



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

IDENTIFICACION DE LAS FASES DE
DESARROLLO DEL METACESTODO
DE *taenia solium* EN CERDOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
CARLOS GERARDO SALAS GARRIDO



ASESORES:
ALINE SCHUNEMANN DE ALUJA
FERNANDO CONSTANTINO CASAS

MEXICO, D.F.

2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

PAGINACIÓN

DISCONTINUA

DEDICATORIA

A mis padres, a mis hermanos, primos, por brindarme incondicionalmente su apoyo, su
cariño y su insondable paciencia.

A ti Alma, tu presencia es la exultación de mi corazón...

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco inconmensurablemente a la maestra Aline S. de Aluja, el honor de haberme permitido formar parte de su equipo de trabajo, aprecio de sobremanera, su tiempo, dedicación y esfuerzo para la realización de esta investigación.

Al Dr. Fernando Constantino Casas, por ser parte fundamental en mi desarrollo profesional, como guía y amigo (todos los elogios serían mínimos para retribuirte lo que me has enseñado).

Doy las mas sinceras gracias a la Dra. Gabriela Rosas Salgado, por tan gentilmente haberme asesorado y proporcionado el anticuerpo primario, para la realización de la inmunotinción.

A los M.V.Z Adanelly Martínez Villalobos, Carlos Cedillo Peláez, y Félix Sánchez Godoy, por su ayuda al infectar a los cerdos (aquel día la labor fue titánica).

A los técnicos: Luis Antonio Morales Arreola, por su eficiencia en la realización de los cortes histológicos y tinciones con Hematoxilina y Eosina, a Guadalupe Juárez, por su apoyo en la técnica de Verde-metil pironina, al señor Aureliano García Torres, por realizar el sacrificio humanitario de los cerdos y las facilidades aportadas para la realización de las necropsias, al Departamento de producción animal: Cerdos, por las facilidades proporcionadas para albergar a los cerdos, al señor Jaime Eugenio Córdova por su apoyo con en el material fotográfico, a Emma Serrano, por su auxilio en las cuestiones de cómputo, y a todos los integrantes (académicos, técnicos, servicios sociales, y ayudantes) del departamento de patología de esta facultad por haberme alentado y soportado todas mis neurosis (saben bien que los estimo a todos), espero no se ofendan por no mencionar sus nombres.

A mi familia y a mi novia por su amor, comprensión y aguante.

Al Programa de Apoyo para Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), que me proporcionó beca, con el número de proyecto IN219398, de igual forma al Sistema Nacional de Investigadores (SIN), por la beca otorgada como Ayudante de Investigador de la maestra Aline S. de Aluja, cuyo número de expediente es 3522, y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por aportar parte del financiamiento de esta investigación, con el número de proyecto 400310-5-1568M.

Por último agradezco y pido mis disculpas para aquellas personas, que por olvido, fueron omitidas, y que merecen indiscutiblemente, se les de el reconocimiento que merecen.

CONTENIDO

	<u>Página.</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
MATERIAL Y MÉTODOS	10
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES	47
LITERATURA CITADA	49

PAGINACIÓN
DISCONTINUA

RESUMEN

SALAS GARRIDO CARLOS GERARDO. Identificación de las fases de desarrollo del metacestodo de *Taenia solium* en cerdos (bajo la dirección de: Aline Schunemann de Aluja y Fernando Constantino Casas).

Se infectaron experimentalmente doce cerdos, vía oral, con 100,000 huevos viables de *T. solium* cada uno, posteriormente se eutanasiaron y se les realizó la necropsia a diferentes tiempos posinfección, con el objetivo de reconocer las fases tempranas del desarrollo parasitario, y la interacción huésped-parásito en los primeros días posinoculación, utilizando técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas para su determinación en diferentes tejidos. Se identificaron en los primeros días posinfección estructuras parasitarias con mayor éxito bajo la técnica de inmunohistoquímica. Dichas estructuras a los 2 días posinfección (d.p.i), se apreciaron en: Luz del intestino delgado (ID), vasos sanguíneos mesentéricos, y músculos esqueléticos, a los 4 d.p.i, en la luz de ID, hígado y músculos esqueléticos, y de los 6 a los 39 d.p.i, en músculos esqueléticos. Las formas de las posoncosferas entre los 2 y 6 dpi. son redondas u ovoides, variando en tamaño desde los 6 a los 34 X 27 μm . A partir del día 14 posinfección se identificaron estructuras parasitarias bien desarrolladas, superiores a los 550 X 750 μm , y alrededor de estas, diversos grados de reacción inflamatoria (granulomas eosinofílicos). En las primeras fases de desarrollo del parásito, no se observó respuesta inflamatoria en contra de los mismos.

Identificación de las fases de desarrollo del metacestodo de *Taenia solium* en cerdos.

INTRODUCCIÓN

Existen informes que indican la presencia de cisticercosis porcina desde tiempos muy remotos. Aristofanes en una de sus comedias escritas entre 380-375 a.C., describe a la vesícula del cisticerco con apariencia de "granizo", e indica como buscarlos en la lengua de los cerdos. Aristóteles en su "Historia de los animales" (384-322 a.C.) describe de una forma notable la presencia de estos metacéstodos en los músculos esqueléticos de los cerdos (1).

El nombre "*Cysticercus*" le fue dado por Laennec derivado de las palabras griegas *kystic* que significa vesícula y *kercos* que significa cola (vesícula con cola). En 1809 Rudolphi le dio el nombre "*cellulosae*" a la especie, por su gran afinidad por el tejido conectivo. Beneden en 1853 fue el primero en sospechar su relación con el género *Taenia*. Pero fue hasta 1855, cuando Kûchenmeister y Leuckart en 1856 identificaron esas vesículas como cisticercos y demostraron su ciclo biológico (1).

La teniosis-cisticercosis humana y la cisticercosis porcina son enfermedades comunes en países en donde las condiciones de higiene en la población humana son deficientes y se

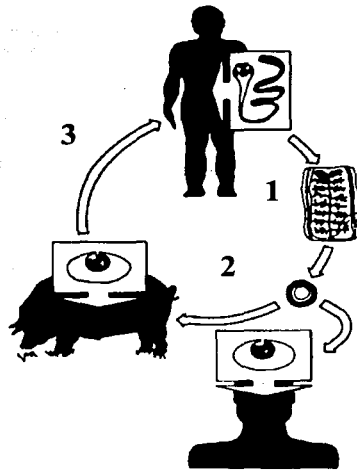
consume carne de cerdo parasitada con el metacestodo de *Taenia solium*, así como vegetales, agua y otros alimentos contaminados con heces humanas con huevos del parásito (2), lo que causará cisticercosis. En el medio rural, la presentación de estas enfermedades es muy alta, debido a que los cerdos deambulan libremente y pueden consumir heces humanas contaminadas con huevos de *Taenia*; además de existir una deficiente inspección sanitaria de la carne y prácticas de matanza domiciliarias (3), lo cuál permite que se complete el ciclo del parásito.

Desde el punto de vista de salud pública, la neurocisticercosis representa un importante problema neurológico en nuestro país, ya que se presenta como causa de muerte o hallazgo incidental en el 2.38% de las necropsias practicadas en el Hospital General de México, Secretaría de Salud (4). Asimismo, la cisticercosis porcina causa grandes pérdidas económicas por la destrucción y devalúo de las canales parasitada (5). Los músculos esqueléticos principalmente afectados en los cerdos son maseteros, pterigoideos y tríceps (6), aunque en infecciones severas, los metacestodos pueden encontrarse en todos los músculos estriados (incluyendo al miocardio) y en el encéfalo.

La *Taenia solium* es un parásito perteneciente a la clase cestoda, que posee un escólex

armado por un rostelo (corona de ganchos) y cuatro ventosas, que en su porción inferior se adelgaza para formar un cuello, a partir del cuál se desarrollan proglótidos inmaduros y grávidos. Su ciclo de vida consta de tres fases: 1) La etapa adulta se encuentra en el intestino delgado del humano (huésped definitivo), y sus proglótidos grávidos son evacuados con las heces. 2) Los huevos contenidos en los segmentos grávidos, son liberados en el ambiente, contaminando líquidos o alimentos, pudiendo ser consumidos por el cerdo (huésped intermediario) o el humano, donde pasan al intestino delgado, y por acción de las enzimas proteolíticas y sales biliares se activan las oncosferas, que posteriormente penetran la pared intestinal, alcanzando capilares sanguíneos y linfáticos, y distribuyéndose principalmente a músculos esqueléticos, y al sistema nervioso central, ocasionando cisticercosis muscular o neurocisticercosis. 3) El ciclo se cierra cuando el humano ingiere el metacéstodo llamado *Cysticercus cellulosae*, en carne cruda o insuficientemente cocida, proveniente de un cerdo parasitado. Nuevamente las enzimas intestinales como la tripsina y las sales biliares (7) activan al cisticerco para que se fije a la pared intestinal donde crece y se diferencia hasta convertirse en una *Taenia solium* adulta productora de proglótidos grávidos (3) (Fig. 1).

Figura 1. Ciclo de vida de *Taenia solium*.



- 1- Huésped definitivo parasitado con *T. solium*.
- 2- Contaminación de alimento con los proglótidos y/o huevos de *T. solium* y consumo por el huésped definitivo o huésped intermediario y desarrollo de cisticercosis
- 3- Formación del cisticerco de carne parasitada por el huésped intermediario y desarrollo de teniasis intestinal en el huésped definitivo.

A pesar del conocimiento del ciclo de esta parasitosis, se conocen parcialmente algunas de sus fases intermedias de desarrollo y su migración. Se sabe que al infectarse el huésped con huevos de *Taenia solium*, estos llegan al intestino delgado donde se liberan las oncosferas, las cuales muestran motilidad activa por el movimiento de 3 pares de ganchos, que poseen (8) y pasan a circulación sanguínea, por el sistema porta hacia el hígado; en éste producen hemorragias, necrosis y finalmente "manchas de leche" (9). Posteriormente

se encuentran como metacestodos vesiculares, coloidales o caseosos en músculos estriados y encéfalo. Sin embargo, no se ha identificado ni descrito claramente el desarrollo del parásito entre la etapa oncosferral y el metacestodo vesicular.

Yoshino en 1933 (10), describe el estadio posoncosferral de 24 a 72 horas posinfección como una forma esférica u ovoide, que en su observación en el microscopio fotónico es grisácea. Si han pasado de 24 a 48 horas posinfección, estas formas juveniles miden 0.024-0.042 mm de largo y 0.021-0.036 mm de ancho; de 48 a 72 horas posinoculación miden de 0.03-0.058 mm de largo y 0.027-0.054 mm de ancho. La forma juvenil de *Cysticercus cellulosae* a los 6 días y 15 horas bajo el microscopio fotónico consta de una delgada membrana externa poco diferenciable de los tejidos del huésped, y células pleomórficas con procesos protoplasmáticos dentro de esta membrana, situadas usualmente en un polo del parásito y esporádicamente en la región central, midiendo 0.320-0.448 mm de largo y 0.256-0.375 mm de ancho. Por otra parte el mismo autor, identifica las formas tempranas del parásito macroscópicamente entre los 6 días y 15 horas, y los 12 días y 15 horas posinfección, como manchas incoloras y transparentes, difíciles de encontrar en los diversos órganos y músculos.

Leuckart en 1879 (11), (cit.Slais 1970) menciona que en el desarrollo de *C. cellulosa*, la vesícula se origina primero, seguido de la diferenciación del escolex y el crecimiento paralelo de ambas porciones (Fig. 2). El sugiere que el vestíbulo se origina de pliegues formados alrededor de la abertura primaria del canal espiral, que se continúan sobre la superficie de la pared vesicular, separando de este modo la porción invaginada del metacestodo (Fig. 3).

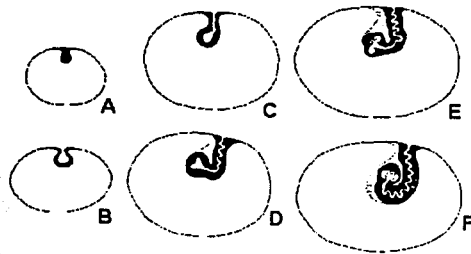


Figura 2. - Esquema de desarrollo de *C. cellulosa* (A-F) según Leuckart.

A.-desarrollo de la vesícula

B-C.-diferenciación del escolex

D-F.- crecimiento de ambas porciones (vesícula y escolex).

(Tomado de Salis 1970.)

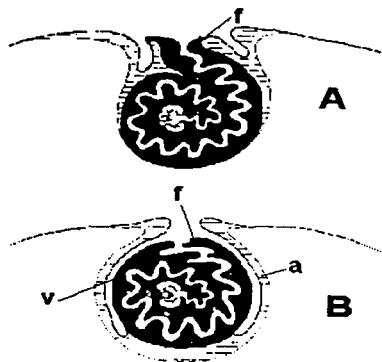


Figura 3. -Formación del vestíbulo según Leuckart. A - pliegue inicial de la pared de la vesícula, B- Vestíbulo desarrollado, f - abertura del canal espiral v - vestíbulo; a - pared del vestíbulo.

(Tomado de Slais 1970).

Heath y Smyth (12) mencionan que el desarrollo posoncosferral *in vitro* de diferentes especies de tenias (*T. hydatigena*, *T. ovis*, *T. pisiformis* y *T. serialis*) y de *Echinococcus granulosus* es muy similar, en donde el patrón de crecimiento involucra los siguientes eventos: 1) Reorganización celular, 2) Multiplicación celular, 3) Formación de cavidad, 4) Reorganización citoplasmática (excepto en *E. granulosus*) y el crecimiento en tejido muscular, 5) Agrandamiento de la cavidad formada, 6) Crecimiento adicional y movimiento en casos aplicables y 7) Diferenciación del escolex aunado al crecimiento del quiste.

En el metacestodo totalmente desarrollado en los músculos del huésped intermediario, se puede observar el tegumento, la invaginación del vestíbulo, el canal espiral, y el escolex que posee ventosas y ganchos (Fig. 4).

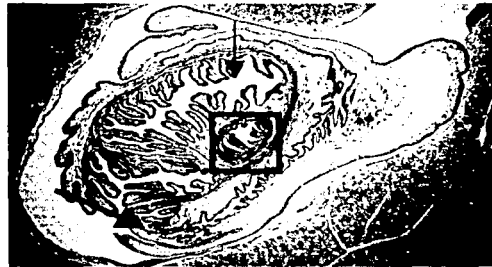


Figura 4. *C. cellulosae* en tejido muscular, donde se observa el vestíbulo (flecha gruesa), su canal espiral (flecha delgada) y su porción cefálica (recuadro). (Fotomicrografía proporcionada por la maestra Aline S. de Aluja. FMVZ-UNAM).

Debido al limitado conocimiento de las formas tempranas de desarrollo del metacestodo de *Taenia solium* se propone con el presente trabajo, conocer las características morfológicas de los estadios posoncosferales del parásito en el cerdo, a través de la infección experimental, así como observar la relación huésped-parásito basados en la respuesta inflamatoria en contra del parásito en estadios tempranos de infección y conocer la invasión a los diferentes tejidos por el parásito en tiempos iniciales de la infección en el huésped intermediario.

OBJETIVO GENERAL

Identificar y describir las fases tempranas de desarrollo del metacéstodo de *Taenia solium*, así como la reacción huésped-parásito en lechones inoculados experimentalmente a lo largo del tiempo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Identificar y describir por medio de métodos de inmunohistoquímica e histoquímica las fases tempranas de desarrollo del metacestodo de *Taenia solium*, en diferentes órganos y tejidos de lechones infectados experimentalmente con huevos del parásito a lo largo del tiempo posinfección.
- 2) Identificar y revisar las lesiones inflamatorias asociadas al parásito en los diferentes órganos y tejidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 cerdos, híbridos de Landrace con Yorkshire de 2 meses de edad, machos y hembras, provenientes de una granja tecnificada, libre de cisticercosis porcina. Los animales se examinaron clínicamente para confirmar su buen estado de salud. Se les proporcionó alimento concentrado y agua *ad libitum* durante todo el tiempo de experimentación.

Los animales tuvieron un período de adaptación de 7 días antes de realizar la experimentación. Los cerdos se alojaron en un corral de experimentación en el Departamento de Producción Animal: cerdos (DPA: C) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (F.M.V.Z.) de la Universidad Nacional Autónoma de México (U.N.A.M.)

Los cerdos se dejaron en ayunas 18 horas antes de la infección, permitiéndoles únicamente el acceso al agua. Posteriormente a cada uno de los lechones, mediante sondeo esofágico e inmovilizando al animal por sujeción, se les infectó con 100,000 huevos viables de *Taenia solium* contenidos en una cápsula de gelatina usando como vehículo solución salina fisiológica (SSF) a un pH de 7.4. La viabilidad de los huevos se determinó

por la técnica de azul de Tripán (13). Se sacrificaron humanitariamente 2 cerdos a los 2, 4, 6, 14 y 23 días posinfección y 1 cerdo a los 30 y 39 días, practicándoseles la necropsia. Se anotaron los hallazgos patológicos macroscópicos mas relevantes, en cada cerdo.

Con base en la ruta de migración del parásito por los diferentes tejidos y tomando en cuenta que la eclosión de los huevos en el intestino de los cerdos se lleva a cabo de 24 a 72 horas posingestión, culminando su desarrollo como metacéstodos alrededor de las 10 semanas (14), se tomaron muestras de los diferentes tejidos en donde se encuentra el cisticerco desarrollado, en los diferentes tiempos posinfección y/o de lesiones producidas por las etapas posoncosferales de *T.solium*, de acuerdo al cuadro 1:

Cuadro 1. MUESTRAS DE ÓRGANOS Y TEJIDOS DE LOS LECHONES EN DIFERENTES TIEMPOS POSINFECCIÓN CON HUEVOS DE *T.solium*.

Días posinoculación	Muestra														
	Intestino delgado	Mesenterio	Linfonodos mesentéricos	Hígado	Músculos intercostales	Pierna	Maseteros	Lengua	Diafragma	Espaldilla	Pterigoideos	Psoas	Pulmón	Corazón	Encéfalo
2	X	X	X	X		X									
4 y 6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
14, 23, 30 y 39			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Las muestras se fijaron en formalina al 10%, amortiguada a un pH de 7.4, se procesaron

por la técnica convencional de histología un total de 579 muestras, y se tiñeron con Hematoxilina y Eosina (H y E). Se revisaron las secciones bajo el microscopio fotónico y de ellas, se seleccionaron bloques, previa revisión microscópica de cada uno, para la elaboración y montura de 25 cortes seriados (de cada bloque) a un grosor de 6µm. Los niveles 1, 5, 10, 15, 20 y 25 se tiñeron con H y E; se seleccionaron algunos cortes, de los cuales un grupo de muestras se tiñó con Verde-Metil-Pironina, ya que esta técnica tiñe ácidos nucleicos en células de mamíferos y cestodos (15), y otro grupo se procesó por inmunohistoquímica (Cuadro 2), mediante el complejo de amplificación Streptavidina - Biotina (CAB).

Cuadro 2. PROCESAMIENTO DE LOS CORTES SERIADOS DE LOS LECHONES PARA HISTOQUÍMICA E INMUNOHISTOQUÍMICA.

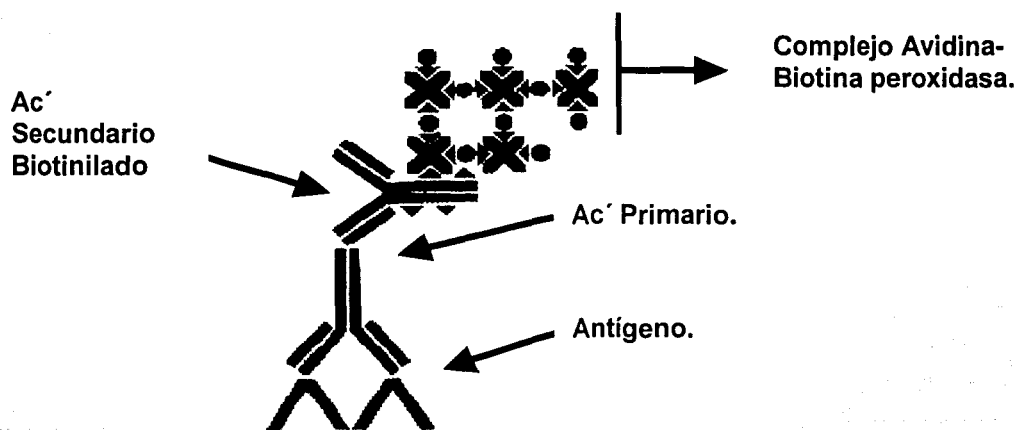
No. de cerdo	Días posinfección	No. de cortes seriados	Procesados por H y E	Procesados por I.H.Q	Procesados por V.M.P
1 y 2	2	375	90	40	15
3 y 4	4	350	84	34	14
5 y 6	6	250	60	30	10
7 y 8	14	125	50	20	5
9 y 10	23	75	18	12	6
11	30	0	0	0	0
12	39	50	12	8	5

HyE= Hematoxilina y Eosina. / I.H.Q= Inmunohistoquímica. / V.M.P= Verde metil-pironina.

La técnica de inmunohistoquímica utiliza como anticuerpo (Ac') primario, suero hiperinmune de ratón parasitado con el metacestodo de *T. crassiceps*, que ha mostrado

poseer una elevada antigenicidad cruzada con *Taenia solium*, ya que se ha encontrado similitud entre ellos, en al menos 3 fracciones antigenicas de 56, 66 y 74 kDa. (16). El Ac' primario se diluyó a diferentes concentraciones utilizándose 1:1000 en solución amortiguada de fosfatos (PBS) + 0.1% de Albúmina Sérica Bovina (ASB); en el procedimiento de inmunotinción se utilizó el CAB (Fig. 5), utilizando HISTOSTAIN-SP KITS (Zymed, Lab., San Francisco, California), corriendo testigos positivos y negativos junto con las secciones muestradas. Ambos testigos consistieron en cortes histológicos de metacestodos de *T. solium*, desarrollados en músculo de un cerdo, con infección natural por el parásito. Al testigo negativo se le aplicó 0.1% de ASB como anticuerpo primario y al control negativo suero hiperinmune de ratón parasitado con el metacestodo de *T. crassiceps*. (Figs. 6 y 7).

Figura 5. INMUNOTINCIÓN POR EL SISTEMA CAB (17).
(modificado de DAKO corporation 1989).



poseer una elevada antigenicidad cruzada con *Taenia solium*, ya que se ha encontrado similitud entre ellos, en al menos 3 fracciones antigenicas de 56, 66 y 74 kDa. (16). El Ac' primario se diluyó a diferentes concentraciones utilizándose 1:1000 en solución amortiguada de fosfatos (PBS) + 0.1% de Albúmina Sérica Bovina (ASB); en el procedimiento de inmunotinción se utilizó el CAB (Fig. 5), utilizando HISTOSTAIN-SP KITS (Zymed, Lab., San Francisco, California), corriendo testigos positivos y negativos junto con las secciones muestradas. Ambos testigos consistieron en cortes histológicos de metacestodos de *T. solium*, desarrollados en músculo de un cerdo, con infección natural por el parásito. Al testigo negativo se le aplicó 0.1% de ASB como anticuerpo primario y al control negativo suero hiperinmune de ratón parasitado con el metacestodo de *T. crassiceps*. (Figs. 6 y 7).

Figura 5. INMUNOTINCIÓN POR EL SISTEMA CAB (17).
(modificado de DAKO corporation 1989).

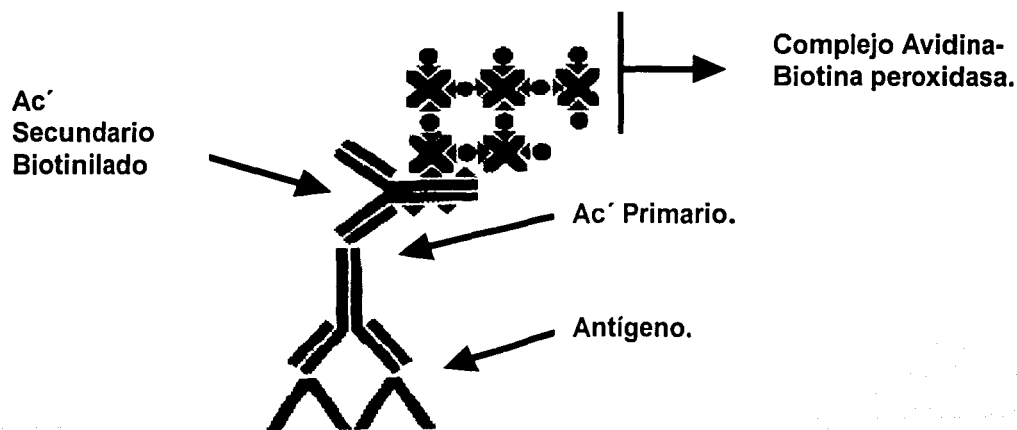




Figura 6. control negativo.
Metacéstodo de *T. solium*, sin positividad
en su tegumento (canal espiral). IHQ 10 X



Figura 7. control positivo.
Metacéstodo de *T. solium*, con positividad
en su tegumento (canal espiral). IHQ 10 X

En el procedimiento de inmunotinción se hicieron modificaciones a la técnica sugerida por el fabricante, las cuales se describen a continuación. Para esta técnica se desparafinaron las secciones en un horno a 60°C toda la noche, posteriormente fueron sumergidas en xileno y rehidratadas en series de concentración decreciente de etanol. Se bloqueo la peroxidasa endógena de los tejidos, con peróxido de hidrógeno al 30% y metanol absoluto a una concentración 1:8 con 2 cambios de 40 min c/u, a partir de este paso se realizaron 3 lavados de 5 minutos c/u con PBS entre cada paso.

Las secciones sumergidas en PBS fueron tratadas en un horno de microondas convencional (18), marca Sanyo modelo EM-N104 a temperatura media (potencia 4) durante 5 min. Posteriormente se les aplicó SBF + 0.1% ASB durante 1hr. 40 min, (19). Se les agrego solución bloqueadora (suministrada por el fabricante) y se colocó el anticuerpo

primario a las secciones, incubándose durante 12 hr. a 4°C.

Se aplicó el Ac´secundario biotinilado durante 30 min y el conjugado de enzima 30min., revelando en 2 minutos con amino-etil-carbazol (AEC), cuya positividad se observa al microscopio fotónico como un material fino, granular de color rojo; y se contratiñó con hematoxilina hidrosoluble, de acuerdo a lo sugerido por el fabricante.

Las secciones procesadas por inmunohistoquímica e histoquímica fueron observadas al microscopio fotónico (Carl Zeiss), se midieron y se tomó registro fotográfico de los parásitos y de las lesiones asociadas a estos, en diferentes tejidos, con la intención de relacionar ambos resultados.

RESULTADOS

Hallazgos macroscópicos:

En los cerdos de 2, 4, y 6 días posinfección (d.p.i) se encontraron múltiples petequias en la superficie diafragmática del hígado, la serosa de los intestinos delgados y los vasos sanguíneos mesentéricos se apreciaron severamente congestionados en forma difusa (Fig. 8). Los vasos linfáticos mesentéricos se encontraron con linfangiectasia moderada.



Figura 8. Vasos sanguíneos mesentéricos congestionados severamente. 2 d.p.i.

En los cerdos de 14 días posinoculación se hallaron estructuras blanquecinas circulares deprimidas en la superficie del hígado y en lengua, de consistencia semidura, y median de 0.05 cm a 0.1 cm de diámetro.

En los cerdos de 23 días posinfección se encontraron numerosas estructuras vesiculares de redondas a ovals en músculos esqueléticos de piernas, maseteros y psoas, algunas de ellas eran traslúcidas, que contenían líquido en su interior, y otras eran blancas duras al

tacto. Las estructuras ovales median de 0.2-0.3 cm de ancho X 0.3-0.4 cm de largo, y las redondas median de 0.3-0.4 cm de diámetro en promedio (Figs. 9 y 10).



Figura. 9 Psoas. Zona amarillenta ovoide (flecha) 23 d.p.i.



Figura. 10 Pierna. Área circular blanquecina 23 d.p.i.

En el cerdo de 30 días posinoculación no se encontraron cambios patológicos macroscópicos en los órganos y tejidos revisados.

En el cerdo de 39 días posinfección se hallaron abundante cantidad de estructuras parasitarias vesiculares redondas u ovales en psoas, piernas, intercostales, maseteros, pterigoideos y una en el lóbulo temporal del hemisferio derecho de la corteza cerebral; algunas de ellas eran traslúcidas, en cuyo interior contenían líquido ligeramente turbio y en un polo o al centro de las mismas se apreciaba un área circular blanca; otras mostraban una apariencia coloidal con escaso líquido en su interior, y otras eran blancas difusas, duras al tacto. Las estructuras ovales median de 0.3-0.5 cm de ancho X 0.5-0.7 cm de largo y las redondas median de 0.5-0.6 cm de diámetro (Figs 11 y 12).



Figura 11. Piel, apreciándose un área circular blanquecina (flecha) 39 dpi.

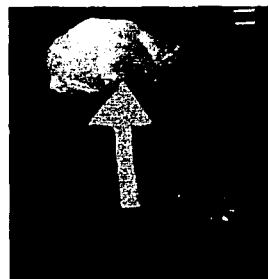


Figura 12. Músculo intercostal, con una estructura vesicular cercana al tejido adiposo (flecha) 39 dpi.

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS A LOS 2 DÍAS POSINFECCIÓN

Se encontraron estructuras microscópicas en diferentes tejidos de acuerdo al cuadro 3

CUADRO 3. ESTRUCTURAS PARASITARIAS HALLADAS EN LOS CERDOS A DIFERENTES TIEMPOS POSINFECCIÓN CON HUEVOS DE *T.solium*

D.p.i	Luz intestinal (I.D)	Serosa intestinal (I.D)	Vaso sanguíneo mesentérico	Linfonodo mesentérico	Hígado	Músculos esqueléticos
2	●	●	●	●		●
4	●				●	●
6						●
14						●
23						●
39						●

D.p.i = Días posinfección / I.D = Intestino delgado.

INTESTINO DELGADO

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

Se observó hiperplasia del tejido linfoide intestinal asociado (placas de Peyer), que infiltraba las vellosidades intestinales, así como abundante cantidad de eosinófilos en la mucosa del órgano. No se observaron estructuras parasitarias.

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

Se encontró una estructura redonda en la luz intestinal de 6 μm de diámetro cuya positividad se halla fuertemente en su periferia, y de forma más tenue y homogénea en su interior, hasta mostrar un área pobremente positiva en su centro (Fig. 13)



Figura 13. Inmuntinción positiva en la luz intestinal. Estructura con material granular rojo, en su periferia (barra = 5 μm 2 dpi.).

En el tejido adiposo adyacente a la serosa de intestino delgado de otra sección, se encontraron 2 estructuras redondas con marcada positividad en su delgada cápsula periférica. La primera mide 11.2 μm de diámetro (Fig. 14), y contiene en su interior material homogéneo de aspecto coloidal tenuemente positivo. La segunda mide 12 μm de diámetro (Fig. 15), y presenta una zona positiva homogénea irregular en su interior, hacia un polo y abarca aproximadamente el 50% de la misma.



Figura 14. Serosa intestinal. Marcada inmunopositividad en la periferia de la estructura oval. (barra = 10 μm . 2 dpi.).

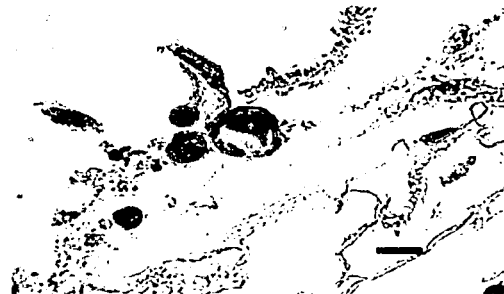


Figura 15. Serosa intestinal. Periferia de la estructura ovoide inmunopositiva, con zona interna positiva. (barra = 10 μm . 2 dpi.).

HISTOQUÍMICA.

Verde Metil Pironina

No se encontraron estructuras en las secciones observadas en los días 2 al 6 posinfección en los diferentes músculos y tejidos mostrados.

VASOS SANGUÍNEOS MESENTÉRICOS

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

En la luz de los vasos sanguíneos no se encontraron elementos celulares o parasitarios. Algunos tenían en su luz moderada cantidad de eritrocitos, plasma y escasos linfocitos o neutrófilos.

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

Se encontró una estructura inmunopositiva de $14.6 \times 11.8 \mu\text{m}$ (Fig. 16), donde se observaron dos áreas circulares fuertemente positivas cercanas una de otra, localizadas en un extremo del parásito y una estructura refringente en forma de gancho (flecha).



Figura 16. Luz de vaso sanguíneo mesentérico. Estructura inmunopositiva, ovoide, mostrando un polo fuertemente positivo y un gancho (flecha). (barra = $10 \mu\text{m}$ 2 dpi.).

LINFONODO MESENTÉRICO

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

Se aprecia marcada hiperplasia de tejido linfoide difusa, sin estructuras parasitarias.

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

Se encontró una estructura circular de 10 μm de diámetro, inmersa en el tejido linfoide, la cual presenta inmunopositividad en algunos segmentos de su membrana externa y con ausencia de positividad en su interior (Fig 17).

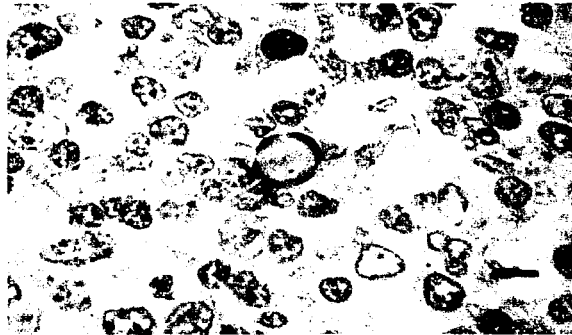


Figura 17. Linfonodo mesentérico. Estructura redonda con cuatro segmentos inmunopositivos (barra = 10 μm . 2 dpi.).

MÚSCULOS ESQUELÉTICOS

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

Se observan discretos focos de miodegeneración y necrosis con infiltrado inflamatorio constituido por linfocitos, escasos macrófagos y fibroblastos. En algunas áreas se aprecian zonas extensas de hemorragia, con fibrina y escasos linfocitos. No se encontraron estructuras parasitarias.

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

Se observaron estructuras inmunopositivas en tejido muscular. Dichas estructuras se observaron en el mismo lugar de dos cortes seriados. En el primero (corte 11), se presentó como una forma circular, conteniendo en su interior material granular difuso, medianamente positivo; midió 22.5 μm de diámetro (figura 18A). En el segundo corte histológico (corte 12), se apreció a esta estructura con un halo laminar o anillo periférico fuertemente positivo, rodeando una estructura circular, cuyo interior también es positivo, mostrando dos zonas circulares blanquecinas (vacuolas), en un extremo de la estructura; la estructura circular sin el "halo", midió 25 μm de diámetro, y con el halo, 34 X 27 μm , (figura 18B).

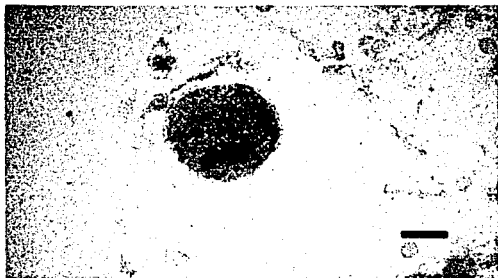


Figura 18 A. Músculo esquelético.
Estructura circular con tenue positividad
inmunopositividad granular.
(barra = 10 μ m. 2 dpi.).

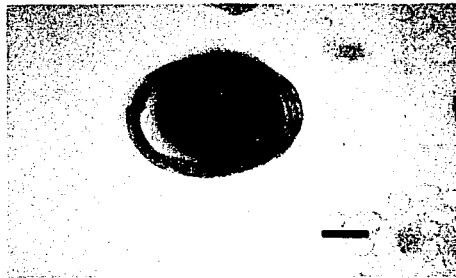


Figura 18 B. Corte adyacente a 18A.
Estructura circular con halo
inmunopositivos, y dos vacuolas
(barra = 10 μ m. 2 dpi.).

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS A LOS 4 DÍAS POSINFECCIÓN.

INTESTINO DELGADO

HISTOQUÍMICA.

Hematoxilina y eosina

En la luz intestinal, cerca del ápice de una vellosidad, se observó una estructura redonda de 22.5 μ m de diámetro en el nivel de corte 5 (Fig. 19 A), rodeada por detritus celulares y células epiteliales descamadas. Esta estructura presentaba una pared refringente, en cuyo interior se observa material eosinofílico granular difuso, en un polo se observó un área con escasos y grandes gránulos oscuros (flecha).



Figura 19 A. Luz intestinal. Estructura circular rodeada por una pared refringente y material granular en su interior(H y E barra = 10 μ m. 4 dpi).

La mucosa intestinal presentaba abundante descamación de su epitelio, fusión de vellosidades y moderada cantidad de infiltrado inflamatorio constituido principalmente por linfocitos y eosinófilos (enteritis eosinofílica moderada difusa) .

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

En el corte adyacente al descrito en la sección con H y E, se observó una estructura redonda similar a la anterior en la luz intestinal en el nivel de corte 6 (Fig. 19 B), la cual es de 22.6 μ m de diámetro, rodeada por detritus celulares, presentando una cápsula ligeramente positiva y refringente; y en su interior se apreció material granular denso, donde algunos gránulos son positivos. Al lado de esta estructura se observaron dos zonas amorfas inmunopositivas.

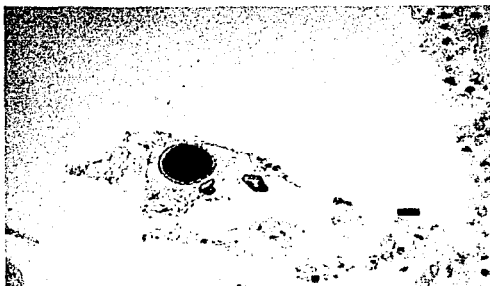


Figura 19 B. Luz intestinal. Corte adyacente al 18 A. Estructura redonda con inmunopositividad granular en su interior, y su periferia refringente (barra = 10 μ m. 4 dpi).

HÍGADO

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

No se observaron estructuras sugestivas a parásitos.

INMUNOHISTOQUÍMICA.

Complejo estreptavidina-biotina

En la luz de un sinusoide hepático, y entre eritrocitos se observó una estructura redonda de 10 μ m de diámetro (Fig. 20), con grandes gránulos fuertemente inmunopositivos, dentro de los cuales se apreciaron algunos focos de color negro (flecha).

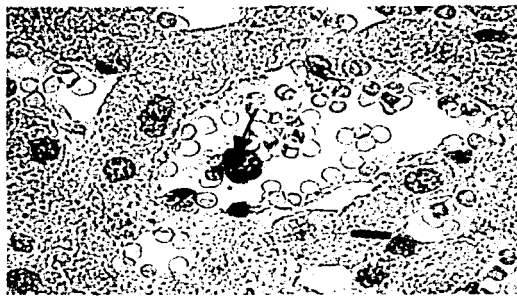


Figura 20. Sinusoide hepático. Estructura redonda inmunopositiva con grandes gránulos en su interior (flecha) (barra = 10 μ m. 4 dpi).

MÚSCULOS ESQUELÉTICOS

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

Entre las fibras musculares se observaron pequeños focos de hemorragia.

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

Se encontró una estructura redonda localizada entre las fibras musculares, la era de 21 μ m de diámetro (Fig. 21), su periferia es fuertemente positiva y en su interior existe un material positivo en menor intensidad, de aspecto coloidal y presentando un área central pálida sin inmunopositividad.

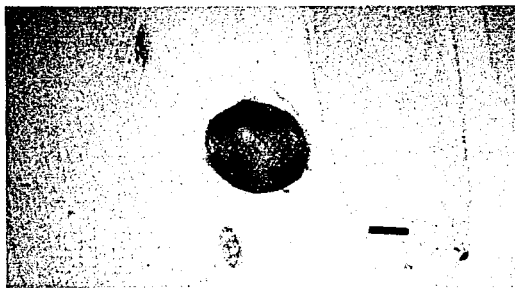


Figura 21. Tejido muscular. Estructura redonda con inmunopositividad de aspecto coloidal (barra =10 μ m. 4 dpi).

HALLAZGOS A LOS 6 DÍAS POSINFECCIÓN

MÚSCULOS ESQUELÉTICOS

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

En los músculos esqueléticos, se aprecian zonas de miodegeneración con la presencia de moderada cantidad de macrófagos, linfocitos y células blásticas (mioblastos), sin la presencia de estructuras parasitarias.

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

Entre las fibras musculares se encontró una estructura de 15 μ m de diámetro (Fig. 22), la cual tenía una pared delgada, y en su interior presenta una zona espiral fuertemente inmunopositiva que involucra aproximadamente el 35% de su interior.



Figura 22. Músculo esquelético. Estructura redonda con inmunopositividad en tres porciones de su interior, formando un espiral (barra = 15 μ m. 6 dpi).

En otras secciones histológicas, se halló una estructura redonda de 9.5 μ m (figura 23), de diámetro con inmunopositividad marcada en su periferia, y de manera más tenue y homogénea en su interior. En la zona central de la misma, se observó un área pálida en forma de "pala".



Figura 23. Tejido muscular. Estructura redonda inmunopositiva con un área interior pálida en forma de pala (barra = 10 μ m. 6 dpi).

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS A LOS 14 DÍAS POSINFECCIÓN

MÚSCULO ESQUELÉTICO.

HISTOQUÍMICA.

Hematoxilina y eosina

Se observó una estructura oval de 750 X 550 μm (Fig. 24), la cual esta constituida por una pared eosinofílica refringente, de la que se originan células mesenquimatosas del parásito, que presentan pequeños núcleos pleomórficos acidofílicos y escasa cantidad de citoplasma fibrilar, con aspecto estrellado y de bordes poco distinguibles (Fig. 24 A) . Estas células se localizan exclusivamente a todo lo largo de la pared del parásito sin apreciarse en el interior de la vesícula.

En la periferia del parásito existen zonas de degeneración de su pared, así como abundante reacción inflamatoria en la periferia, constituida por macrófagos, histiocitos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos.

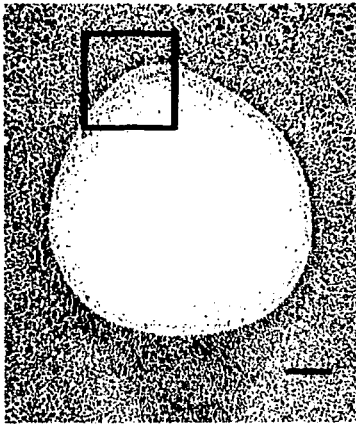


Figura 24. Tejido muscular. Parásito ovoide e infiltrado inflamatorio (H y E, barra =100 μ m 14 dpi).

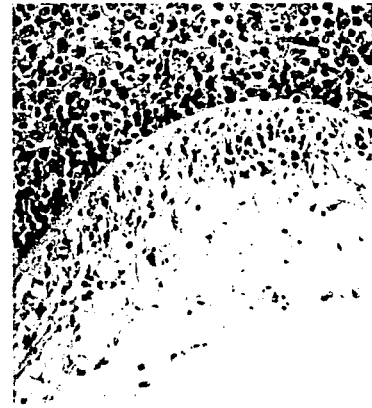


Figura 24 A. Detalle de la figura 23. cutícula y células del parásito, así como infiltrado inflamatorio en su periferia (14 dpi).

Verde metil-pironina

Se observó la estructura oval antes descrita, de color verde pálido sin distinguirse del tejido muscular, o de la reacción inflamatoria asociada al parásito .

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

Se observó la estructura antes mencionada en histoquímica, en otro nivel de corte, la cual mide 750 X 565 μ m, y mostró inmunopositividad en algunos segmentos de su pared (Fig. 25). Los segmentos inmunopositivos fueron los menos degenerados de dicha estructura. Asimismo, se observaron pequeños gránulos positivos dentro del citoplasma de algunos

macrófagos (flecha) asociados, en la reacción inflamatoria (Fig. 25 A).

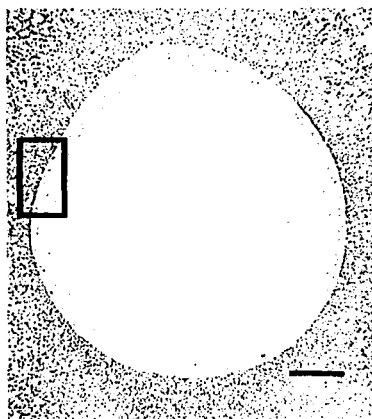


Figura 25. Tejido muscular. Parásito ovoide, con positividad en algunos segmentos de su pared. I.H.Q. barra = 100 μm . 14 dpi.

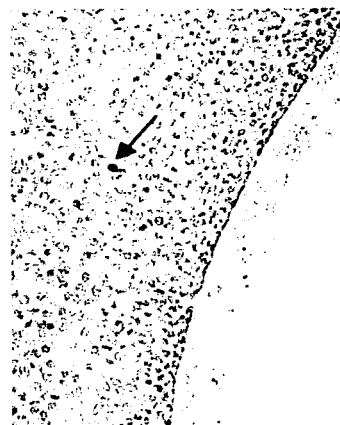


Figura 25 A. Detalle de la figura 24. positividad de la pared parasitaria y dentro de algunos macrófagos (flecha). 14 dpi.

HALLAZGOS A LOS 23 DÍAS POSINFECCIÓN

MÚSCULO ESQUELÉTICO

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

Se encontraron múltiples estructuras parasitarias entre las fibras musculares, en músculos estriados esqueléticos, las cuales presentan diferentes formas y tamaños, oscilando entre 465 X 124 μm (la menor), (Figs. 26 y 26 A), y 1671 X 1414 μm (la mayor), (Figs. 27 y 27 A)

así como diferentes grados de respuesta inflamatoria en su periferia, apreciándose en las secciones histológicas revisadas únicamente tegumento parasitario.

La reacción inflamatoria en contra de los parásitos se encontró constituida principalmente por eosinófilos, linfocitos y macrófagos.

En los pliegues del tegumento de algunos parásitos se pudo apreciar la infiltración de eosinófilos y linfocitos (Figs. 28 y 28 A).

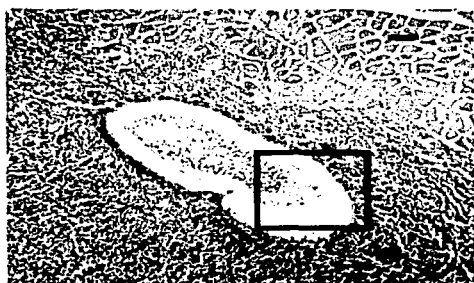


Figura 26. Sección de músculo. Tegumento del parásito e infiltrado inflamatorio (H y E Barra = 100 μ m 23 dpi).



Figura 26 A. detalle de la figura 26, eosinófilos, linfocitos y macrófagos alrededor del tegumento parasitario (23 dpi).

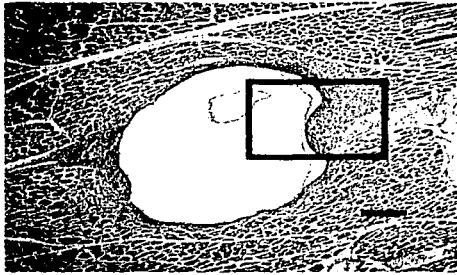


Figura 27. Tejido muscular. Parásito con dos zonas con moderado infiltrado inflamatorio que se extienden alrededor del parásito. (H y E, barra = 350 μ m. 23 dpi).



Figura 27 A. Detalle de la figura 27. Zona de inflamación en un polo del parásito (H y E, 23 dpi).

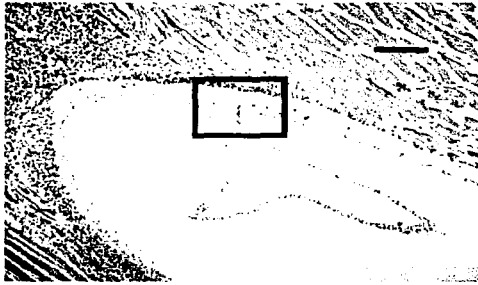


Figura 28. Tejido muscular. Parásito con una porción de su tegumento (H y E, barra = 200 μ m. 23 dpi).



Figura 28 A. Detalle de la figura 28, discreto infiltrado eosinofílico en el pliegue del parásito (H y E, 23 dpi).

INMUNOHISTOQUÍMICA

Complejo estreptavidina-biotina

En las estructuras parasitarias halladas, se encontró fuerte inmunopositividad en algunos segmentos de su tegumento (Figura 29 y 29 A), así como sitios donde la positividad fué mas tenue.

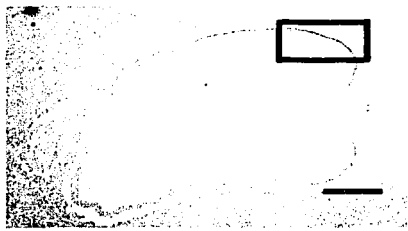


Figura 29. Tejido muscular. Parásito con segmentos inmunopositivos (barra = 200 μ m 23 dpi).

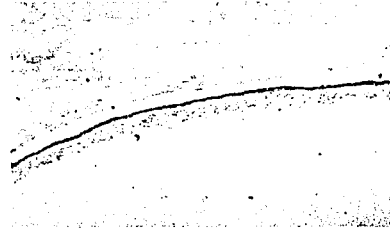


Figura 29 A. Detalle de la figura 29. segmento del tegumento positivo I.H.Q.

Verde metil-pironina

Se encontraron las estructuras parasitarias tenidas muy tenuemente, de color verde pálido, sin distinguirse del resto del tejido adyacente a los parásitos.

HALLAZGOS A LOS 39 DIAS POSINFECCIÓN

MÚSCULO ESQUELÉTICO

HISTOQUÍMICA

Hematoxilina y eosina

Se encontraron diversos parásitos. En alguno, se pudo apreciar el escolex y tegumento, sin severos cambios degenerativos, midiendo $1700 \times 250\mu\text{m}$ y presentado reacción inflamatoria en su periferia por eosinófilos, linfocitos, macrófagos e histiocitos, (Figs. 30, 30 A y 30 B), asimismo se observó cierto grado de degeneración, necrosis y fibrosis del tejido muscular localizado junto al infiltrado inflamatorio, en los diferentes cisticercos encontrados (Figs. 31 y 31 A). En otras zonas se encontraron estructuras parasitarias con su tegumento severamente degenerado por extenso infiltrado en su periferia, por macrófagos, epitelioides, eosinófilos y en menor cantidad linfocitos (Figs. 32 y 32 A).

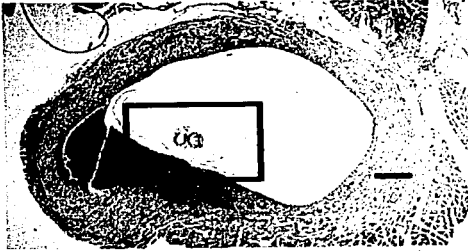


Figura 30. Tejido muscular. Parásito mostrando su escolex , y rodeado por infiltrado inflamatorio (H y E, barra = 250 μ m 39 dpi).

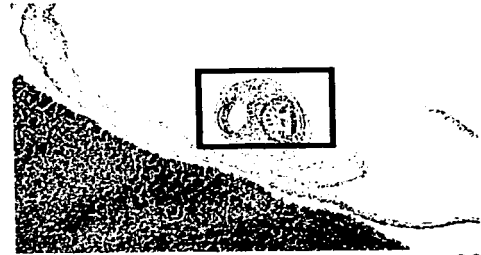


Figura 30 A. Detalle de la figura 30. Porción cefálica del parásito (H y E, 39 dpi).

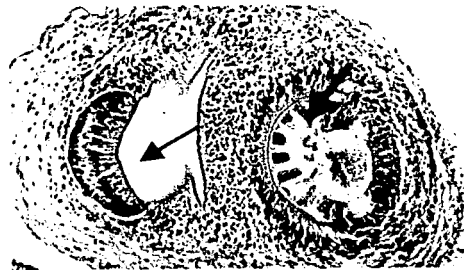


Figura 30 B. Detalle de la figura 30 A. Escolex que presenta ventosa(flecha delgada), y ganchos refringentes (flecha gruesa), (H y E, 39 dpi).



Figura 31. Tejido muscular. Parásito con moderada reacción inflamatoria en su periferia (H y E. barra = 300 μ m 39 dpi).

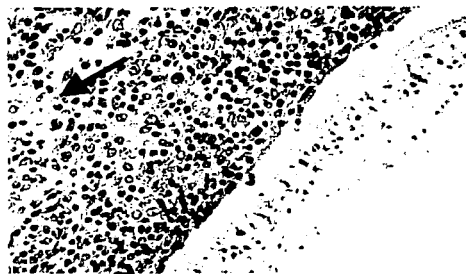


Figura 31 A. Detalle de la figura 31. inflamación alrededor del parásito y degeneración muscular(flecha), (H y E, 39 dpi).

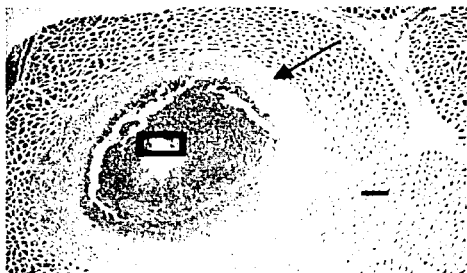


Figura 32. Tejido muscular. Cisticerco severamente degenerado, con infiltrado inflamatorio a su periferia y fibrosis (flecha), (H y E barra =250 μ m 39 dpi).

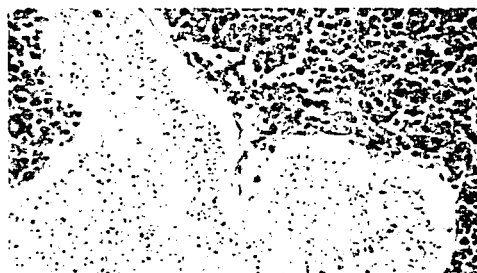


Figura 32 A. Detalle de la figura 32. degeneración del tegumento del parásito, e infiltrado inflamatorio (H y E, 39 dpi).

INMUNOHISTOQUIMICA

Complejo estreptavidina-biotina

Se realizó inmunohistoquímica de algunas secciones histológicas de cisticercos con severos cambios degenerativos e inflamatorios, sin observarse claramente la inmunopositividad en los parásitos revisados.

Verde metil-pironina

Los cisticercos encontrados se tiñen de color verde pálido, al igual que el músculo del huésped, no encontrando diferencia entre éste, y el tejido del parásito.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se observaron estructuras macroscópicas compatibles con estadios tempranos parasitarios de *T. solium*, a partir del día 14 posinfección, en el hígado y lengua, identificadas como formas circulares blanquecinas de 0.05 a 0.1cm. Esto coincide con el tiempo en el que Pathak *et al.* (20), identifican macroscopicamente las formas tempranas de *C. tenuicollis*, en cabras, donde observan, los estadios posoncosferales a partir del día 15 posinfección (pi). Sin embargo, Yoshino (10), identifica los estadios juveniles de *T. solium* desde los 6 días y 15 hr, en músculo y otros órganos como formas ovaes sólidas que varían en tamaño de 0.320-0.448 mm de largo y 0.256-0.375 mm de ancho.

Por medio de la observación microscópica con la técnica de H E, no se apreciaron formas parasitarias en los primeros días posinfección, debido tal vez al limitado conocimiento de su morfología y al inmenso panorama celular de los diferentes tejidos donde migra y se enquista el parásito. Únicamente una estructura fue identificada a los cuatro días posinfección en el ápice de una vellosidad de intestino delgado, y posteriormente fueron claramente visibles a partir del día 14 pi, en músculos esqueléticos.

En las secciones histológicas teñidas con Verde Metil Pironina, no se identificaron formas

tempranas del desarrollo, o diferenciación de las posoncosferas y aún cuando los parásitos mas desarrollados se lograban observar claramente, con la técnica histológica convencional (14 dpi.), en estos no se apreció clara actividad en el componente nuclear y citoplasmático de la células parasitarias, a diferencia de lo citado por Silverman, (15) quien observa reactividad del componente celular en embriones hexacantos de *T. pisiformis* y *T. saginata*. Posiblemente los datos no son comparables, debido a que la síntesis de proteínas celulares, ocurre posterior a la fase intermedia de la mitosis (21), por lo que la reactividad en la tinción es mayor en esta fase y las células parasitarias de las muestras teñidas, no se encontraban a mitad de la mitosis.

Con la técnica de inmunohistoquímica, se pueden identificar con mas facilidad los estadios posoncosferales en los diferentes días posinfección, con respecto a otros métodos histoquímicos, por teñir al parásito de forma específica. Con esta técnica de inmunotinción (complejo steptavidina-biotina), las estructuras parasitarias identificadas no mostraron cambios significativos en cuanto a tamaño de los 2 a los 6 d.p.i, variando desde 6 μm de diámetro y 34 x 27 μm , estos hallazgos son comparables a lo encontrado por Harris *et al.*(22), con sus experimentos *in vitro*, en el desarrollo de *E. granulosus*, donde las oncosferas activadas miden 16 μm de diámetro, alcanzando los 30 μm al día 8 posactivación. Por otro lado, Engelkirk y Williams en 1982 (23), y Yoshino en 1933 (10),

trabajando con *T. taeniaeformis*, y *T. solium* respectivamente, encontraron que los estadios posoncosferales en los primeros días de desarrollo son de mayor tamaño, midiendo la posoncosfera de *T. taeniaeformis* 50 μm al día 4, y 250 μm al día 6 pi, y la de *T. solium* de 30 a 58 μm de largo X 27 a 54 μm de ancho, entre los días 2 y 3 pi; y de 320 a 448 μm de largo X 256 a 375 μm de ancho a los 6 días y 15 hr. pi. Estos datos no son comparables con el presente trabajo, en cuanto a tamaño de las estructuras, muy probablemente debido al nivel de corte y las formas redondas u ovoides de las mismas.

A partir del día 14 posinoculación hasta el día 39, las formas parasitarias se encuentran de gran tamaño, y detectadas macroscópicamente, en los músculos esqueléticos. (750 X 550 μm a los 14 dpi –1700 X 250 μm a los 39 dpi).

Entre los días 6 y 14 pi, se desconoce el tamaño y morfología del parásito debido a que no se obtuvieron muestras entre esos tiempos, sin embargo existe un crecimiento considerable del parásito en este intervalo, ya que a los 6 d.p.i. midió 15 μm y a los 14 d.p.i. midió 750 X 550 μm .

Se lograron identificar formas tempranas de desarrollo en los diferentes tejidos y a diferentes días posinfección de acuerdo al cuadro 3.

Yoshino en 1933 (10), describe la presencia de posoncosferas de *T. solium* en la mucosa intestinal hasta los 2 dpi. Sin embargo en este trabajo, se lograron observar posoncosferas

aún a los 4 dpi. y en concordancia con lo descrito por este mismo autor se identificaron parásitos desde los 2 días pi, en músculos esqueléticos.

La presencia de estructuras parasitarias en linfonodo mesentérico, sugiere la posibilidad de que el parásito migre utilizando los conductos linfáticos mesentéricos y conducto torácico para su diseminación y posterior enquistamiento en los diferentes músculos y tejidos.

La morfología de los primeros estadíos del parásito, entre los 2 a 4 dpi, es de forma redonda, con material granular amorfo en su interior, rodeado por una membrana laminar; similar a lo observado en el desarrollo de *E. granulosus* a los 3 días por Harris *et al.*(22), en 1987, y Holcman *et al.* en 1994 (24). En alguna posoncosfera de *T. solium* se pudo encontrar un gancho presente, dentro de la luz de un vaso sanguíneo mesentérico (únicamente en el día 2 pi.), acorde con lo descrito por Yoshino 1933, quien encontró escasas posoncosferas con ganchos a los 2 d.p.i, y las considera como formas transitorias del parásito y a lo referido en *T.taeniaeformis*, por Engelkirk y Williams (23).

También se aprecian en algunas estructuras parasitarias, formaciones vacuolares en su interior, como lo indican en *T. hydatigena*, *T. serialis* y *E. granulosus*, a los días 3, 4 y 5 de desarrollo, Heath y Smyth en 1970 (12), y en *E. granulosus*, Harris *et al.* (22).

A los 6 dpi, el componente granular positivo por inmunohistoquímica de la estructura parasitaria, se encontró dispuesto en forma de espiral; en este sentido dicha observación

varía de lo descrito por Yoshino (10), que refiere que a ese tiempo pi. existe crecimiento de células pleomórficas con procesos protoplasmáticos, en un polo del parásito; dicha variación en cuanto a morfología puede deberse a la orientación de los cortes histológicos. En este trabajo, el acomodo del componente interno del parásito, puede interpretarse como una organización interna de la estructura parasitaria, acorde a lo mencionado por Yoshino (10).

En el día 14 de desarrollo, el parásito se encontró con forma oval y se apreció su tegumento claramente constituido por una cutícula y células subcuticulares fusiformes, que se localizan exclusivamente alrededor de la misma. En cortes seriados de este parásito, no se observó el constituyente celular de su porción invaginada, debido a que los niveles de corte no abarcaron la totalidad del organismo.

A los días 23 y 39 posinfección, se observan metacéstodos bien desarrollados con la técnica de Hematoxilina y Eosina, identificándose su tegumento, la invaginación del mismo, así como la porción del escolex, con la presencia de ventosas y ganchos.

En cuanto a la interacción huésped parásito, de los 2 a 6 días posinfección, no se encontraron cambios microscópicos significativos, en los tejidos del huésped, únicamente congestión en las secciones histológicas revisadas. A partir del día 14 de desarrollo (que coincide con el crecimiento mas evidente del parásito), se aprecia una respuesta inflamatoria en contra del parásito constituida por abundantes eosinófilos, linfocitos,

macrófagos y células epitelioides, degenerando parte de su tegumento. De acuerdo al grado de reacción inflamatoria fue catalogada como grado III (25). En los días 23 y 39 posinfección, se apreciaron diversos grados de reacción inflamatoria en contra de los parásitos, desde el grado II, (moderado infiltrado zonal por eosinófilos, linfocitos y macrófagos) hasta los grados IV y V, donde existe abundante cantidad de células gigantes fagocíticas, macrófagos, linfocitos y eosinófilos, así como degeneración y necrosis del parásito.

La ausencia de reacción inflamatoria alrededor del parásito en los primeros días posinfección, posiblemente este ligada a la secreción de sustancias por parte del parásito, que pueda evadir la respuesta inmune del huésped, como el denominado "factor metacéstodo" (MF), que de manera inespecífica, inhibe la respuesta inflamatoria al provocar la disminución en la producción de citocinas (26). Esta disminución en la producción de citocinas como la interleucina-1 y el factor de necrosis tumoral, posiblemente este asociada a la producción de eicosanoides, como la prostaglandina E₂ (PGE₂), por parte del parásito que inhibe la respuesta inflamatoria, como lo observado en otros metacéstodos como *Hydatigera taeniaeformis* y céstodos como *T. saginata* e *Hymenolepis nana*. (27). Otro mecanismo conocido que pudiese afectar la respuesta inflamatoria en contra del metacéstodo de *T. solium*, es la propiedad de su antígeno B, que actúa similar a la

fibronectina, cuya acción promueve el crecimiento de colágena en el huésped alrededor del parásito, y de este modo lo protege de agresiones celulares y moleculares (28).

CONCLUSIONES

En este estudio se lograron identificar por métodos histoquímicos e inmunohistoquímicos, diferentes estadios parasitarios de *C. cellulosae*, así como los tejidos en donde se encuentra el parásito a diferentes tiempos posinfección y la interacción huésped parásito.

Se concluye, que el método inmunohistoquímico es el mejor para identificar formas tempranas del desarrollo del metacéstodo de *T. solium* en cerdos.

Los estadios posoncosferales a los 2 días posinfección se localizaron en la luz del intestino delgado, vasos sanguíneos mesentéricos, linfonodos mesentéricos y músculos estriados esqueléticos.

El hecho de haber encontrado estadios posoncosferales en linfonodos mesentéricos, indica que estos pueden viajar por vía linfática.

A los 4 días posinfección las estructuras parasitarias se encontraron aún en la luz intestinal, hígado y músculos estriados, y a partir de 6 a los 39 d.p.i. se localizaron en músculos estriados.

Las estructuras parasitarias, no manifiestan grandes cambios en su morfología y tamaño

de los 2 hasta los 6 d.p.i.

A partir del día 14 posinfección se identifica notoriamente el parásito con métodos convencionales de histoquímica.

En los primeros días posinfección (de los 2 a los 6), no se apreció reacción inflamatoria alrededor del parásito, lo que abre la pauta para que en futuros estudios se investiguen mas a fondo los mecanismos que utiliza el parásito para evadir la respuesta inmune en contra del mismo, y de este modo comprendamos mejor, la instalación tan exitosa del parásito en los tejidos de los huéspedes.

LITERATURA CITADA

1. Nieto D. Historical Notes on Cysticercosis. In: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Ridaura C, Beltrán F, editors. Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. Academic Press, 1982 :1-7.
2. Biagi F. Epidemiología de la cisticercosis en México. Gac. Med. Mex. 1972 ; 103 :227-230.
3. Aluja SA, Escobar A, Escobedo F, Flisser A, Laclette JP, Larralde C, *et al.* Cisticercosis. Una recopilación actualizada de los conocimientos básicos para el manejo y control de la cisticercosis causada por *Taenia solium*. 1ª ed. México: Fondo de Cultura Económica, 1987.
4. Villagrán UJ, Olvera RJ. La cisticercosis en el material de autopsia del Hospital General de México. En : Flisser A, Malagón F, editores. Cisticercosis Humana y Porcina . Su conocimiento e investigación en México. Limusa, 1989 ; 97-105.
5. Acevedo HA. Economic Impact of Porcine Cysticercosis. In: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Ridaura C, Beltrán F, editors. Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. Academic Press, 1982 : 63-67.
6. Vargas GM, Saldierna U, Navarro RF, Acevedo AH, Flisser AM, Aluja AS. Localización

del cisticerco de la *Taenia solium* en diferentes regiones musculares del cerdo y su importancia para la inspección sanitaria. Vet Mex. 1986 ;17 :275-279.

7. Cañedo L. Evagination of the Metacestode of *Taenia solium*. In: Flisser A, Willms K, Laclette JP, Riadura C, Beltrán F, editors. Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. Academic Press, 1982 :363-373

8. Molinari JL, Tato P, Lara RA, Clinton AW. Effects of serum from neurocysticercosis patients on the structure and viability of *Taenia solium* oncospheres. J. Parasitol. 1993 ;79 :124-127.

9. Aluja SA. Manchas de leche (milk spots) por metacéstodos de *Taenia solium* en hígados de cerdo. Vet. Mex. 1994;25:155-156.

10. Yoshino K. Studies on postembryonal development of *Taenia solium* part II. J.Med. Ass. Formosa. 1933 ;32.

11. Salis J. Morphology of *Cysticercus cellulosae* and *Cysticercus bovis*. In: Slais J. The Morphology and Pathogenicity of the Bladder Worms. Academia Praha, Czechoslovak.1970; 29-75.

12. Heath DD, Smyth JD. In vitro cultivation of *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena*, *T. Ovis*, *T. pisiformis* and *T. serialis* from oncosphere to cystic larva. Parasitol. 1970; 61:329-343.

13. Wang IC, Ma YX, Kuo CH, Fan PC. A comparative study on egg hatching methods and oncosphere viability determination for *Taenia solium* eggs. *Int.J.Parasitol.*1997;27: 1311-1314.
14. Lapage G. *Parasitología Veterinaria*. 9ª impresión, México: Editorial Continental S.A de C.V. 1984; 290-292.
15. Silverman PH. Studies on the biology of some tapeworms of the genus *Taenia*. II-The morphology and development of the taeniid hexacanth embryo and its enclosing membranes, with some notes on the stage of development and propagation of gravid segments. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 1954 ; 48 : 356-366.
16. Valdez F, Hernández M, Govezensky T, Fragoso G, Scitutto E. Immunization against *Taenia crassiceps* cysticercosis: Identification of the most promising antigens in the induction of protective immunity. *J.Parasitol.*1994; 80:931-936.
17. Naish SJ, Boenisch T, Farmilo AJ, Stead RH. *Handbook Immunochemical staining methods*. USA:Dako Co.,1989.
18. Taylor CR, Shi S-R, Cote RJ. Antigen retrieval for immunohistochemistry. *Appl. Immunohistochem.* 1996;4:144-166.
19. Taylor CR. *Immunomicroscopy: A diagnostic tool for the surgical pathologist*.Vol.19. USA:W.B. SaundersCo.,1986.

20. Pathak KM, Gaur SN, Sharma SN. The pathology of *Cysticercus tenuicollis* infection in goats. *Vet. Parasitol.* 1982;11: 131-139.
21. Roels H. Mitosis and desoxyribonucleic acid content of the nucleus. *Nature Lond.* 1954;173: 1039.
22. Harris A, Heath DD, Lawrence SB, Shaw RJ. *Echinococcus granulosus*: Ultrastructure of epithelial changes during the first 8 days of metacestode development *in vitro*. *Int.J.Parasitol.* 1989; 19: 621-629.
23. Engelkirk PG, Jeffrey W F. *Taenia taeniaeformis* (cestoda) in the rat: Ultrastructure of the host -parasite interface on days 1 to 7 postinfection. *J. Parasitol.* 1982;64(4): 620-633.
24. Holcman B, Heath DD, Shaw RJ. Ultrastructure of oncosphere and early stages of metacestode development of *Echinococcus granulosus*. *Int.J.Parasitol.* 1994; 24 (5): 623-635.
25. Aluja SA, Vargas G. The histopathology of porcine cysticercosis. *Vet. Parasitol.* 1988; 28: 65-77.
26. Arechavaleta F, Molinari JL, Tato PA. *Taenia solium* metacestode factor nonspecifically inhibits cytokine production. *Parasitol. Res.* 1998; 84: 117-122.
27. Dausgies A, Joachim A. Eicosanoids in parasites and parasitic infections. *Adv.Parasitol.* 2000; 46: 181-240.

28. Plancarte A, Flisser A, Larralde C. Fibronectin like properties of antigen B from cysticerci of *Taenia solium*. In: Flisser A, Willms K, Laclette J P, Ridaura C, Beltrán F, editors. Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. Academic Press, 1982:453-463.