grosor, los que se tizaron con hematoxilina-eosina⁴⁷. Se realizaron cortes seriados en algunos bloques con el fin de estudiar la reacción inflamatoria precisa alrededor de los parásitos. La evaluación histológica se fundamentó en los criterios descriptivos basados en la clasificación ordinal de 7 grados propuesta por Aluja y Vargas⁴.

5. ANALISIS ESTADISTICO

Para el análisis de los resultados obtenidos sobre la viabilidad de los cisticercos se emplearon las técnicas para tablas 2 x 2 adaptada por Navarro⁵⁰. Para la clasificación de Aluja y Vargas⁴ se aplicó la prueba de Ji-cuadrada para independencia entre dos variables nominales.

La evaluación de las mediciones realizadas en las muestras de sangre se hizo mediante un análisis de regresión en el que se incluyó el efecto de dosis y tiempo, en forma lineal, cuadrática y cúbica. Además se hizo una comparación de pendientes en el tiempo, a fin de estudiar si el efecto cronológico tiene la misma tendencia en las distintas dosis aún cuando pudiera ser de mayor magnitud en las dosis más elevadas.

V. RESULTADOS

1. ANIMALES EXPERIMENTALES

Al inicio de la fase experimental se presentó un brote de cólera porcino en el grupo testigo, que ocasionó la muerte de 4 de los 6 animales, motivo por el cual sólo pudieron efectuarse los estudios serológicos y hematológicos en los dos animales sobrevivientes, sin embargo los tejidos de los cerdos muertos se aprovecharon para la evaluación histológica por considerarse que los resultados no se verían afectados por el proceso viral.

En el estudio anatomo-patológico, el cerdo 17 no mostró evidencia de infección por cisticercos, de tal forma que sus resultados hematológicos y serológicos no se consideraron para el análisis estadístico.

2. PRUEBAS HEMATOLOGICAS

2.1. HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO

En los grupos tratados, los valores se mantuvieron dentro de los límites normales sin cambios significativos entre ellos.

En el grupo 1, al inicio del experimento se manifestó un cuadro anémico que fue superado al día 10 de iniciada la prueba, conservándose dentro de límites normales por el tiempo restante (Fig. 1).

2.2. PROTEINAS PLASMATICAS

No se observaron alteraciones en los valores normales de proteínas plasmáticas (Fig. 1).

2.3. LEUCOCITOS

Al inicio del experimento, el número total de leucocitos se encontró con valores muy cercanos al límite normal superiores en los grupos tratados observándose un aumento inmediatamente después de administrado el Pzq.

Los grupos 1 y 2 regresaron a números normales entre los 8 y 13 días postratamiento, mientras que en el grupo 3 esto ocurrió a los 28 días (Fig. 2).

En el grupo 4 se observaron valores altos al inicio de la prueba, los que disminuyeron progresivamente conforme se desarrolló el proyecto hasta obtener valores normales al día 34.

La tendencia en los valores de los leucocitos tuvo diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en relación con los días transcurridos del experimento y diferencias significativas ($P < 0.05$) en relación con las dosis administradas.

2.4. RECUENTO DIFERENCIAL

2.4.1. Neutrofilos

En todos los grupos tratados se encontraron valores superiores al normal en diferentes momentos del ensayo aunque de distinta intensidad. Este aumento fué especialmente evidente en el grupo 3 que presentó valores altos al día 17

de administrado el Pzq, posteriormente los números descendieron alcanzando valores normales a partir del día 23.

Los grupos 1 y 2 se comportaron de manera semejante pues el aumento fué observado entre los días 19 y 24 en el primer grupo y entre los días 18 y 28 en el segundo aunque los valores fueron ligeramente superiores en el último. En el grupo 1 se observaron valores subnormales al final de la prueba (Fig. 2).

En el grupo testigo, el aumento en los valores fué evidente al inicio del proyecto con duración aproximada de 16 días; transcurrido este tiempo, los valores se hicieron normales y se mantuvieron así hasta finalizada la prueba.

La variación del número de neutrófilos fué altamente significativa ($P < 0.01$) en relación a los días del proyecto y significativa ($P < 0.05$) a las dosis administradas.

2.4.2. Neutrofilos en banda

Todos los grupos se mantuvieron en los límites considerados normales durante casi todo el tiempo transcurrido en el experimento, excepto en el grupo 1 en el que se encontró aumento no significativo en los valores entre los días 20 a 23 postratamiento (Fig. 2).

2.4.3. Eosinofilos

En los grupos 2 y 4 se encontraron valores altos de eosinófilos a partir del día 18 de iniciado el proyecto. Los valores se normalizaron dentro de los 5 días siguientes y así se mantuvieron hasta el final cuando se hizo evidente un

nuevo aumento en las cifras. En los grupos 1 y 3 los valores fueron siempre normales (Fig. 2).

Se encontró diferencia altamente significativa entre los grupos ($P < 0.01$), y diferencia significativa ($P < 0.05$) respecto a los días y a la interacción dosis-día.

2.4.4. Linfocitos

Al inicio del proyecto se observaron valores superiores al límite normal en todos los grupos. En los grupos 1 y 2, las cifras se normalizaron a los 10 días de administrado el Pzq mientras que en los grupos restantes fué al día 30 (Fig. 3).

Se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) cuando se compararon los valores de linfocitos con los días transcurridos del proyecto.

2.4.5. Monocitos

En todos los grupos se encontraron valores inferiores al límite normal en diferentes momentos del proyecto recuperándose las cifras consideradas normales al final de éste. Los descensos en los valores se encontraron después de realizado el tratamiento (Fig. 3).

La tendencia de los valores de los monocitos tuvo diferencias significativas ($P < 0.05$) en relación a las dosis administradas y a la interacción dosis-día.

2.4.6. Basofilos

Sin alteraciones en sus valores normales (Fig. 3).

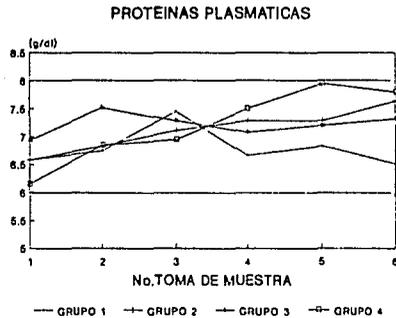
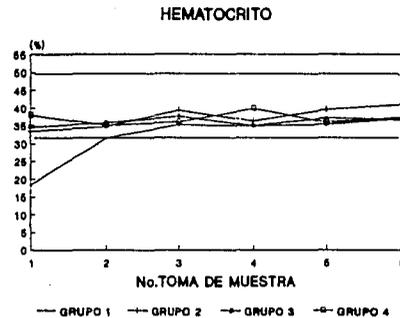
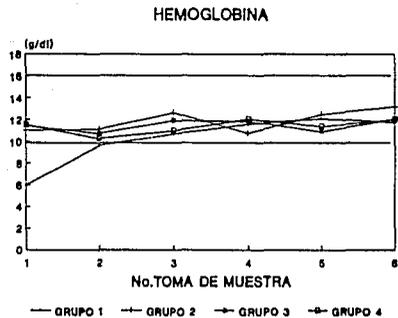
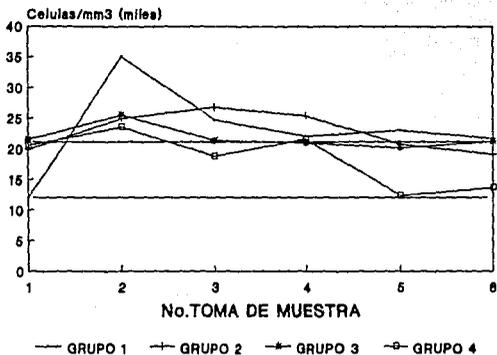
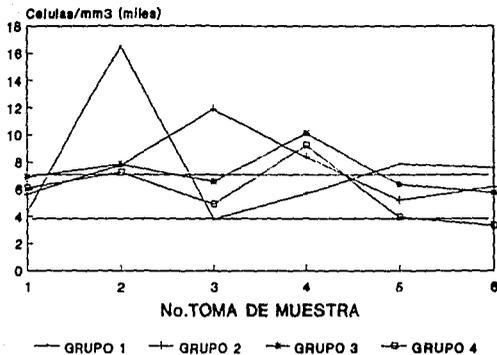


FIGURA 1. VALORES DE HEMOGLOBINA, HEMATOCRITO Y PROTEINAS PLASMATICAS OBTENIDOS DURANTE LA PRUEBA

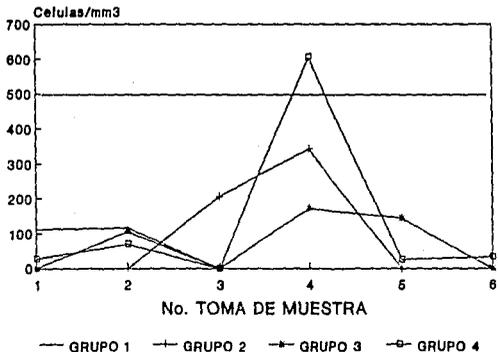
LEUCOCITOS



NEUTROFILOS



BANDAS



EOSINOFILOS

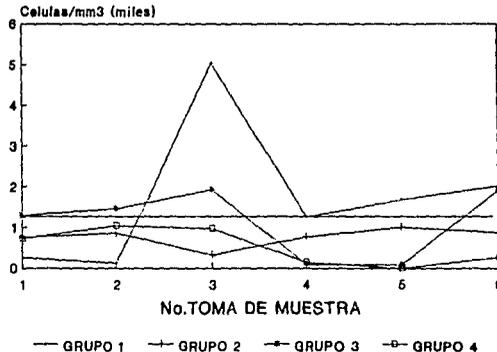


FIGURA 2. VALORES DE LEUCOCITOS, NEUTROFILOS, NEUTROFILOS EN BANDA Y EOSINOFILOS OBTENIDOS DURANTE LA PRUEBA

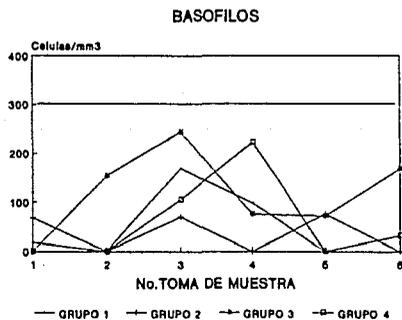
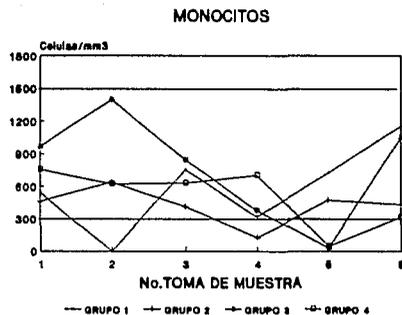
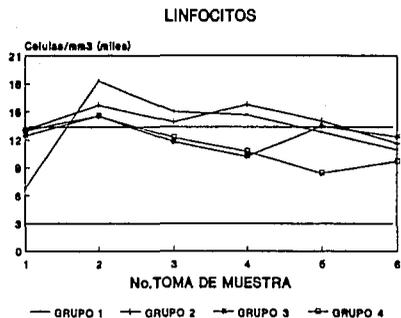


FIGURA 3. VALORES DE LINFOCITOS, MONOCITOS Y BASOFILOS OBTENIDOS DURANTE LA PRUEBA

3. PRUEBAS SEROLOGICAS

3.1. ENSAYO INMUNOENZIMATICO (EIE)

El punto de corte a 405 nm fué de 0.258 establecido a partir del análisis de 18 sueros. Todos los animales utilizados dieron valores positivos en por lo menos una de las pruebas realizadas, aunque su comportamiento, en general, fué irregular. En el Cuadro 2 se presentan los valores de absorbancia luego de promediarse las dos lecturas obtenidas de cada suero.

3.1.1. Grupo 1

En todos los animales se detectó aumento en el valor de absorbancia posterior al tratamiento y disminución gradual de los títulos conforme el paso de los días. Los cerdos 1, 2, 3 y 5 alcanzaron su máximo valor al día 10, el cerdo 4 lo hizo al día 3 postratamiento. El cerdo 6 fué positivo únicamente al día 10 de administrado el medicamento (Fig.4).

3.2.1. Grupo 2

Los cerdos 7, 8, 10, 11, y 12 tuvieron su máximo valor el día 10 postratamiento, después los títulos descendieron en forma diferente para cada animal. El cerdo 9 disminuyó sus títulos desde el inicio del tratamiento y se hizo negativo a partir del día 26 (Fig. 14).

3.1.3. Grupo 3

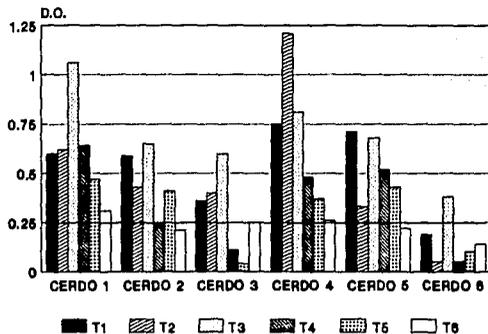
En los cerdos 13, 14, 15, 17 y 18 el valor máximo de absorbancia se observó al día 3 postratamiento en el primero y al día 10 en los restantes, después los títulos disminuyeron hasta hacerse negativos al final de la prueba. En el cerdo 15 se encontraron valores positivos intercalados con valores negativos. El cerdo 18 fué negativo en la mayor parte del estudio excepto al día 10 en donde, como ya se mencionó, obtuvo su título más alto.

En el cerdo 16 se encontró descenso gradual de los títulos desde la muestra pretratamiento y se hizo negativo a partir del día 10 (Fig. 4).

3.1.4. Grupo 4

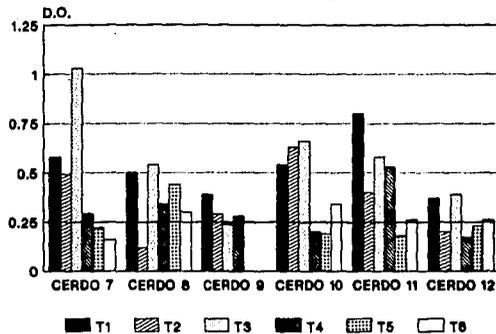
Todas las muestras analizadas en los dos cerdos sobrevivientes fueron positivas excepto en un valor negativo para cada animal durante el transcurso del experimento (Fig.4).

EIE
valores de absorbancia



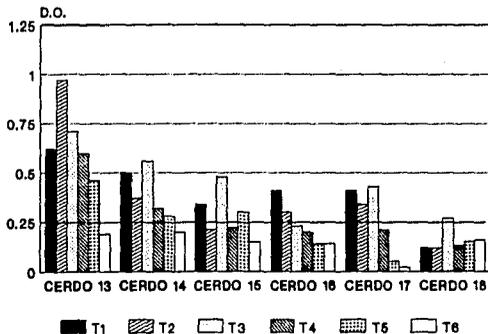
grupo 1. 100 mg/kg

EIE
valores de absorbancia



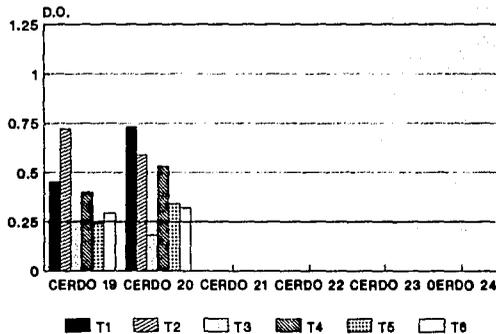
grupo 2. 50 mg/kg

EIE
valores de absorbancia



grupo 3. 25 mg/kg

EIE
valores de absorbancia



grupo 4. 0 mg/kg

FIGURA 4. VALORES DE DENSIDAD OPTICA (D.O.) OBTENIDOS EN LOS SUEROS DE LOS ANIMALES UTILIZADOS EN LA PRUEBA

CUADRO No. 2. VALORES DE ABSORBANCIA OBTENIDOS EN CADA UNO DE LOS SUEROS DE CERDOS TRATADOS Y NO TRATADOS CON UNA DOSIS DE Pzq.

No. CERDO	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	.002	.021	1.061	.045	.474	.315
2	.595	.434	.035	.241	.410	.218
3	.366	.404	.008	.117	.049	.252
4	.753	1.219	.810	.484	.375	.208
5	.713	.331	.085	.528	.431	.222
6	.199	.054	.384	.056	.105	.147
7	.588	.495	1.031	.291	.225	.164
8	.502	.124	.541	.343	.441	.306
9	.391	.293	.246	.289	.007	.000
10	.542	.632	.666	.202	.166	.345
11	.804	.401	.533	.537	.131	.266
12	.374	.201	.393	.171	.237	.265
13	.021	.975	.715	.605	.465	.196
14	.509	.379	.561	.322	.288	.200
15	.340	.211	.435	.222	.300	.156
16	.413	.301	.237	.207	.143	.140
17	.413	.345	.434	.219	.053	.021
18	.121	.120	.275	.132	.153	.167
19	.452	.723	.259	.401	.254	.292
20	.738	.599	.181	.531	.342	.321

T1: 3 días pretratamiento

T4: 17 días postratamiento

T2: 9 días postratamiento

T5: 26 días postratamiento

T3: 10 días postratamiento

T6: 34 días postratamiento

3.2. PRUEBA DE INMUNOELECTROTRANSFERENCIA (IET)

El perfil serológico mediante la prueba de IET se determinó mediante el análisis de 86 sueros provenientes de la mayor parte de los cerdos utilizados en el proyecto y 4 sueros de animales libres de la infección por cisticercos. No pudieron ser analizadas todas las muestras ante la carencia

de suficientes tiras diagnósticas.

Se encontró que de los 20 animales en los que se logró la serie completa de muestras, en todos fueron evidentes las bandas diagnósticas, excepto en el cerdo 17.

En la Fig. 5 se muestran las tiras diagnósticas con las bandas donde se hace aparente la homogeneidad en la respuesta de cada cerdo. Todos los sueros positivos reaccionaron con más de una banda. Cerca de la mitad lo hicieron con tres y cuatro bandas de las 7 reconocidas como diagnósticas por Tsang y col.⁷⁰. En el 16% de los sueros se observaron las 7 bandas.

En la Fig. 6 se muestra el número de bandas reconocidas por cada cerdo en las diferentes muestras antes y después del tratamiento.

En el Cuadro 3 se observa la frecuencia del número de bandas reconocidas por los diferentes sueros analizados en los cerdos tratados y no tratados con Pzq.

CUADRO No. 3 FRECUCENCIA DEL RECONOCIMIENTO DE LAS BANDAS POR GRUPOS.

No. GRUPO	No. DE SUEROS					
	2	3	4	5	6	7
1	5	5	7	3	0	0
2	5	3	0	2	5	0
3	5	6	2	3	1	3
4	0	3	2	1	1	5

Las bandas de los antígenos glicoproteicos (GP) más frecuentemente reconocidas correspondieron a GP 50 y GP 42-39. En el Cuadro 4 se observa la clase de bandas reconocidas en cada uno de los sueros analizados.

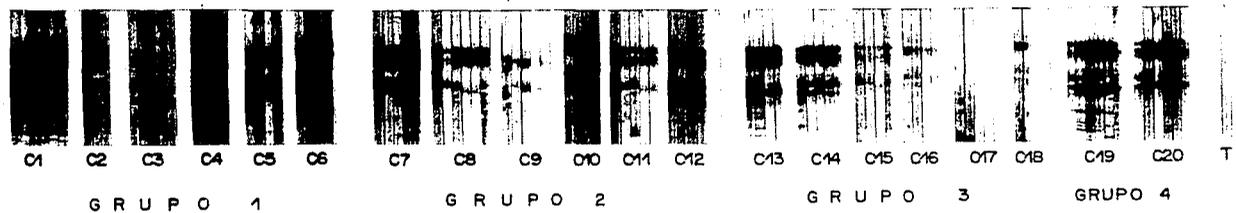
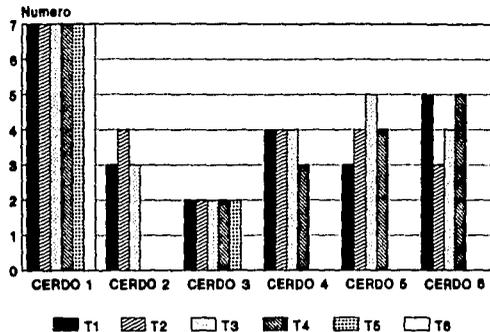


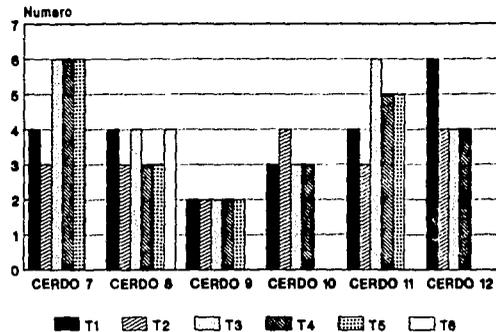
FIGURA 5. ENSAYO DE IMMUNOELECTROTRANSFERENCIA EN LOS GRUPOS TRATADOS (1, 2 y 3), NO TRATADO (4) Y LIBRES DE INFECCION (T)

IET
No. bandas reconocidas



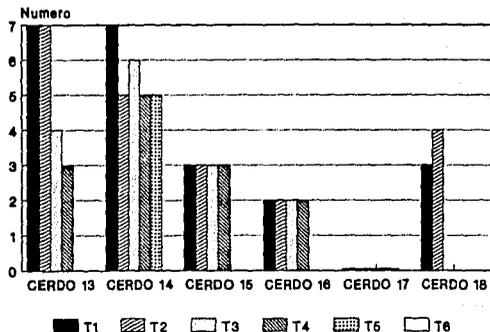
GRUPO 1. 100 mg/kg

IET
No. bandas reconocidas



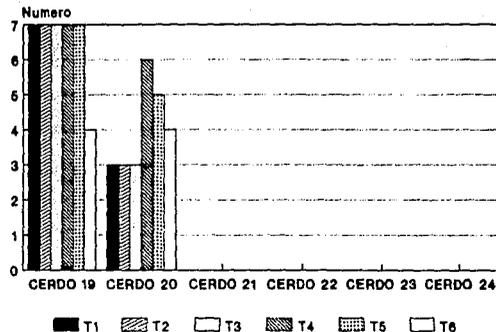
grupo 2. 50 mg/kg

IET
No. bandas reconocidas



grupo 3. 25 mg/kg

IET
No. bandas reconocidas



grupo 4. 0 mg/kg

FIGURA 6. NUMERO DE BANDAS RECONOCIDAS POR LOS SUEROS DE LOS ANIMALES UTILIZADOS EN LA PRUEBA

CUADRO No. 4. BANDAS DE GLICOPROTEINAS (GP) ANTIGENICAS RECONOCIDAS EN LOS DIFERENTES SUEROS DE CERDOS TRATADOS Y NO TRATADOS CON Pzq.

No.	CERDO	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1		GP50	GP50	GP50	GP50	GP50	GP50
		GP42	GP42	GP42	GP42	GP42	GP42
		GP24	GP24	GP24	GP24	GP24	GP24
		GP21	GP21	GP21	GP21	GP21	GP21
		GP18	GP18	GP18	GP18	GP18	GP18
		GP14	GP14	GP14	GP14	GP14	GP14
		GP13	GP13	GP13	GP13	GP13	GP13
2		GP50		GP50			GP50
		GP42		GP42			GP42
		GP24		GP24			GP24
				GP21			
3		GP42	GP42	GP42	GP42		GP42
		GP21	GP21	GP21	GP21		GP21
4		GP50	GP50	GP50	GP50		
		GP42	GP42	GP42	GP42		
		GP24	GP24	GP24	GP24		
		GP21	GP21	GP21			
5		GP50	GP50	GP50		GP50	
		GP42	GP42	GP42		GP42	
		GP24	GP24	GP24		GP24	
			GP21	GP21		GP21	
				GP13			
6		GP50	GP50	GP50			GP50
		GP42					GP42
		GP24	GP24	GP24			GP24
		GP21	GP21	GP21			GP21
		GP14		GP14			GP14

CUADRO No. 4. Continuacion

No.	CERDO	T1	T2	T3	T4	T5	T6
7		GP50	GP50	GP50	GP50	GP50	
		GP42	GP42	GP42	GP42	GP42	
		GP24	GP24	GP24	GP24	GP24	
		GP21		GP21	GP21	GP21	
				GP18	GP18	GP18	
8		GP50	GP50	GP50	GP50	GP50	GP50
		GP42	GP42	GP42	GP42	GP42	GP42
		GP24	GP24	GP24	GP24	GP24	GP24
		GP21		GP21			GP21
9		GP42	GP42	GP42	GP42	GP42	
		GP24	GP24	GP24	GP24	GP24	
10		GP50	GP50	GP50	GP50		
		GP24	GP24	GP24	GP24		
		GP21	GP21	GP21	GP21		
			GP18				
11		GP50	GP50	GP50	GP50	GP50	
		GP42	GP42	GP42	GP42	GP42	
		GP21	GP21	GP21	GP21	GP21	
		GP18		GP18			
				GP14	GP14	GP14	
12		GP50	GP50	GP50			GP50
		GP42	GP42	GP42			GP42
		GP21	GP21	GP21			GP21
		GP18	GP18	GP18			GP18
		GP14					
	GP19						

CUADRO No. 4. Continuación

No. CERDO	T1	T2	T3	T4	T5	T6
13	GP50	GP50		GP50	GP50	
	GP42	GP42		GP42	GP42	
	GP24	GP24				
	GP21	GP21		GP21	GP21	
	GP18	GP18				
	GP14	GP14				
	GP13	GP13		GP13		
14	GP50	GP50	GP50	GP50	GP50	
	GP42	GP42	GP42	GP42	GP42	
	GP24	GP24	GP24	GP24	GP24	
	GP21	GP21	GP21	GP21	GP21	
	GP18					
	GP14		GP14			
	GP13	GP13	GP13	GP13	GP13	
15	GP50		GP50	GP50	GP50	
	GP42		GP42	GP42	GP42	
	GP24		GP24	GP24	GP24	
16	GP50	GP50	GP50		GP50	GP50
	GP24	GP24	GP24		GP24	GP24
17	0	0	0	0	0	
18			GP50	GP50		
			GP24	GP24		
			GP21	GP21		
			GP18			

CUADRO No. 4. Continuacion

No. CERDO	T1	T2	T3	T4	T5	T6
19	OP50	OP50	OP50	OP50	OP50	OP50
	OP42	OP42	OP42	OP42	OP42	OP42
	OP24	OP24	OP24	OP24	OP24	
	OP21	OP21	OP21	OP21	OP21	OP21
	OP18	OP18	OP18	OP18	OP18	OP18
	OP14	OP14	OP14	OP14	OP14	
	OP13	OP13	OP13	OP13	OP13	
20	OP50	OP50	OP50	OP50	OP50	OP50
	OP42	OP42	OP42	OP42	OP42	OP42
				OP24	OP24	
	OP21	OP21	OP21	OP21	OP21	OP21
				OP18		
				OP13	OP13	OP13

T1: toma de muestra No. 1, pre tratamiento

T2: toma de muestra No. 2, 3 dias postratamiento

T3: toma de muestra No. 3, 10 dias postratamiento

T4: toma de muestra No. 4, 17 dias postratamiento

T5: toma de muestra No. 5, 26 dias postratamiento

T6: toma de muestra No. 6, 34 dias postratamiento

Nota: Los espacios en blanco corresponden a muestras no analizadas.

4. ESTUDIO ANATOMO-PATOLOGICO

4.1. PATOLOGIA MACROSCOPICA

En general, los cerdos estaban multiparasitados y se encontraron diversos aspectos en la apariencia de las larvas independientemente de la dosis recibida de Pzq. En el Cuadro 5 se enumeran los diferentes aspectos macroscópicos de cisticercos musculares encontrados en los grupos. En tres animales (cerdos 2, 3 y 17) no se detectaron larvas musculares durante el examen macroscópico.

El tamaño medio de los cisticercos musculares de forma vesicular fué de 1.1 cm de largo por 0.5 cm de ancho con un rango de 1.8 x 0.8 cm obtenido a partir de 240 mediciones.

Al realizarse el análisis estadístico, se encontró diferencia altamente significativa cuando se evaluó la frecuencia de cisticercos en forma de grano de arroz en los grupos ($P < 0.01$), pero no en las otras formas ($P > 0.05$).

En los animales pertenecientes al grupo testigo muertos por el brote de cólera se encontraron las lesiones características de la enfermedad, descritas por Jubb y Kennedy⁴³.

CUADRO No. 5. ASPECTO MACROSCÓPICO DE CISTICERCOS MUSCULARES HALLADOS EN CADA UNO DE LOS CERDOS TRATADOS Y NO TRATADOS CON Fiq.

No. GRUPO	No. CERDOS	No. DE CERDOS CON CISTICERCOS			
		transparentes	turbios	arroz	ausentes
1	6	3	3	2	2
2	6	3	3	5	0
3	6	4	3	5	1
4	6	6	5	0	0

Los cortes coronales mostraron que los encéfalos estaban multiparasitados excepto en seis animales; tres de ellos (cerdos 16, 17 y 24) en los que no se encontraron larvas y otros tres (cerdos 2, 8 y 9) que sólo tuvieron un cisticerco parenquimatoso. El cuadro ó muestra el número total de cisticercos encontrados en el encéfalo de todos los cerdos con su respectiva localización anatómica.

CUADRO No. 6. NUMERO TOTAL Y LOCALIZACION ANATOMICA DE LOS CISTICERCOS CEREBRALES ENCONTRADOS EN LOS CERDOS TRATADOS Y NO TRATADOS CON Pzq.

No. CERDO	No. LARVAS	LOCALIZACION		
		P	M	V
1	13	7	4	2
2	1	1	0	0
3	4	4	0	0
4	10	9	1	0
5	27	27	0	0
6	5	5	0	0
7	28	17	11	0
8	1	1	0	0
9	1	1	0	0
10	1	0	1	0
11	2	2	0	0
12	11	11	0	0
13	35	26	9	0
14	8	8	0	0
15	42	35	7	0
16	0	0	0	0
17	SIN INFECCION			
18	7	7	0	0
19	14	11	3	0
20	2	2	0	0
21	19	11	8	0
22	19	17	2	0
23	46	42	4	0
24	0	0	0	0

P= parenquimatoso

M= meningeo

V= ventricular

El aspecto macroscópico de los cisticercos cerebrales fué homogéneo, la mayoría tuvo forma vesicular, escolex redondo y blanco. El tamaño promedio fué de 0.7 de largo x 0.4 cm de ancho con un rango de 1.2 x 0.8 cm obtenido de 185 mediciones realizadas. En aquellos encéfalos en que sólo se encontró un cisticerco (cerdos 2, 3 y 9), el tamaño de éste fué superior al promedio encontrado en las larvas de los encéfalos multiparasitados. No se observaron alteraciones morfológicas en los encéfalos excepto en un caso (cerdo 5), en el que se encontró hidrocefalia con ligera deformación ventricular. De igual manera, en un solo caso (cerdo 1) se encontraron dos cisticercos ventriculares.

4.1.1. Prueba de Evaginación *in vitro*

Se encontró que el porcentaje de cisticercos viables fué inferior en todos los grupos tratados en comparación con el grupo testigo ($P < 0.05$). En el grupo 3 se presentaron los niveles más bajos de evaginación (Cuadro 7). En la Figura 7 se observa el comportamiento de la prueba en cada uno de los cerdos en los que se llevó a cabo ésta.

CUADRO 7. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE EVAGINACION REALIZADA EN CISTICERCOS DE CERDOS TRATADOS Y NO TRATADOS CON Fzq.

No. GRUPO	CISTICERCOS		X VIALES
	No. ensayado	No. evaginados	
1	115	25	22%
2	240	52	22%
3	175	17	10%
4	120	73	61%

* La proporción de cisticercos viables fue significativamente mayor en el grupo testigo ($P < 0.05$)

EVAGINACION in vitro

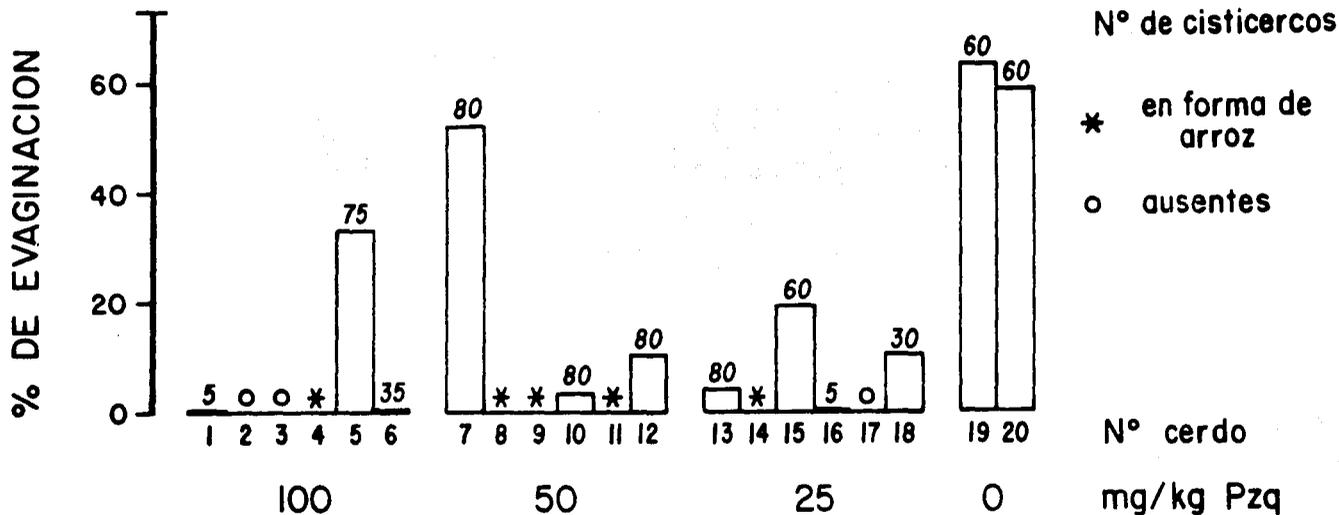


FIGURA 7. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA DE EVAGINACION

4.2. PATOLOGIA MICROSCOPICA

Mediante el estudio histopatológico basado en la clasificación de Aluja y Vargas (1988) se logró establecer la reacción inflamatoria y los grados de degeneración de los parásitos musculares y cerebrales. Los resultados obtenidos en esta evaluación se muestran en el Cuadro 8.

4.2.1. Grupo 1

Se encontraron todos los estadios evolutivos en las larvas musculares con mayor porcentaje en el grado 5 (47.8%), más de la mitad de los cisticercos evaluados se encontraron en grados 4, 5 y 6 (57.8%) mientras que un 20.2% se hallaron en grado 2 (Fig.8).

En dos animales (cerdos 2 y 3) se encontró únicamente infiltrado por linfocitos y eosinófilos, y aún al hacerse la revisión de cortes seriados no se hallaron vestigios de estructuras que correspondieran a cisticercos.

En el estudio de los parásitos cerebrales, el mayor porcentaje de éstos se encontró en el grado 3 (67.2%) y no se hallaron larvas en grados 0 y 1 (Fig. 8). En un caso (cerdo 5) se observó vasculitis grave con hialinización de la capa adventicia.

4.2.2. Grupo 2

El mayor porcentaje de cisticercos musculares (42.6%) se encontró en grado 5, el 92.0% del total de larvas estudiadas se halló en grados 3, 4 y 5. No se encontraron cisticercos en los grados 1 y 6 (Fig.8).

En el estudio de cisticercos cerebrales, se encontró el mayor porcentaje (72.5%) en grado 3 y no se hallaron larvas en los grados 0, 1, 5 y 6 (Fig. 8).

4.2.3. Grupo 3

En la evaluación de los cisticercos musculares se encontraron todos los estadios de degeneración con mayor porcentaje en el grado 5 (42.6%). Más de la mitad de los parásitos estudiados (79.1%) se hallaron en los grados 3 y 5 (Fig. 9).

El mayor número de cisticercos cerebrales (80%) se encontró en grado 3 y no se hallaron larvas en grados 5 y 6 (Fig. 9).

En el cerdo 17 se observó metaplasia cartilaginosa en lengua sin establecerse su etiología.

4.2.4. Grupo 4

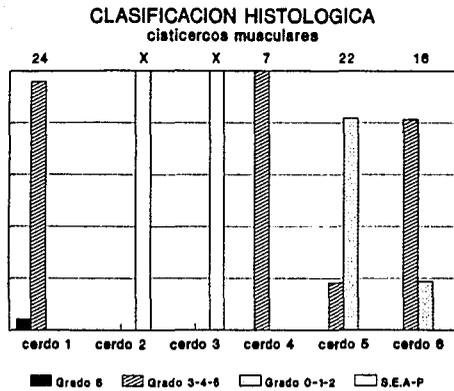
El mayor porcentaje de cisticercos musculares se encontró en grados 0 y 1 (39.6% para cada uno) y no se hallaron grados 4, 5 y 6 (Fig. 9).

En la evaluación de cisticercos cerebrales se encontró el mayor porcentaje de larvas en el grado 1 (47.7%) y tal como ocurrió en músculo, no se hallaron grados 4, 5 y 6 (Fig. 9).

CUADRO No. 8. CLASIFICACION ORDINAL DEL ASPECTO HISTOPATOLOGICO DE CISTICERCOS MUSCULARES (M) Y CEREBRALES (C) EN CERDOS TRATADOS CON UNA DOSIS DE Pzq.

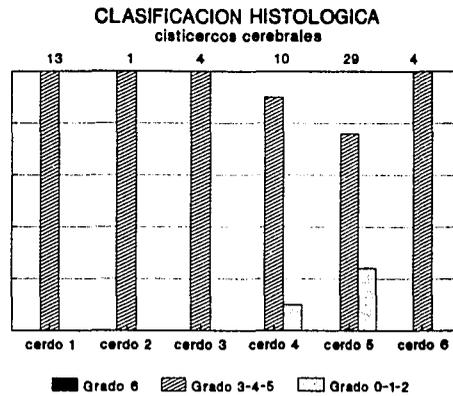
G R A D O S

		0		1		2		3		4		5		6		TOTAL	
GRUPOS		M	C	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C
	1	No.	3	0	4	6	14	2	8	41	6	8	33	4	1	0	69
%		4.3	0	5.7	9.8	20.2	3.2	11.5	67.2	8.6	13.1	47.8	6.5	1.44	0		
2	No.	1	0	0	0	8	3	43	29	14	8	49	0	0	0	115	40
	%	0.8	0	0	0	6.9	7.5	37.3	72.5	12.1	20.0	42.6	0	0	0		
3	No.	2	1	1	3	3	11	30	68	10	2	35	0	1	0	82	85
	%	2.4	1.1	1.2	3.5	3.6	12.9	36.5	80.0	12.1	2.3	42.6	0	1.2	0		
4	No.	82	5	82	32	22	15	21	15	0	0	0	0	0	0	207	67
	%	39.6	8.9	39.6	47.6	10.6	22.3	10.1	22.3	0	0	0	0	0	0		

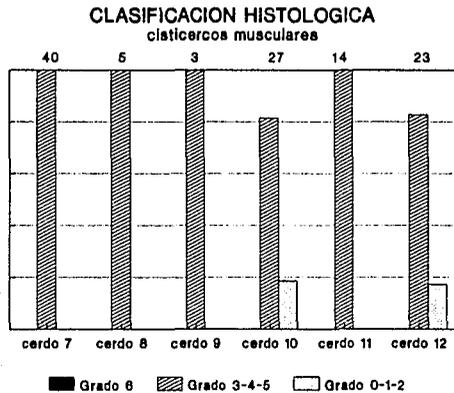


grupo 1. 100 mg/kg

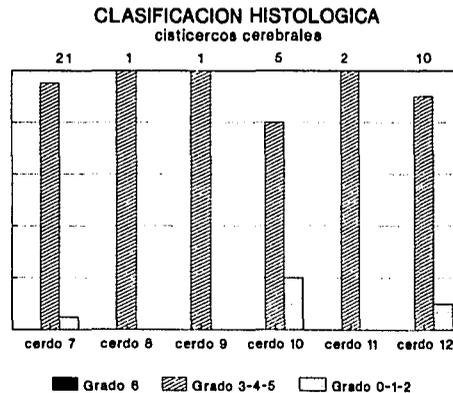
S.E.A-P: SIN EVIDENCIA ANATOMO-PATOLOGICA



grupo 1. 100 mg/kg



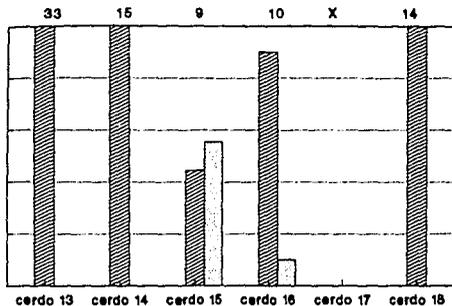
grupo 2. 50 mg/kg



grupo 2. 50 mg/kg

FIGURA 8. RESULTADO DE LA EVALUACION HISTOLOGICA DE CISTICERCOS EN LOS ANIMALES DE LOS GRUPOS 1 Y 2

CLASIFICACION HISTOLOGICA
cisticercos musculares

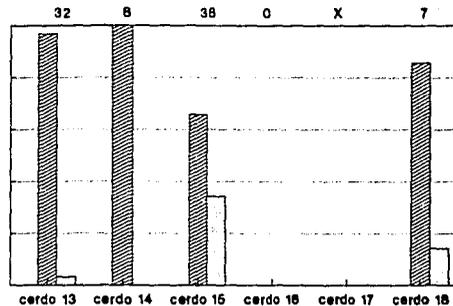


■ Grado 6 ▨ Grado 3-4-5 □ Grado 0-1-2

grupo 3. 25 mg/kg

X: SIN INFECCION

CLASIFICACION HISTOLOGICA
cisticercos cerebrales

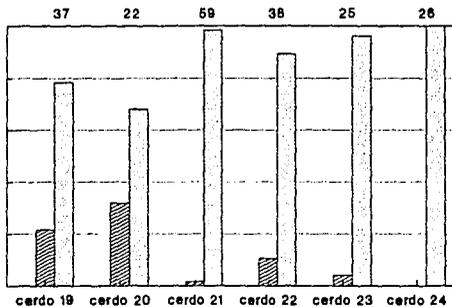


■ Grado 6 ▨ Grado 3-4-5 □ Grado 0-1-2

grupo 3. 25 mg/kg

X: SIN INFECCION

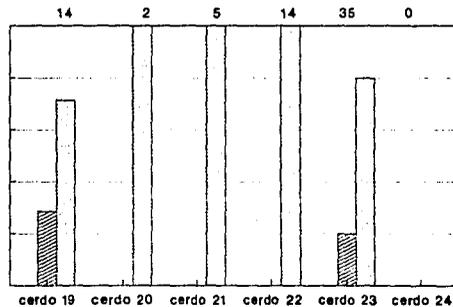
CLASIFICACION HISTOLOGICA
cisticercos musculares



■ Grado 6 ▨ Grado 3-4-5 □ Grado 0-1-2

grupo 4. 0 mg/kg

CLASIFICACION HISTOLOGICA
cisticercos cerebrales



■ Grado 6 ▨ Grado 3-4-5 □ Grado 0-1-2

grupo 4. 0 mg/kg

FIGURA 9. RESULTADO DE LA EVALUACION HISTOLOGICA DE CISTICERCOS EN LOS ANIMALES DE LOS GRUPOS 3 Y 4

VI. DISCUSION

Existen diferentes informes que muestran la efectividad del Pzq en el tratamiento de la neurocisticercosis quística parenquimatosa en el ser humano^{46,61,67,76,77} desde que Robles y Chavarría⁵⁸ comprobaron que el medicamento era capaz de destruir los cisticercos.

En el ser humano, la eficacia de la droga se evalúa generalmente por la reducción del tamaño y número de parásitos mediante estudios por tomografía computarizada^{5,25}.

En cerdos, Chavarría y col.¹⁸ y Flisser y col.³¹ realizaron estudios para valorar el efecto del Pzq sobre el huésped y el parásito. Los resultados fueron muy satisfactorios pero en vista de que los protocolos de tratamiento utilizados resultan poco prácticos, en el presente experimento se evaluó la posibilidad de administrar una sola dosis del medicamento en estos animales y determinar su efecto mediante estudios hematológicos, inmunológicos e histopatológicos. Se ensayaron dosis de 100, 50 y 25 mg/kg divididas en tres tomas en un sólo día por vía oral.

La inspección en pie para el diagnóstico de la enfermedad no es considerado un método confiable pues en cerca de un 50% de animales, la infección pasa desapercibida⁵. Sin embargo, en este trabajo, todos los cerdos diagnosticados mediante la inspección visual de la lengua fueron positivos a la

enfermedad excepto uno en el que se encontró metaplasia cartilaginosa al examen histológico de un nódulo en lengua que se había interpretado como larva. No se estableció la causa de la metaplasia aún después de realizar cortes seriados del tejido.

Los resultados del comportamiento hematológico de hematocrito y hemoglobina demostró valores subnormales al inicio del experimento, probablemente asociado a las precarias condiciones de alimentación a las que se ven sometidos los animales de cría doméstica en las zonas rurales. Cuando se les suministró una ración de alimento balanceado, se hizo notable el aumento, alcanzando valores considerados como normales, conservándose así hasta finalizar el experimento.

El conocimiento que se tiene acerca del mecanismo de acción del Pzq sobre los parásitos^{19,36,39,64}, permite explicar el comportamiento encontrado en los leucocitos. Se encontró leucocitosis por neutrofilia y linfocitosis como respuesta inmediata al tratamiento. Benjamin¹² y Schalm⁶⁸ establecen la importancia de los leucocitos dentro del mecanismo de defensa del organismo y la cinética de éstos ante la presencia de un "estado de alerta". Si se analizan conjuntamente los resultados obtenidos al examen serológico y anatomo-patológico, se puede explicar el evento leucocitario como la respuesta al estímulo antigénico que se inicia cuando los cisticercos son afectados por el medicamento.

El ascenso de los valores leucocitarios en la mayoría de los animales tratados se encontró después de las 2a. y 3a. tomas de muestra (días 3 y 10 postratamiento), aunque no de manera simultánea y homogénea. La leucocitosis grave observada en los animales del grupo testigo, debe tomarse con reserva debido a que estos cerdos afrontaron los riesgos de infección bacteriana secundarias al virus del cólera.

Mención aparte requiere el comportamiento de los eosinófilos; estas células están presentes en mayor número en enfermedades helmínticas y algunos otros procesos. En esta prueba, dicho aumento no fué de la magnitud que se esperaba, pues se sabe que los eventos celulares durante la destrucción del parásito, involucran una secuencia iniciada por los eosinófilos al formar lo que se denomina "la primera línea de ataque"⁴. La razón de esto podría ser parcialmente explicada por el estado de tensión en los animales (*stress*) que bajo condiciones de experimentación liberan grandes cantidades de corticosteroides endógenos¹². Otra posible explicación a este comportamiento puede ser la extraordinaria migración de estas células hacia los tejidos que se refleja en un número inferior de células al esperado en la sangre periférica.

Aluja y col.⁸ infectaron experimentalmente cerdos de 6 semanas de edad y tras un seguimiento hematológico encontraron leucocitosis por linfocitosis y eosinofilia en las primeras semanas pos-infección con disminución gradual hasta los valores considerados normales a los 90 días

pos-infección. Es claro, entonces, que el establecimiento de la enfermedad crea una respuesta inmunológica reflejada en el aumento de leucocitos y el hallazgo de anticuerpos específicos y que esta respuesta es "consecuente" con la infección hasta que se establece la relación huésped-parásito que permite la larga presencia de la parasitosis en individuos infectados.

Las pruebas inmunológicas están llamadas a ocupar un lugar preponderante dentro del Programa de Vigilancia Epidemiológica de cisticercosis en estudios de población abierta que incluyan tanto a la enfermedad del ser humano como a la infección porcina. En el presente estudio se utilizaron las pruebas de EIE y la IET para comprobar el diagnóstico y evaluar la respuesta inmune humoral de los animales tratados con Pzq.

Con el EIE, en un 70% de los cerdos se observó aumento en los valores de absorbancia inmediatamente después de administrado el tratamiento con disminución progresiva de los títulos en más de la mitad de las muestras analizadas al final de la prueba. Los resultados obtenidos están de acuerdo con lo encontrado por Flisser y col.³¹ al tratar cerdos infectados naturalmente y por Groll⁴⁰ en pacientes humanos tratados con Pzq. Téllez-Girón⁷⁴ encontró disminución en el nivel de anticuerpos en pacientes humanos tratados con Flubendazol revisados clínicamente cada 30 días en un estudio que duró 4 meses.

Los dos eventos descritos, el aumento inicial y el descenso subsecuente de anticuerpos, apoyan el hecho de que ante el efecto deletéreo del medicamento sobre el parásito, los mecanismos de defensa del huésped responden a la nueva liberación de antígenos y esto se traduce en el aumento de los títulos de anticuerpos. Una vez destruidos los cisticercos, cesa la liberación de antígenos parasitarios reflejándose este comportamiento en el descenso progresivo de los valores de absorbancia.

En el presente estudio, se obtuvieron niveles de anticuerpos muy variables; animales que siendo positivos a la infección tras el estudio anatómo-patológico resultaron con títulos negativos al ser evaluados con el EIE. En pocos casos la intensidad de la respuesta inmune estuvo de acuerdo con el nivel de la dosis de Pzq administrada.

Los resultados obtenidos son parecidos a los de Solis⁶⁸ en los que en sueros de cerdos con infecciones naturales encontró respuestas bajas, medianas y ligeramente altas en los niveles de absorbancia. En resumen, el EIE no detecta niveles bajos de anticuerpos anticisticercos; para mejorar esta técnica probablemente se requiera la utilización de un antígeno purificado que aumente la sensibilidad sin perder especificidad dadas las extensas reacciones cruzadas antigénicas del parásito⁶⁸.

También se encontró un cerdo que aunque a la inspección en pie se consideró positivo, el estudio anatómo-patológico no

lo corroboró. En la evaluación por el EIE se encontraron niveles diagnósticos positivos bajos. Este hallazgo es semejante al informado por Aluja y col.⁶ al infectar experimentalmente a cerdos con huevos de *Taenia solium* en donde el animal testigo que convivía en el mismo corral que los infectados, resultó positivo en la prueba a partir del día 75 de iniciado el experimento. Estas observaciones son análogas a lo informado en seres humanos por Willms⁸² donde se ha visto que personas no infectadas que conviven con portadoras de la tenia, desarrollan anticuerpos contra *Taenia solium* dando lugar a resultados falsos positivos.

En el presente trabajo, no se estableció ninguna relación entre la intensidad de la infección, con base en el número de cisticercos evaluados histológicamente como reflejo de la infección sistémica, y los niveles de anticuerpos encontrados en el EIE.

Se detectaron los antígenos glicoproteicos específicos para el diagnóstico de la infección con cisticercos tal como lo describe Tsang y col.⁷⁴. Los resultados obtenidos difieren con lo mencionado por los mismos autores respecto a las bandas más frecuentemente reconocidas y al porcentaje de muestras que reaccionan con todas las bandas diagnósticas. Los sueros de pacientes con cisticercosis reconocen las GP42 y GP24, los sueros de los cerdos empleados en este proyecto frecuentemente reconocieron las GP50 y GP42.

El estudio de Tsang realizado en 148 muestras, informa que en un 40% de éstas se observaron las 7 bandas diagnósticas, en

este experimento un 16% lo hizo así. Por otra parte, más de la mitad de los sueros analizados por Tsang reaccionaron con 6 de las 7 bandas; en este estudio se encontró que el 49% de las muestras lo hicieron con 3 y 4 bandas. Estas diferencias se podrían explicar por los diferentes grados evolutivos de las larvas encontradas; la localización anatómica de los parásitos y al tiempo transcurrido desde que se estableció la infección.

Los resultados obtenidos mediante la prueba de IET permiten explicar parcialmente la poca sensibilidad observada en el EIE para detectar niveles reducidos de anticuerpos, al hacerse evidente el bajo número de bandas antigénicas reconocidas en los sueros de cerdos infectados con cisticercos.

Si consideramos que el número de larvas encontradas microscópicamente es un reflejo del grado de parasitosis, se observó que los cerdos con infecciones más intensas tuvieron un mayor número de bandas reconocidas por los sueros aunque se hizo notoria la diferencia en las respuestas individuales de los cerdos ante una misma dosis. No se encontró diferencia entre la dosis recibida y el número de bandas observadas. Si bien en la mayoría de los sueros analizados se encontró aumento en el número de bandas reconocidas en respuesta al tratamiento, no se detectó disminución progresiva y homogénea de éstas como sí ocurrió en los títulos de anticuerpos evaluados en EIE. El aumento de bandas refleja una liberación de antígenos y probablemente no se ve la disminución por la

sensibilidad del IET o al hecho de que se analizan únicamente 7 antígenos específicos.

Resulta particularmente interesante resaltar la sensibilidad y especificidad de la prueba (100% en los datos aquí descritos) pues en el animal descartado por no tener infección al examen anatomo-patológico, no se observó ninguna banda en las tiras diagnósticas.

En el estudio anatomo-patológico realizado a los 30 días de administrado el Pzq, se evidenció claramente el efecto de éste sobre la gran mayoría de las larvas. Aunque no se tiene información sobre el estado evolutivo de los cisticercos al inicio del experimento, en todos los grupos tratados el mayor porcentaje de larvas musculares y cerebrales se encontró con francas alteraciones morfológicas e histológicas (grados 3, 4 y 5), en comparación con el grupo testigo en el que se detectó la mayoría de las larvas viables (grados 0, 1 y 2). Sin embargo, en los 3 grupos tratados también se encontraron larvas con escasos cambios macro y microscópicos.

Los resultados descritos apoyan lo ya establecido por otros autores en seres humanos y animales respecto a la diferencia que existe en la eliminación de los cisticercos en individuos tratados y no tratados con Pzq. Chavarría y col.¹⁸ lo establecieron en cerdos tratados con 50 mg/kg/día por 5 días, Flisser y col.³¹ utilizando la misma dosis por 15 días también lo informan, Velandia y Pardo⁷⁷ lo encontraron en larvas de un paciente con neurocisticercosis que había

recibido tratamiento con Pzq meses atrás. Aluja y Vargas⁴ en su trabajo de clasificación histopatológica en cerdos y Aluja y col.⁵ al infectar a cerdos con huevos de *Taenia solium*, encontraron larvas en diversos estadios degenerativos en animales que no habían recibido tratamiento alguno.

La impresión inicial en este trabajo, es que la mayoría de larvas en todos los animales tratados, siguieron una línea de comportamiento similar independientemente de la dosis de medicamento recibida; a pesar de que al análisis estadístico, se encontró correlación altamente significativa ($P < 0.01$) entre la dosis más alta y el mayor grado de destrucción larvaria. Este hallazgo es semejante a lo descrito por Sandoval y col.⁶ en el tratamiento de la neurocisticercosis del ser humano, en donde se ha encontrado que existe proporción directa entre la dosis y los resultados.

El efecto nocivo del medicamento sobre los cisticercos también fué evaluado mediante la prueba de evaginación *in vitro*. En todos los animales tratados se encontraron porcentajes de evaginación inferiores a los del grupo testigo, este hallazgo es semejante al descrito por Téllez-Girón⁷ al tratar cerdos con Flubendazol y por Flisser y col.⁸ en su trabajo sobre tratamiento de cisticercosis porcina con Pzq.

El análisis integral de los resultados obtenidos en este trabajo, sugiere que el efecto nocivo del medicamento sobre

Las larvas trae como consecuencia que se "acelere" el proceso inflamatorio mediante la activación del sistema inmune. Como ya se ha mencionado, dicho proceso no se lleva a cabo en forma uniforme en todas las larvas y por ello el riesgo de la infección se mantiene latente; aunque en términos estadísticos, esta posibilidad se reduce significativamente.

El hecho de que a los 30 días de administrado el Pzq, el proceso degenerativo de las larvas se encontró en fase avanzada, hace suponer de que si transcurre más tiempo el porcentaje de cisticercos destruidos será mayor al observado en este trabajo.

En países como México y muchos otros en vía de desarrollo, la eliminación de la *Taenia solium* para romper el ciclo de la parasitosis, no se ha podido lograr. Por esta razón la posibilidad de atacar el problema por medio de la destrucción de larvas en los cerdos debe considerarse como alternativa.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, vale la pena estudiar la factibilidad económica de tratar a los cerdos infectados con el metacéstodo de la *Taenia solium* con una dosis de 100 mg/kg de Pzq dividida en tres tomas durante un día. Esta desde luego, tendría que administrarse unos 2 meses antes de que el animal salga al mercado. La decisión sobre el establecimiento de un programa con este fin depende del análisis cuidadoso de factores socio-económicos tales como costo del tratamiento, tipo de porcicultor, costumbres higiénicas y otros.

Por el momento debe aceptarse que el Pzq en su presentación veterinaria, resulta demasiado costoso para ser considerado en un programa de tratamiento masivo de cerdos portadores de la infección, máxime cuando se han ensayado otros medicamentos ^{5,25,70} a menor costo con resultados igualmente satisfactorios. Con este trabajo se abre una alternativa más para el control de esta terrible enfermedad que azota todavía a una gran parte de la población de muchos países en el mundo.

LITERATURA CITADA

1. Acevedo-Hernández, A. Epidemiología de la Cisticercosis Porcina. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 251-253. *Limusa*. México D.F. (1989)
2. Acevedo-Hernández, A. Economic Impact of Porcine Cysticercosis. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and Perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F., pp. 63-67. *Academic Press*. New York. (1982)
3. Acha, P. y Szifres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 2 edición. *Organización Panamericana de la Salud*. *Publ. Cient. 503* Washington D.C. (1986)
4. Aluja, S. A. and Vargas, G. The histopathology of Porcine Cysticercosis. *Veterinary Parasitology* 28: 65-77 (1988)
5. Aluja S. A., Escobar, A., Escobedo, F., Flisser, A., Lacleste, J., Larralde, C., Madrazo, I., Velásquez, V., y Willms, K. Cisticercosis. *Fondo de Cultura Económica*. México, D.F. (1987)
6. Aluja, S. A. Frequency of Porcine Cysticercosis in México. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F., pp. 53-62. *Academic Press*. New York. (1982)
7. Aluja, S. A. Necropsias de Animales Domésticos. *CECSA*. México, D.F. (1985)
8. Aluja, S. A., Sierra, J., Castro, E., Martínez, A. and Plancarte, A. The experimental infection of pigs with *Taenia solium* eggs. *Exp. Parasitology*. En prensa.
9. Andrews, P., Thomas, H., Pohlke, R. and Seubert, J. Praziquantel. *Medical Research Reviews* 3: 147-200 (1983)
10. Andrews, P., Thomas, H. and Wuber, H. The *in vitro* uptake of ¹⁴C-Praziquantel by cestodes, trematodes and a nematode. *J. Parasitol* 66: 920-925 (1980)
11. Bartsch, H., Kuroki, T., Malaveille, C., Loprieno, N., Barale, R., Abbondandolo, A., Bonatti, S., Rainaldi, G., Vogel, E. and Davis, A. Absence of mutagenicity of Praziquantel, A New, effective anti-schistosomal drug, in bacteria, yeasts, insects and Mammalian cells. *Mutation Research* 58: 133-142 (1978)

12. Benjamin, M.: Manual de Patología Clínica en Veterinaria. *Linusa*. México D.F. (1984)
13. Bennett, J. and Deppenbusch, J.: The chemotherapy of schistosomiasis. In: Parasitic Diseases. Vol. II The Chemotherapy. Edited by Marsfield, J. *Marcel Dekker, Inc.* New York. (1984)
14. Botero, D.: Estudio sobre cisticercosis en Colombia. *Medicina. Universidad Industrial de Santander 1:* 19-34 (1986)
15. Buhning, K., Diekmann, H., Muller, H., Garbe, A. and Nowak, H.: Metabolism of Praziquantel in man. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin 3:* 179-190 (1978)
16. Centro Panamericano de Zoonosis: *Taenia solium/Cysticercus cellulosae* en América Latina y el Caribe. *Organización Mundial de la Salud Vol. 1.* (1978)
17. Chavarria, M.: La cisticercosis como problema de salud pública en México. *Bol. Ofna. Sanit. Panam. 33:*394-404 (1952)
18. Chavarria, M. y Diaz, D.: Droncit en el tratamiento de la cisticercosis porcina. *Especialidades Veterinarias 1:* 159-165 (1978)
19. Chavarria, M.: Droncit y la cisticercosis cerebral del cerdo. Zoonosis Parasitarias. Memorias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. *Universidad Nacional Autónoma de México.* (1986)
20. Correa, D., Lacleite, J., Rodríguez-del-Rosal., Merchant, M. and Flisser A.: Heterogeneity of *Taenia solium* Cysticerci Obtained from Different Naturally Infected Pigs. *Journal of Parasitology 73:*443-445 (1987)
21. Correa, D., Tovar, A., Espinoza, B., Plancarte, A. y Flisser, A.: Cisticercosis Humana. Relación inmunológica Huésped-Parásito. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 31-43. *Linusa*. México D.F. (1989)
22. De Rezende, G., y Paz, G.: Praziquantel. Datos farmacodinámicos, toxicológicos y farmacocinéticos. *Medicina. Universidad Industrial de Santander 1:* 77-90 (1986)
23. Escobar, A.: The pathology of Neurocysticercosis. In: Cysticercosis of the Central Nervous System. Edited by Palacios, E., Rodríguez, C.J. and Taveras, J.M. *Charles C. Thomas.* Illinois. (1983)

24. Escobedo, F., González Mariscal, G., Revuelta, R. and Ruben, M. Surgical treatment of cerebral cysticercosis. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Laclette, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F., pp. 201-205. *Academic Press*. New York. (1982)
25. Escobedo, F. Tratamiento de Cisticercosis/Teniasis Humana. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 201-205. *Limusa*. México D.F. (1989)
26. Espinoza, B., Flisser, A., Plancarte, A. and Larralde, C. Immunodiagnosis of human cysticercosis: ELISA and Immunoelectrophoresis. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Laclette, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F., pp. 163-170. *Academic Press*. New York. (1982)
27. Espinoza, B. Respuesta inmune humoral en la neurocisticercosis humana. Inmunodiagnóstico. Caracterización de anticuerpos e identificación en líquido cefalorraquídeo. Tesis de Maestría. Instituto de Investigaciones Biomédicas. *Universidad Nacional Autónoma de México*. (1985)
28. Estañol, B., Corona-Vazquez, T., Abad-Herrera, P. Clasificación pronóstica de la Cisticercosis Cerebral. Implicaciones terapéuticas. *Gaceta Médica de México* 125: 105-111 (1989)
29. Flisser, A. Cisticercosis Humana. Epidemiología, diagnóstico e inmunología. *Medicina. Universidad Industrial de Santander* 1: 51-60 (1986)
30. Flisser, A., Larralde, C. Cysticercosis. In: Immunodiagnosis of Parasitic Diseases. Vol. I. Helminthic Diseases. Edited by Walls, K.W., Schantz, P.M. *Academic Press*. New York. En prensa.
31. Flisser, A., González, D., Rodríguez-Carbajal, J., Shkurovich, M., Correa, D., Cohen, S., Collado, M., Madrazo, I., Rodríguez-del-Rosal, E., Fernández, F. and Aluja, A. Praziquantel treatment of brain and muscle Porcine Cysticercosis. *Parasitology*. Keele. En prensa.
32. Flisser, A. Cisticercosis. Un problema de salud pública y de producción ganadera. *Salud Uninorte* 3: 43-48 (1986)
33. Flisser, A., Woodhouse, E. and Larralde, C. Human Cysticercosis antigens, antibodies and non-responders. *Clin. Exp. Immunol* 39: 27 (1980)

34. Flisser, A., Rivera, L., Trueba, J., Espinoza, B., Yakoleff, Greenhouse, V., Sierra, A. and Larralde, C. Immunology of human cysticercosis. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F., pp. 549-563. *Academic Press*. New York. (1982)
35. Froberg, H. Propiedades farmacocinéticas, farmacológicas toxicológicas del Praziquantel. *Sal. Páb. Méx.* 24: 605-624 (1982)
36. García, C. Efecto del praziquantel sobre el cisticerco de *Taenia solium* in vitro. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. *Universidad Nacional Autónoma de México*. (1987)
37. Gonnert, R. and Andrews, P. Praziquantel, a new broad-spectrum antischistosomal agent. *Z. Parasitenk* 52: 129-150 (1977)
38. González, D., Rodríguez-Carbajal, J., Aluja, A. and Flisser, A. Cerebral Cysticercosis in pigs Studied by Computed Tomography and Necropsy. *Veterinary Parasitology* 26: 55-69 (1987)
39. Goodman, L. y Gilman, A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. *Panamericana*. Buenos Aires. (1988)
40. Groll, E. Chemotherapy of human cysticercosis with praziquantel. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F., pp. 207-218. *Academic Press*. New York. (1982)
41. Groll, E. Praziquantel. *Advances in pharmacology and chemotherapy* 20: 219-237 (1984)
42. Gutiérrez, M. Diagnóstico inmunológico de la Cisticercosis. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 175-178. *Limusa*. México D.F. (1989)
43. Jubb, K., Kennedy, P. and Palmer, N. Pathology of Domestic Animals. Vol. III, 3rd. Ed. *Academic Press*. New York (1985)
44. Lacleste, J., Merchant, M. and Willms, K. Histological and Ultraestructural localization of antigen-B in the metacestode of *Taenia solium*. *J. Parasitol.* 73: 121 (1987)
45. Lacleste, J. Componentes de superficie en el metacestodo de *Taenia solium*. Tesis de Doctorado. Instituto de Investigaciones Biomédicas. *Universidad Nacional Autónoma de México*. (1985)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

46. Lombardo, L., Vasconcelos, D. y Cruz-Segura, H.: Tratamiento de la cisticercosis con praziquantel. *Gac.Méd. Méx.* 119: 17 (1983)
47. Luna, L.: Manual of histologic staining methods. Armed Forces Institute of Pathology. McGraw Hill. New York (1968)
48. Macheiner, L. and Loyke, D.: Mutagenicity studies with praziquantel, a new anthelmintic drug, in mammalian systems. *Arch. Toxicol* 39: 187-197 (1978)
49. Malagón, F.: Elementos del binomio Teniasis/Cisticercosis. Una síntesis. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 3-6. *Limusa*. México D.F. (1989)
50. Navarro, R.: Introducción a la Bioestadística. Análisis Variables Binarias. McGraw Hill. México D.F. (1987)
51. Nieto, D.: Cysticercosis of the Nervous System. Diagnosis by means of the Spinal fluid complement fixation test. *Neurology* 6: 725-738 (1956)
52. Nieto, D.: Historical Notes on Cysticercosis. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacleite, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. pp. 1-7. *Academic Press*. New York. (1982)
53. Obermeier, J. and Frohberg, H.: Mutagenicity studies with praziquantel, a new anthelmintic drug: Tissue- Host- and Urine-mediated mutagenicity assays. *Arch. Toxicol* 38: 149-161 (1977)
54. Plancarte, A., Flisser, A. and Larralde, C.: Fibronectin-like properties in Antigen B from cysticercus of *Taenia solium*. *Cytobios* 36: 83-93 (1983)
55. Plancarte, A., Espinoza, B. y Flisser, A.: Inmunodiagnóstico de la cisticercosis humana por el ensayo inmunoenzimático (ELISA). En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 159-163. *Limusa*. México (1989)
56. Quiroz, H.: Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. *Limusa*. México D.F. (1986)

57. Rabiela, M., Rivas, A., Rodríguez, J., Castillo, S. and Cancino, F.: Anatomopathological aspects of human brain cysticercosis. In: *Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives.* Edited by Flisser, A., Willms, K., Lacleite, J., Larraide, C., Ridaura, C., Beltrán, F., pp. 179-208. *Academic Press.* New York. (1982)
58. Robles, C. y Chavarria, M.: Un caso de cisticercosis cerebral curado medicamente. *Gac. Méd. Méx.* 116: 65 (1980)
59. Rodríguez-del-Rosal, E., Correa, D. and Flisser A.: Swine cysticercosis: Detection of parasite products in serum. *Veterinary Record* 124: 56-57 (1989)
60. Rodríguez-Carbajal, J., Boleaga, B. y Dorfsman, J.: El diagnóstico de la neurocisticercosis humana por tomografía computarizada. En *Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México.* Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 77-86. *Limusa.* México D.F. (1989)
61. Sandoval, M., Madrazo, I., de Dios, J. y Santiago, N.: Tratamiento de la neurocisticercosis con praziquantel. En: *Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México.* Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 215-219. *Limusa.* México D.F. (1989)
62. Sarti, E.: Epidemiología de la Teniasis/Cisticercosis. En: *Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México.* Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 233-242. *Limusa.* México D.F. (1989)
63. Schalm, O., Jain, N. y Carroll, F.: Hematología Veterinaria. *Hemisferio Sur.* México D.F. (1981)
64. Shaw, M. and Erasmus, D.: *Schistosoma mansoni.* Structural damage and tegumental repair after in vivo treatment with praziquantel. *Parasitology* 94: 243-254 (1987)
65. Solís, L.: Inmunodiagnóstico de la cisticercosis porcina por ELISA evaluando el papel filtro como contenedor de sangre. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. *Universidad Nacional Autónoma de México.* México D. F. (1988)
66. Sotelo, J., Escobedo, F. and Penagos, P.: Albendazole vs. Praziquantel for therapy for neurocysticercosis. *Arch. Neurol* 45: 532-534 (1988)
67. Sotelo, J., Escobedo, F., Rodríguez, C., Torres, B. and Rubio, D.: Therapy of parenchymal brain cysticercus with praziquantel. *New England J. Med.* 310: 1001 (1984)

68. Sotelo, J.: ELISA en el diagnóstico de neurocisticercosis. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 165-167. *Limusa*. México D.F. (1989)
69. Steiner, K., Garbe, A., Diekmann, W. and Nowak, H.: The fate of praziquantel in the organism. I. Pharmacokinetics in animals. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin* 2: 85-95 (1976)
70. Téllez-Girón, E., Méndez, F., Ramos, M., Dufour, L., Montante, M., Téllez, E., Rodríguez, J. and Mireles, E.: Treatment of neurocysticercosis with flubendazole. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 33: 627-631 (1984)
71. Téllez-Girón, E.: Tratamiento de cisticercosis con flubendazol. En: Cisticercosis humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F., pp. 205-213. *Limusa*. México D.F. (1989)
72. Thomas, H. and Gonnert, R.: The efficacy of praziquantel against cestodes in animals. *Z. Parasitenk* 52: 117-127 (1977)
73. Thomas, H. and Gonnert, R.: Zur Wirksamkeit von Praziquantel bei der experimentellen Cysticercose und Hydatidose. *Z. Parasitenk* 55: 165-179 (1978)
74. Tsang, V., Brand, J., Boyer, A.: An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *The Journal of Infectious Diseases* 159: 50-59 (1989)
75. Tsang, V., Hancock, K., Wilson, M., Palmer, D., Whaley, S., McDougal, J. and Kennedy, S.: Enzyme-linked immunoelectrotransfer Blot Technique (Western Blot) for Human T-lymphotropic Virus (HTLV-III/LAV) Antibodies. Immunology Series, No. 15. Procedural Guide. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta. (1986)
76. Vasconcelos, D., Cruz-Segura, H., Mateos-Gomez, H. and Zenteno-Alanis, G.: Selective indications for the use of praziquantel in the treatment of brain cysticercosis. *J. Neurol. Neurosurg, Psych.* 50: 383-388 (1987)
77. Velandia, F. y Pardo, C.: Estudio neuropatológico en un paciente con cisticercosis del SNC tratado con praziquantel. *Medicina. Universidad Industrial de Santander* 1: 103-113 (1986)

78. Velasco, S. M., Bravo, B. M. and Guirasco, F.: Human Cysticercosis: Medical-social implications and Economic Impact. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Laclette, J., Larralde, C., Ridaura, C., Beltrán, F., pp. 47-51. *Academic Press*, New York. (1982)
79. Vázquez, M., Jung, H. and Sotelo, J.: Plasma levels of praziquantel decrease when dexamethasone is given simultaneously. *Neurology* 37: 1561-1562 (1987)
80. Voller, A., Bidwell, D. and Bartlett, J.: The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Bull. Wld. Hlth. Org.* 54: 129-139 (1976)
81. Willms, K., Merchant, M., Diaz, S. and Arcos, L.: Host-parasite interface in the metacystode of *Taenia solium*. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Laclette, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F., pp. 397-411. *Academic Press*, New York. (1982)
82. Willms, K., Diaz, S., Candil, A. y Uribe, N.: Epidemiología de Taeniasis/Cisticercosis en una comunidad del Estado de Sinaloa. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Su conocimiento e investigación en México. Editado por Flisser, A. y Malagón, F. pp. 243-250. *Limusa*, México D.F. (1989)
83. World Health Organization. Guidelines for Surveillance, Prevention and Control of Teniasis/Cysticercosis. Geneva, UPH/83 (1983)
84. Woodhouse, E., Flisser, A. and Larralde, C.: Seroepidemiology of Human Cysticercosis in México. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Laclette, J., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F., pp. 11-23. *Academic Press*, New York. (1982)
85. Xiao, S., Friedman, P., Catto, B. and Webster, L.: Praziquantel-induced vesicle formation in the tegument of male *Schistosoma mansoni* is calcium dependent. *J. parasitol.* 70: 177-179 (1984)
86. Zenteno-Alanis, G. H.: A classification of Human Cysticercosis. In: Cysticercosis. Present state of knowledge and perspectives. Edited by Flisser, A., Willms, K., Laclette, J., Larralde, C., Ridaura, C., Beltrán, F., pp. 107-126. *Academic Press*, New York. (1982).