



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**IMPLANTACIÓN QUIRÚRGICA DE CISTICERCOS (*Taenia solium* y *Taenia
crassiceps*) EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DEL CERDO**

T E S I S
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA
ARMANDO TREJO TORRES

TUTOR PRINCIPAL: ALINE SCHUNEMANN DE ALUJA FMVZ UNAM

COMITÉ TUTORAL: EDDA SCIUTTO CONDE IIBM - UNAM

AGNÉS ODILE MARIE FLEURY IIBM-UNAM

MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

Gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda. Con todo mi cariño esta tesis se las dedico a ustedes:

A la MVZ. Juana Guadalupe Pérez Gómez, mi compañera, amiga, confidente, cómplice, colega y amor de mi vida.

Al angelito (Tenoch), que ha llegado a iluminar mi vida en días recientes.

A mi madre (Elia Torres Noguerón), que con base a paciencia logró hacerme crecer, y comprender que todo en la vida requiere esfuerzo y sacrificio.

A mis hermanos (Claudia y Hugo), que han estado conmigo a través de esta aventura que es la vida.

A mis sobrinos (Alejandro, Huguito y Satyuri), porque me han enseñado que la imaginación de un niño es muy importante en momentos difíciles.

A mi papá (Tomás Trejo), que muy a su modo ha estado pendiente de mí en esta aventura.

A la MVZ. Aline S. de Aluja, que me ha enseñado que con un poco de paciencia, y confianza el trabajo sale adelante.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, y en especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por todas las cosas que me ha brindado como profesional y como humano.

A mi madre: Elia Torres Noguerón, por haberme dado el regalo mas hermoso que es la vida, y que gracias a ello llegué a este momento.

A mi padre: Tomás Trejo Castañeda.

A mi esposa: MVZ. Juana Guadalupe Pérez Gómez, por todo el apoyo que me brindo (limpiar corrales, sangrar cerdos, desveladas a mi lado tratando de hacer un buen escrito, y por ser mi motor para seguir adelante)

A mis hermanos (Claudia y Hugo), por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar.

A mis asesoras de Tesis:

A la MVZ. Aline S. de Aluja, que me brindó la oportunidad de trabajar a su lado; y por tener paciencia y por ser un ejemplo de calidad humana y profesionalismo.

A la Dra. Agnés Odile Marie Fleury, que me apoyo en la realización de este proyecto, y que confió en mi.

A la Dra. Edda Sciutto Conde, por las observaciones muy puntuales para concluir este trabajo.

A mis sinodales:

Dra Guillermina Ávila Ramírez, quién me enseñó que hasta los pequeños detalles son muy importantes, por las observaciones al escrito y que me ayudaron a mejorarlo.

Dra. Yazmin Álcala Canto, por las observaciones realizadas para que este trabajo mejore.

Dra. Gladis del Carmen Fragoso González, por el tiempo brindado a mejorar este escrito y por su apoyo en la realización de la evaginación *in vitro*.

Dra. Irene Cruz Mendoza, por las correcciones realizadas a esta tesis, que ayudaron a mejorarla.

A la Dra. Nelly Villalobos, por colaborar en este proyecto de tesis, aportando el material biológico para la realización de los experimentos.

A la Técnico Académico Maribel Nieto Miranda, por el procesamiento de las muestras de tejido y la realización de las laminillas.

A la Sra. Isabel Aguilar, quién ha contribuido de manera muy importante en la realización de este trabajo.

A la Dra. Marisela Hernández, por la realización de las ELISAs para este trabajo.

Al Neurocirujano Roberto Martínez, por la realización de las neurocirugías.

Al Sr. Virgilio Nava, por su apoyo en el cuidado de los animales durante la duración del experimento.

A los colaboradores del Programa de Control para la Teniosis-Cisticercosis: Los MVZ. Juana G. Pérez Gómez, MVZ. Luis David Arroyo Aguas, MVZ. Alejandro Gallegos García, MVZ. Raúl Suárez Marín, MVZ. Arturo López Rodríguez, MVZ. Miguel Galarde López, MVZ. Antonio de Jesús Celis Trejo.

A la Unidad Periférica para el estudio de Neuroinflamación en Patologías Neurológicas INNN- Instituto de Investigaciones Biomedicas, UNAM.

Al proyecto “NEUROCISTICERCOSIS HUMANA: DESARROLLO DE UN MODELO DE NEUROCISTICERCOSIS PORCINA PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROINFLAMACIÓN Y DE NUEVOS TRATAMIENTOS” con número 106154 financiado por CONACYT.

A la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, por su apoyo mediante el Convenio SENASICA-UNAM 31367-591-21-III-12.

Al Programa de Apoyo de Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (DGAPA-PAPIIT), por el apoyo otorgado PAPIIT IT231411.

IMPLANTACIÓN QUIRÚRGICA DE CISTICERCOS (*Taenia solium* y *Taenia crassiceps*) EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DEL CERDO

Armando Trejo T. ^{1*}, Aluja Aline. ¹, Agnès Fleury O. ^{2,3}, Edda Sciutto C. ²
Proyecto financiado por CONACYT 106154

El objetivo del presente trabajo fue el de estandarizar un modelo experimental de neurocisticercosis porcina inoculando oncosferas activadas de *Taenia solium* directamente en el sistema nervioso central del cerdo, para así estudiar la reacción inmuno-inflamatoria local y sistémica asociada con la infección. Se realizaron dos experimentos, en uno se inocularon cisticercos y en otro se inocularon oncosferas de *Taenia solium*, activadas *in vitro*, en el sistema nervioso central del cerdo mediante neurocirugías. Doce cerdos de 2-3 meses de edad se incluyeron en cada uno de los experimentos, 8 fueron inoculados con oncosferas de *T. solium* en el sistema nervioso central, 2 vía intra-muscular, y 2 fueron controles de cirugía. Se tomaron muestras de suero (antes de la infección y cada 21 días); se evaluaron por ELISA los niveles de anticuerpos y antígenos específicos. Las necropsias se realizaron 4 meses post infección. Los encéfalos se recuperaron para realizar estudios de histopatología. En el primer experimento no se logró establecer la infección, no hubo desarrollo de cisticercos en el sitio de inoculación. El segundo experimento resultó exitoso; en todos los cerdos inoculados con oncosferas se observaron cisticercos cercanos al sitio de inoculación al momento de la necropsia. Los animales de los cuatro grupos presentaron valores por encima del punto de corte en anticuerpos (a partir de 5 semanas post infección) y antígenos (12 semanas post infección). Los resultados obtenidos en este trabajo indican la factibilidad de evaluar a futuro nuevos tratamientos; así como aumentar los conocimientos acerca de los componentes de la reacción inflamatoria asociada a la neurocisticercosis.

Palabras Clave: neurocisticercosis, oncosfera, inmuno-inflamatoria, anticuerpos, inoculación experimental, antígenos.

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Escolar Exterior s/n, 04510 México, D.F., México. e_mail: treta_81@hotmail.com

²Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Insurgentes Sur 3877, Col. La Fama, Delegación Tlalpan, 14269 México, D.F., México.

³Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, D.F., México.

SUMMARY

This study was designed to standardize an experimental model of porcine neurocysticercosis inoculating activated *Taenia solium* oncospheres directly into the central nervous system of the pig, in order to study the local inflammatory immune reaction and associated systemic infection. Two experiments were conducted: inoculation of cysticerci and *Taenia solium* activated oncospheres in vitro in the central nervous system of pigs by neurosurgery. Twelve pigs 2-3 months of age were included in each experiments, 8 were inoculated in the central nervous system, 2 intramuscularly, and 2 remained as surgical controls. Serum samples were taken (before infection and every 21 days) and were evaluated by ELISA and antibody levels of specific antigens. Necropsies were performed 4 months post infection. The brains were recovered for histopathological studies. The first experiment failed to establish infection, there was no development of cysticerci at the site of inoculation. The second experiment was out successful. In all pigs inoculated with oncospheres cysticerci near the site of inoculation were found at the time of necropsy. All animals showed increases in antibody titers (after 5 weeks post inoculation) and antigens (3 months post inoculation) above the threshold value. This results

Key words: neurocysticercosis, oncosphere, experimental model, inflammatory, immune, antigen, antibody

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	ANTECEDENTES.....	1
1.2	RESPUESTA INMUNO-INFLAMATORIA ASOCIADA A LA NEUROCYSTICERCOSIS	2
1.3	JUSTIFICACIÓN	5
1.4	HIPOTESIS.....	5
1.5	OBJETIVO GENERAL.....	5
1.6	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
2	MATERIAL Y MÉTODOS.....	7
2.1	ANIMALES	7
2.2	RECUPERACIÓN Y PREPARACIÓN DE METACESTODOS, EXPERIMENTO 7	7
2.3	IMPLANTACIÓN DE METACESTODOS.....	8
2.4	RECUPERACIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS ONCOSFERAS, EXPERIMENTO 2	10
2.5	INFECCIÓN	11
2.6	TOMA DE MUESTRAS.....	11
2.7	RECUPERACIÓN DE LOS ENCÉFALOS	12
2.8	DESCRIPCIÓN DE LA RESPUESTA INMUNO-INFLAMATORIA LOCAL EN EL SNC, POR HISTOPATOLOGÍA.....	13
2.9	DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS.....	15
2.10	DETECCIÓN DE SECRECIÓN DE ANTÍGENO HP 10 EN SUERO DE CERDO 15	15
2.11	DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG TOTALES EN SUERO DE CERDO	16
2.12	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	17
3	RESULTADOS EXPERIMENTO 1	18
3.1	NECROPSIA	18
3.2	HISTOPATOLOGÍA	18
3.3	MEDICIÓN DE ANTÍGENO PARASITARIO HP 10 EN SUERO	18
3.4	MEDICIÓN DE ANTICUERPOS ANTI- <i>T.solium</i> EN SUERO	19
3.5	EXPERIMENTO CON <i>Taenia crassiceps</i>	19
4	RESULTADOS EXPERIMENTO 2.....	20
4.1	NECROPSIA	20
4.2	HISTOPATOLOGÍA	21
4.3	MEDICIÓN DE ANTÍGENO PARASITARIO HP 10 EN SUERO	23
4.4	MEDICIÓN DE ANTICUERPOS ANTI- <i>T. SOLIUM</i> EN SUERO	24
5	DISCUSIÓN.....	25
6.	CONCLUSIONES.....	33
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
8.	CUADROS Y FIGURAS	42

IMPLANTACIÓN QUIRÚRGICA DE CISTICERCOS (*Taenia solium* y *Taenia crassiceps*) EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DEL CERDO

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

La Neurocisticercosis (NC) es una enfermedad parasitaria causada por el establecimiento de las formas larvianas (cisticercos o metacestodos) de *Taenia solium* en el sistema nervioso central (SNC) del hospedero, que puede ser el humano o el cerdo y excepcionalmente otros carnívoros, como el perro.

En países de Latinoamérica, Asia, África sub-Sahariana y partes de Oceanía, la NC aún es una enfermedad común y es una importante causa de epilepsia adquirida a nivel mundial ([Nash et al., 2006](#)).

En México como en muchos otros países endémicos, los primeros estudios para determinar la frecuencia de la NC se realizaron en hospitales y en series de necropsias. Se encontraron frecuencias de hasta el 8.6% en pacientes hospitalizados y alrededor del 2% en necropsias de adultos ([Antoniuk et al., 1999](#); [Fleury et al., 2003](#)).

En dos estudios epidemiológicos realizados en medio rural en los Estados de Morelos y Puebla, se encontraron prevalencias de NC en los humanos de entre 9 y 9.5% utilizando como criterio diagnóstico los resultados de la tomografía computarizada (TC), ([Fleury et al., 2003, 2006](#)), mientras que estudios de prevalencia hospitalaria publicados en la Gaceta Médica de México mostraron que entre 1995 y 2001, en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de México, la NC fue la novena causa de mortalidad hospitalaria y la quinta causa de morbilidad ([Jiménez-Marcial y Velásquez-Pérez 2004](#)).

La mayor parte de la patología de la NC se debe a la respuesta inmune del hospedero, a la presencia de los metacestodos de *T. solium* en el cerebro. El estudio de esta respuesta inmune se ha visto obstaculizada debido a la complejidad para obtener muestras de tejido cerebral de pacientes y a la compleja biología del parásito. La respuesta inmune puede variar dependiendo del periodo de incubación, número y localización de los cisticercos en el cerebro, así como el estado de los cisticercos (vivos o en varios estados de desintegración) (Cardona *et al.*, 1999).

El cerdo, hospedero intermediario natural de la fase larvaria de *T. solium*, es la especie más adecuada para reproducir un modelo experimental de NC. En esta especie se ha logrado desarrollar la infección inoculando las oncosferas eclosionadas *in vitro* directamente en las masas musculares (Verástegui *et al.*, 2000), también se ha logrado realizar infecciones experimentales administrando por vía oral huevos y proglótidos de *T. solium* (de Aluja *et al.*, 1996; Sciutto *et al.*, 1998; Nguékman *et al.*, 2003). El uso de los cerdos como modelos animales para la cisticercosis es ideal debido a que la descripción histológica de la respuesta del animal alrededor del parásito se asemeja a la registrada en muestras humanas (Lodoño *et al.*, 2002).

1.2 RESPUESTA INMUNO-INFLAMATORIA ASOCIADA A LA NEUROCISTICERCOSIS

El conocimiento de la respuesta inmune en la cisticercosis es relevante para entender los mecanismos inmunológicos que el hospedero desarrolla ante el parásito y por ende facilitar el tratamiento. En humanos la NC puede ser

completamente asintomática o puede presentar una gran variedad de síntomas no específicos (dolor de cabeza, epilepsia, demencia, depresión o hipertensión intracraneal). Las causas del porque la presentación clínica de esta enfermedad es tan variable no están muy claras, se cree que se debe a la interacción de factores del hospedero (estado inmunológico, edad, genética y género), factores del propio parásito y factores de exposición al mismo (Chavarría *et al.*, 2006; Alvarez *et al.*, 2002).

El cisticerco es un parásito complejo y como tal expresa un conjunto muy extenso de antígenos y cada uno de estos tiene la capacidad de inducir una respuesta inmunológica de características particulares. Esta diversidad antigénica podría contribuir al pleomorfismo que se presenta en la neurocisticercosis (Ramos-Kuri *et al.*, 1992). Algunos de estos antígenos podrían estimular la producción de anticuerpos específicos, mientras que otros podrían participar en la evasión por parte del cisticerco de los mecanismos inmunológicos del hospedero contra este (Flisser *et al.*, 1986). El cisticerco tiene la capacidad de secretar antígenos al medio circundante, como el antígeno parasitario HP10, originalmente identificado en *Taenia saginata* y que es compartido por *Taenia solium* (Harrison *et al.*, 1989). Las características inmunodominantes de este antígeno y su secreción por los cisticercos en estadio vesicular han sido documentadas ampliamente (Fleury *et al.*, 2003). Sin embargo, su función en la relación hospedero-parásito no se ha explorado.

Las células que participan en la neuroinflamación y que se asocian a esta parasitosis se han estudiado desde el punto de vista morfológico en cerdos (Lodoño *et al.*, 2002). En estos estudios se reportó que en los granulomas

formados alrededor de los parásitos se encuentra la presencia de linfocitos, células plásmáticas y eosinófilos. Este resultado concuerda con lo reportado previamente por medio de histopatología en la cisticercosis porcina y humana (de Aluja & Vargas, 1988; González *et al.*, 1987; Alvarez *et al.*, 2002).

1.3 JUSTIFICACIÓN

En este proyecto, se pretende desarrollar un modelo experimental de NC porcina para poder estudiar la evolución de la enfermedad de una manera controlada, así como el grado de daño que causa la respuesta inflamatoria en diferentes estructuras del sistema nervioso central. Este modelo permitirá determinar si es posible en un futuro evaluar nuevos tratamientos cestocidas.

1.4 HIPOTESIS

La implantación de oncosferas viables directamente en el sistema nervioso central del cerdo permitirá el desarrollo de la neurocisticercosis y el estudio de los fenómenos inflamatorios asociados a dicha patología.

1.5 OBJETIVO GENERAL.

Estandarizar un modelo experimental de neurocisticercosis porcina inoculando metacestodos y/u oncosferas activadas de *Taenia solium* directamente en el sistema nervioso central del cerdo (SNC), para así estudiar la reacción inmuno-inflamatoria local y sistémica asociada con la infección.

1.6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Realizar el estudio macroscópico de los encéfalos infectados, para determinar la cantidad, localización y estado de degeneración de los cisticercos.
- Realizar la descripción histopatológica por medio de la técnica de H-E (hematoxilina-eosina) de las lesiones en el tejido circundante a los sitios de localización del parásito y de la misma forma llevar a cabo la clasificación de acuerdo a de Aluja y Vargas (1988).

- Determinar los niveles de anticuerpos específicos anti-cisticerco en el suero de los animales infectados.
- Determinar los niveles de antígeno parasitario HP-10 en el suero.

2 MATERIAL Y MÉTODOS.

2.1 ANIMALES

Para el primer experimento de inoculación de metacestodos de *T. solium* en el SNC se adquirieron 12 cerdos de 2 a 3 meses de edad, de la raza Landrace x Yorkshire provenientes de una granja tecnificada y libre de cisticercosis. Para el segundo experimento de inoculación de oncosferas activadas de *T. solium* en el SNC se adquirieron 12 cerdas de la misma raza, de 2 meses de edad. En ambos experimentos los cerdos provenían del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Los animales estaban clínicamente sanos y libres de cisticercosis, y fueron alojados en la Unidad de Confinamiento Porcino de la FMVZ- UNAM durante los 4 meses de duración de los experimentos.

2.2 RECUPERACIÓN Y PREPARACIÓN DE METACESTODOS, EXPERIMENTO

Los metacestodos de *Taenia solium*, se obtuvieron de cerdos infectados naturalmente, se lavaron tres veces con solución salina fisiológica estéril y se mantuvieron en medio RPMI 1640 (Gibco ®) suplementado con 10% de suero fetal bovino, L-glutamina y 5% de antibiótico (penicilina-estreptomicina) a una temperatura de 37°C y una atmósfera con 5% de CO₂ durante 21 días hasta su inoculación.

2.3 IMPLANTACIÓN DE METACESTODOS.

Previo a la implantación de los metacestodos, los animales se sometieron a un ayuno de 8 horas para evitar complicaciones durante el manejo anestésico. Antes de la cirugía los animales fueron pesados, posteriormente se tranquilizaron y anestesiaron con una combinación de Azaperona (Sural®) 2.2 mg/kg y Tiletamina/zolazepam (Zoletil 100®) 6 mg/kg vía intravenosa en la vena cava anterior.

Una vez anestesiados, los animales fueron llevados al área de preparación de los quirófanos de la FMVZ, se realizó la limpieza y asepsia del área quirúrgica (nasal, temporal, parietal y occipital); se les colocó una sonda endotraqueal de 15 cm. Los animales fueron trasladados a la mesa de cirugía donde la sonda endotraqueal se conectó al aparato de anestesia inhalada. Para mantenerlos en plano anestésico se utilizó isoflurano con una tasa de flujo entre un 2 y 3%. Se realizó una incisión lineal de 3 cm en la piel con una hoja de bisturí del número 15; en dos tiempos, cuyo centro se encontró a 2 cm en sentido rostral del conducto auditivo externo y a 2 cm a partir de la línea media en sentido lateral. La hemostasia se realizó por medio del uso de un electrodo bipolar de Malis y se colocó un separador en el sitio de la incisión; se legó el periostio y con un equipo para craneotomía de alta velocidad (Midas Rex®) se realizó una trepanación en el punto mencionado; se removieron las astillas de hueso con una cucharilla de Volkman y se incidió la duramadre con una hoja de bisturí del número 11. Los bordes de la meninge fueron electrocoagulados y se implantaron 3 metacestodos en el espacio subaracnoideo, al término de la implantación se corroboró la

hemostasia de la duramadre; se aplicaron fragmentos de esponja estéril de gelatina natural absorbible (gelfoam®) en el sitio de la durotomía y se aplicó un fragmento de cera para hueso en el sitio de la trepanación. La sutura de los tejidos se realizó por planos; primero la aponeurosis epicraneal y los tejidos subcutáneos con Vycril del número 1 y después la piel con Nylon del número 0.

Los cerdos se dividieron en 3 grupos, quedando distribuidos como se muestra en la Cuadro1.

La implantación intramuscular (IM) de metacestodos de *T. solium* en el miembro pélvico derecho de los cerdos sirvió como control de la infección.

Una vez terminada la intervención quirúrgica los animales se extubaron, se llevaron a los corrales de observación, en dónde fueron vigilados por 12 horas hasta que se restablecieron completamente de los efectos de la anestesia.

Se les dio manejo postoperatorio con una combinación de Penicilina G procaínica, Dihidroestreptomicina, Dexametasona (Shotadex®) a unas dosis de 1ml por cada 20 kg de peso durante cuatro días y antiinflamatorios no esteroideos: Meglumina de Flunixin* (Napzin®) a una dosis de 2.2 mg/kg de peso cada 12 horas durante cuatro días posteriores a la intervención quirúrgica. Los animales se evaluaron clínicamente, diariamente durante el tiempo de duración del experimento que fue de cuatro meses. Se tomaron muestras sanguíneas cada 20 días, iniciando con el día 0.

2.4 RECUPERACIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS ONCOSFERAS, EXPERIMENTO 2

La *Taenia* adulta se obtuvo de un paciente diagnosticado en el Estado de Guerrero, después de recibir un tratamiento estándar de tenicida que se compone de 2 g de Niclosamida por vía oral en ayunas y 2 hrs después de una purga salina. Los proglótidos se recuperaron por tamizado, se lavaron con agua destilada, se almacenaron en 2.5% de glicerol suplementado con una combinación de penicilina-gentamicina y fueron mantenidos a 4°C por 7 días hasta la obtención de los huevos de *T. solium* de los proglotidos y la evaginación *in vitro* (Verástegui, 2002).

Los huevos fueron eclosionados en una solución de hipoclorito de sodio al 10% (2mL). Se tomaron alícuotas cada 1-2 minutos y se observaron en el microscopio. Cuando los bloques embrionarios se disgregaron de la mayoría de los huevos (5 min) se agregó medio RPMI 1640 para lavar las oncosferas (Gibco ®), la suspensión se centrifugó (1,000g durante 10 min). Las oncosferas de *Taenia solium* fueron activadas mediante la incubación en fluido intestinal artificial que consiste en una solución de 1% de pancreatina, 0.2% carbonato de sodio (anhídrido) y 1% de bilis de cerdo, en medio RPMI 1640 (Gibco ®), que se agitó durante 50 min a 37°C. Las oncosferas activadas fueron centrifugadas a 1,000g durante 10 min y lavadas 3 veces en medio RPMI 1640 (Gibco ®) frío y se resuspendieron en el mismo medio (Kyngdon, et al 2006), se realizó el conteo de las oncosferas utilizando la cámara de Neubauer. La viabilidad de las oncosferas se determinó mediante el uso de 0.4% de azul tripano (Sigma), las oncosferas que

excluyeron el colorante se consideraron viables (Verástegui, 2002). La viabilidad resultó del 85%. Las oncosferas se matuvieron en medio RPMI 1640 (Gibco ®) a una temperatura de 37°C para su utilización, manteniéndose en estas condiciones durante cinco horas, que fue el tiempo de duración de las cirugías.

2.5 INFECCIÓN

La metodología para realizar la inoculación de las oncosferas fue la misma que en el experimento 1, ya que las oncosferas se inocularon en el SNC de los animales. Los cerdos se sometieron a neurocirugía para realizar la inoculación de las oncosferas activadas a nivel del espacio subaracnoideo. Los animales se dividieron en grupos, quedando los grupos como se muestra en el Cuadro 2.

La inoculación intramuscular se realizó directamente en el miembro pélvico derecho con una jeringa de 3 mL y una aguja calibre 21 G x 32 mm.

Una vez terminada la intervención quirúrgica los animales se extubaron, y se observaron durante todo el día posterior a la intervención.

Se les dio el mismo manejo postoperatorio que a los animales del experimento 1.

Los animales se evaluaron clínicamente, durante cuatro meses que duró el experimento, durante este tiempo se tomaron muestras sanguíneas cada 20 días.

2.6 TOMA DE MUESTRAS

Las muestras sanguíneas se realizaron de la vena cava anterior, previa desinfección de la zona con yodo al tiempo 0 y cada 20 días durante los cuatro meses de duración del experimento. Se utilizó el sistema de sangrado Sarsted®

con anticoagulante y agujas calibre 21G (color verde). Se obtuvo el suero de las muestras, se realizaron alícuotas en tubos cónicos y se almacenaron a -70°C hasta su utilización para la determinación de anticuerpos y antígenos específicos.

2.7 RECUPERACIÓN DE LOS ENCÉFALOS

A todos los animales incluidos en los dos experimento se les practicó la eutanasia a los 4 meses posteriores a la infección siguiendo los protocolos aceptados para este procedimiento (de Aluja y Constantino, 2002).

Se extrajeron los encéfalos de los animales, se observaron para detectar parásitos en su superficie y se colocaron en fijador de Zamboni (ácido pícrico, formaldehído al 37% en agua, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de sodio dibásico anhidro y agua destilada). A los 15 días de haber permanecido en el fijador se cortaron en rebanadas de 0.5 cm de grosor y se les realizó el estudio macroscópico, dónde se buscó:

- a. Presencia y cantidad de parásitos
- b. Tamaño de los mismos
- c. Localización
- d. Estado de degeneración

Se obtuvo el tejido cerebral adyacente a los parásitos y en diferentes regiones del SNC para realizar estudios de histopatología.

De la misma forma se inspeccionaron y revisaron los músculos de los miembros pélvico derechos dónde se inocularon los metacestodos o las oncosferas.

2.8 DESCRIPCIÓN DE LA RESPUESTA INMUNO-INFLAMATORIA LOCAL EN EL SNC, POR HISTOPATOLOGÍA

Se colectaran muestras de encéfalo y músculo, se procesaron para su inclusión en parafina. Se hicieron cortes seriados de 5 μm de grosor de cada bloque de parafina. Las muestras fueron teñidas con la técnica de hematoxilina/eosina (HE) para determinar el grado de inflamación (Aluja y Vargas.,1988). En algunos casos se realizaron cortes seriados para determinar el grado de reacción inflamatoria en el tejido circundante al parásito a diferentes niveles de corte

Aluja y Vargas (1988) propusieron la clasificación en 7 grados para describir los cambios inflamatorios y degenerativos observados en el tejido muscular de cerdos, estos grados van del 0 al 6 y a continuación se describen:

- Grado 0:

Sin reacción inflamatoria, el parásito no presenta cambios degenerativos.

- Grado 1:

Se inicia una reacción inflamatoria con una infiltración focal discreta, por linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos.

- Grado 2:

La reacción inflamatoria aumenta en extensión, los tipos celulares predominantes siguen siendo linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. Estos últimos son más numerosos y tienden a dirigirse hacia el borde interno de la zona inflamatoria, la

cual forma una cavidad que contiene al parásito. Los macrófagos aparecen en el infiltrado con tendencia a acumularse en el borde interno de la reacción. Alrededor de la zona inflamada existe hiperemia y diapedesis en arteriolas y capilares.

- Grado 3:

Se inicia una reacción granulomatosa de intensidad variable rodeando la cavidad que contiene la larva; el infiltrado celular es similar al grado 2. Los eosinófilos son numerosos y se agrupan en el borde interno de la reacción dando la impresión de presentar una “primera línea de ataque”, algunos se adhieren a la pared vascular y se les observa degranulando, donde el tegumento se muestra hinchado y vacuolado, otros se observan dentro de los canales de entrada y espiral. Los macrófagos se alinean formando palizadas frente al canal de entrada junto con los eosinófilos. Puede pensarse que en esta etapa se inicia la degeneración larvaria. Se forman pequeños agregados linfoides en la zona granulomatosa.

- Grado 4:

La reacción inflamatoria rodea casi toda la cavidad larvaria, por células epiteloides que forman palizadas y aparecen células gigantes de tipo cuerpo extraño. Muchos eosinófilos se muestran necrosados. En la zona inflamada aparecen numerosos fibroblastos, los acúmulos linfoides aumentan de tamaño. Los canales de entrada y espiral contienen numerosos eosinófilos, la pared vesicular se muestra hinchada y vacuolada. La cavidad vesicular contiene abundante material acidofílico y células necróticas.

- Grado 5:

El parásito está completamente degenerado y no se reconocen detalles estructurales, excepto corpúsculos calcáreos y ganchos. El contenido de la vesícula es una masa acidofílica y restos necróticos. Los fibroblastos y células gigantes son numerosos; linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos son escasos en la zona granulomatosa.

- Grado 6:

El lugar que ocupa el parásito está totalmente invadido por tejido fibroso, las células inflamatorias son muy escasas, los ganchos y corpúsculos calcáreos pueden ser identificados en algunas cicatrices.

2.9 DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS

Los niveles de anticuerpos y antígenos específicos en suero se determinaron por medio de la técnica de Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA). De acuerdo con lo reportado por [Flisser y colaboradores \(1986\)](#) la IgG es la inmunoglobulina con mayor prevalencia en suero de pacientes con neurocisticercosis, seguida por la IgM y por último IgA.

2.10 DETECCIÓN DE SECRECIÓN DE ANTÍGENO HP 10 EN SUERO DE CERDO

La placa de ELISA Maxisorp de 96 pozos (Nunc) se sensibiliza con 10 µg/mL del anticuerpo monoclonal HP10 en buffer de boratos pH= 8.2, se incuba durante toda la noche a 4°C. Al día siguiente se lava cuatro veces con 200µL/pozo de solución

salina 0.9% tween 0.05%, y se bloquea con 200 µL/pozo de PBS-BSA 1%-tween 0.5% durante 1 hr a temperatura ambiente, se lava y se le adicionan 100 µL/pozo del suero sin diluir, se incuba durante 30 min a 37°C, se lava nuevamente, la reacción será detectada por la incubación con el anticuerpo HP10 biotinilado diluido 1:4000 y el complejo estreptavidina-peroxidasa a una dilución 1:4000 ambos en buffer de bloqueo. Cada reacción se incuba durante 1 hr y 30 min a 37°C respectivamente, pasado este tiempo la placa se lava . La reacción se revela por la adición de 100 µl/pozo del sustrato TMB (Tetrametilbencidina), se incuba durante 30 min a 4°C, la reacción se detiene agregando 100 µL/pozo de H₂SO₄ 0.2 M, y se determina la densidad óptica en un lector de ELISA (Opsys MR™-Dynex technologies) a 450 nm.

2.11 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG TOTALES EN SUERO DE CERDO

La placa de ELISA Maxisorp de 96 pozos (Nunc) se sensibiliza con 10µg/mL de antígeno de fluido vesicular de cisticercos de *T.solium* en buffer de carbonatos (pH= 9.6) , se incuba durante toda la noche a 4 °C. Posteriormente se lava cuatro veces con PBS tween 0.3%, se bloquea con 200 µL/pozo de PBS BSA1% tween 0.3% y se incuba durante 1 hr a 37 °C , se lava y adicionan 100 µl/pozo del suero diluido 1:100 en buffer de bloqueo y se incuba durante 30 min a 37 °C , nuevamente se lava y la reacción antígeno-anticuerpo se revela por incubación con el conjugado anti-IgG de cerdo HRP (Zymed) a una dilución 1:8,000 en buffer de bloqueo durante 30 min a 37 °C; finalmente se adicionan 100µL/pozo del

sustrato TMB (tetrametilbencidina) se incubó durante 10 min a 4 °C, la reacción se detiene agregando 100 µl/pozo de H₂SO₄ 0.2 M, y se leyó en un lector de ELISA (Opsys MR™-Dynex technologies) a 450 nm.

2.12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron capturados en Microsoft Office 2011 para Mac. El análisis estadístico fue completado utilizando el programa SPSS. Se realizó la T de Student para evaluar las diferencias entre medias. La regresión lineal fue utilizada para evaluar los cambios en la densidad óptica entre los diferentes tiempos de muestreo.

3 RESULTADOS EXPERIMENTO 1

3.1 NECROPSIA

En el encéfalo del cerdo 1 se observó una lesión granulomatosa en el sitio de inoculación (Hemisferio derecho, lóbulo frontal). En el resto de los animales no se detectó la presencia de cisticercos viables o destruidos en el sitio de inoculación. Los resultados del examen post mortem de los encéfalos de los animales incluidos en este experimento se resumen en el cuadro 3.

En el animal inoculado con metacestodos de *T. solium* por vía IM, se observó solamente un cisticerco calcificado a nivel macroscópico.

3.2 HISTOPATOLOGÍA

Por medio de histopatología en el encéfalo del cerdo 1, se observó una reacción inflamatoria grado 6 de acuerdo a lo descrito por Aluja y Vargas (1988) en el tejido circundante al sitio de inoculación de los metacestodos.

En el resto de los animales incluidos en este experimento no se observó la presencia de células inflamatorias, ni daño en el tejido cerebral en los sitios de inoculación.

3.3 MEDICIÓN DE ANTÍGENO PARASITARIO HP 10 EN SUERO

Se midió la cinética de liberación del Ag HP10 del cisticerco de *T. solium*, durante el tiempo que duro el experimento en los 3 grupos. Se graficó el promedio de la densidad óptica contra los días post-infección, y en ninguno de los grupos

incluidos en este experimento hubo detección del antígeno parasitario HP-10, los valores estuvieron por debajo del punto de corte. Figura 1.

3.4 MEDICIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-*T.solium* EN SUERO

La presencia de anticuerpos anti *T. solium* en el suero de los animales del primer experimento se muestran en la figura 2. Se graficó el promedio de los valores de absorbancia contra los días post infección de cada uno de los animales incluidos en el experimento.

Hubo un incremento significativo en los valores de anticuerpos (Ac) en el grupo de cerdos inoculados con cisticercos de *T. solium* en el espacio SA a partir del día 81 post infección (pi) este incremento se observó hasta el momento del sacrificio (día 109 pi). En el grupo de cerdos inoculados con cisticercos de *T. solium* por vía IM no se detectaron incrementos en los valores.

3.5 EXPERIMENTO CON *Taenia crassiceps*.

Se realizó un experimento inoculando metacestodos de *T. crassiceps* en el SNC de los cerdos, este experimento no arrojó datos representativos, por lo tanto los resultados no son presentados en este escrito.

4 RESULTADOS EXPERIMENTO 2

4.1 NECROPSIA

Los encéfalos de los cerdos incluidos en este experimento se obtuvieron a los 109 días post-infección, se realizó la observación macroscópica de los encéfalos en el sitio de inoculación que fue el hemisferio derecho del lóbulo frontal.

Los metacetodos a nivel macroscópico se clasificaron en tres etapas evolutivas tomando en cuenta la descripción realizada por Escobar, (2000) y Escobar y Weidenheim (2002).

Etapa vesicular

La membrana del metacestodo es delgada, friable, transparente, contiene la larva invaginada, de 4 a 5 mm, que yace en un líquido transparente. El tejido adyacente muestra apenas ligera reacción inflamatoria.

Etapa coloidal

El quiste se halla adherido y comúnmente rodeado de cápsula conectiva secundaria que lo engloba en el tejido donde se localiza. El contenido pierde fluidez, adquiere aspecto lechoso, gelatinoide en consistencia; la larva se fragmenta fácilmente, granular al tacto. El estudio microscópico muestra que la membrana propia se halla hialinizada al igual que la larva, con mineralización temprana.

Etapa nodular calcificada

Sólo se identifica un nódulo endurecido, totalmente calcificado, reducido a menos de la mitad de su tamaño original, de coloración blanquecina al corte, con cápsula conectiva que le envuelve, gliosis astrocitaria y escasa reacción inflamatoria a su

alrededor. Los cisticercos se encontraron de forma submeníngea en el sitio de inoculación los resultados se resumen en el cuadro 4. Los encéfalos de los animales identificados con los números 5 y 8 , presentaban múltiples cisticercos y en diferentes estadios Figura 3 y 6. En los animales inoculados con oncosferas por vía intramuscular, se lograron observar cisticercos en estado calcificado principalmente.

4.2 HISTOPATOLOGÍA

Los encéfalos fueron cortados en 15 segmentos cada uno, dando un total de 140 cortes coronales. La evaluación histológica se fundamentó en los criterios de una clasificación ordinal propuesta por de Aluja y Vargas (1988).

En los animales del grupo 1, en los encéfalos recuperados se observó que el 33.4% de los cisticercos hallados (8 de 24) presentaron grado 3 de inflamación en el tejido circundante según la clasificación descrita por de Aluja y Vargas, (1988), dónde se observó moderados eosinófilos, linfocitos, macrófagos, moderada cantidad de células plasmáticas, fibroblastos y eósinofilos; el 66.6% de los cisticercos (16 de 24) presentaron grado 4 de inflamación en el tejido circundante dónde había infiltrado inflamatorio abundante, compuesto de linfocitos, eosinófilos, macrófagos, células plasmáticas, zonas de necrosis multifocal, deterioro del tegumento y de otras estructuras internas del parásito con depósito de detritos celulares; los resultados se resumen en el cuadro 5.

En los encéfalos de los animales del grupo 2 (Cuadro 6), se observó que el 7.7 % de los cisticercos encontrados (2 de 26) presentaron grado 2 de inflamación en el

tejido circundante; el 26.9% de los cisticercos hallados (7 de 26) presentaron grado 3 de inflamación (Figura 7) en el tejido circundante al cisticerco, el 50% de los cisticercos (13 de 26) presentaron grado 4 de inflamación en el tejido circundante (Figura 8) y el 15.4% de los cisticercos (4 de 26) presentaron grado 5 de inflamación (Figura 9) en el tejido circundante con mayor cantidad de eosinófilos, macrófagos y células plasmáticas, áreas de necrosis, depósitos de detritos celulares y corpúsculos calcáreos del tejido afectado, así como mayor cantidad de folículos linfoides distribuidos en la periferia.

En relación con los animales inoculados vía intramuscular con 500 oncosferas de *T. solium* (grupo 3) los cisticercos se quedaron en el sitio de inoculación y se observó que el 16.6 % de los cisticercos (1 de 6) presentaron grado 4 de inflamación en el tejido circundante; mientras que el 83.4% de los cisticercos (5 de 6) presentaron grado 5 de inflamación en el tejido circundante, cuadro 7.

En relación con los animales inoculados por vía intramuscular con 1000 oncosferas de *T. solium* (grupo 4), se observó que el 20% de los cisticercos hallados (1 de 5) presentaban grado 4 de inflamación en el tejido circundante; mientras que el 80% de los cisticercos (4 de 5) presentaron grado 5 de inflamación en el tejido circundante (Cuadro 8).

En los animales control de cirugía, no se observó respuesta inflamatoria en las muestras de encéfalo obtenidas.

4.3 MEDICIÓN DE ANTÍGENO PARASITARIO HP 10 EN SUERO

En estos experimentos se graficó el promedio de la densidad óptica contra los días post infección, cómo se ve en la figura 4, al momento de la necropsia todos los animales infectados eran seropositivos para el antígeno parasitario HP 10. En los animales del grupo 1 se observó un incremento en los valores por encima del punto de corte (seropositividad) a partir del día 81 pi, disminuyendo al día 109 pi e incrementándose de nuevo el día 123 pi; los animales del grupo 2 presentaron valores por encima del punto de corte a los días 25, 39, 81 y 123 pi, estos valores decrecieron por debajo del punto de corte al día 53 y 109 pi. En el grupo 3 se detectaron valores positivos a partir del día 109 pi. En el grupo 4 se presentaron valores por encima del punto de corte a partir del día 39 pi y se mantuvieron así hasta el día 123 pi (momento de la necropsia).

En relación a la determinación de antígeno HP10 en suero, aunque los cuatro grupos de animales inoculados con oncosferas fueron positivos en el último muestreo, durante los muestreos anteriores no está clara la dinámica de secreción del antígeno. En los animales inoculados por vía SA el incremento no fue significativo en ninguno de los dos grupos (500 o 1000 oncosferas). Únicamente en el grupo de animales inoculados por vía IM con 500 oncosferas se observó incremento. Las densidades ópticas en cada tiempo de muestreo no tuvieron diferencias significativas entre grupos.

4.4 MEDICIÓN DE ANTICUERPOS ANTI- *T. SOLIUM* EN SUERO

En la figura 5, se observa que en los cuatro grupos de animales infectados con oncosferas activadas de *T. solium* presentan valores en la concentración de anticuerpos de por encima del punto de corte.

En el grupo 1 el incremento de estos valores se observa a partir del día 81 pi, mientras que en el resto de los grupos de animales se observó el incremento a partir del día 53 pi. En los animales utilizados como control de cirugía (grupo 5) no se detectó incremento en los anticuerpos.

En el análisis estadístico se observaron diferencias significativas entre las densidades ópticas al día 53 pi comparando controles vs inoculados con 500 oncosferas en el espacio subaracnoideo y al día 81 pi, también se encontraron diferencias significativas comparando los dos grupos experimentales (inoculación SA con 500 y 1000 oncosferas) contra el grupo control.

5 DISCUSIÓN

En el presente estudio se realizó la inoculación de metacestodos de *T. solium* en el SNC y vía intramuscular (experimento 1) y de oncosferas activadas *in vitro* de *T. solium* en el SNC y por vía intramuscular (experimento 2). Se realizó la recuperación y el estudio macroscópico de los encéfalos de los animales incluidos en cada uno de los grupos de experimentación para poder clasificar la ubicación de las lesiones, tamaño y estado de degeneración de los cisticercos encontrados. Por medio de histopatología se describió el grado de inflamación en los tejidos circundantes a los metacestodos de acuerdo a lo descrito por de Aluja y Vargas (1988). Se midió la presencia de anticuerpos específicos anti *T. solium* en suero y los niveles del antígeno parasitario de secreción HP10 en suero durante el tiempo de duración de los experimentos y al momento de la muerte.

En este estudio el experimento 2 fue el que nos arrojó datos significativos, ya que al momento de la necropsia en todos los animales que fueron inoculados con dosis altas o bajas de oncosferas se encontraron metacestodos en el sitio de inoculación, tanto en los encéfalos como en las masas musculares.

En el experimento 1, no pudimos obtener resultados debido a que inoculamos metacestodos directamente en el SNC de los animales, estos cisticercos habían permanecido por más de tres semanas en incubación *in vitro*, alcanzando un tamaño en promedio de 0.8 cm aproximadamente, es posible que por su tamaño hayan sido destruidos desde la inoculación, lo que no permitió el establecimiento de la infección; por lo tanto al momento de la necropsia y durante la duración del

experimento no se presentaron datos sugerentes de una infección activa por metacestodos de *Taenia solium*.

Por su aspecto macroscópico, los metacestodos de *T. solium* se distinguen en vesiculares, coloidales y caseosos o calcificados (Escobar *et al.*, 1983). En nuestro segundo experimento al momento de la necropsia encontramos cisticercos en estadios vesiculares y coloidales. De acuerdo con esta clasificación se recuperaron solo 12 cisticercos vesiculares del SNC y 61 cisticercos en estado coloidal (Cuadro 4), los cisticercos vesiculares se utilizaron para evaluar su viabilidad *in vitro*, 11 de los 12 cisticercos recuperados evaginaron. Los resultados obtenidos contrastan con lo previamente observado en infecciones experimentales, donde la gran mayoría de los cisticercos recuperados de encéfalo presentan estado vesicular (de Aluja *et al.*, 1996; Palapa *et al.*, 1997; Sciutto *et al.*, 1998; Nguekman *et al.*, 2003). Es factible que el procedimiento quirúrgico utilizado para la implantación de las oncosferas haya inducido un fenómeno inflamatorio exacerbado que resultó en el daño de una gran parte de las oncosferas y/o cisticercos.

Con respecto a las características histológicas de la reacción inflamatoria celular observada, fueron similares a las descritas por otros autores en humanos y en cerdos. Los cisticercos coloidales se encontraban circundados por un proceso inflamatorio con la presencia de diferentes tipos celulares como linfocitos, células plasmáticas y macrófagos, en las etapas tempranas de la infección se observan además eosinófilos (de Aluja *et al.*, 1998; Restrepo *et al.*, 1998; Verastegui *et al.*, 2000; Restrepo *et al.*, 2001, Lodoño, *et al.*, 2002). La destrucción parasitaria

observada en este trabajo sugiere que el proceso es similar al que se da en la esquistosomiasis. La superficie de los metacestodos liberan partículas antigénicas que estimulan la producción de inmunoglobulinas y su deposición (Lightowers *et al.*, 1988), también de moléculas quimiotácticas, para eosinófilos (Potter *et al.*, 1986) los cuales tienen receptores para inmunoglobulinas y el complemento (Lentoja *et al.*, 1983). La presencia de inmunoglobulinas en la superficie parasitaria (Correa *et al.*, 1985, 1989; Flisser *et al.*, 1986), la migración y degranulación de eosinófilos a este sitio podría ser el inicio del proceso de destrucción larvaria, que es influenciado por otros factores como el complemento y mediadores de la inflamación aguda (Willms *et al.*, 1980).

La mayor cantidad de cisticercos recuperados de los encéfalos de los animales incluidos en este experimento presentaban los grados 3, 4 y 5 de inflamación en el tejido circundante al parásito, según la clasificación de Aluja y Vargas (1988), caracterizado por la presencia de linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y diferentes cantidades de eosinófilos, estos resultados concuerdan con lo reportado por Lodoño y colaboradores (2002), que refieren que en los granulomas que se forman en el tejido circundante al parásito, el infiltrado celular se caracteriza por la presencia de linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. Además en el grado 5 se comienza a ver una masa acidofílica y restos de necrosis, lo que indica que el parásito ha sido destruido; estas características también se observaron en los cisticercos recuperados del experimento 2 (Figuras 7, 8 y 9).

Palapa y colaboradores (1997) describieron que la reacción inflamatoria causada por los metacestodos de *T. solium* en el tejido muscular y en el tejido cerebral

varían de intensidad, en este estudio que tuvo una duración de 70 días se describe que la inflamación es más acentuada en el tejido muscular en donde el 24.6% de los metacestodos correspondieron a los grados 1 y 3 de inflamación, el 75.4% correspondieron a grados 4 y 5; mientras que los localizados en el encéfalo, sólo el 10.8% presentaron grado 4 de inflamación y no hubo grado 5.

En nuestro experimento al igual que el de Palapa y colaboradores (1997), observamos que la respuesta es más intensa en el tejido muscular que en el tejido cerebral ya que 100% de los metacestodos hallados en los animales inoculados por vía intramuscular al día 109 pi correspondieron a los grados 4 y 5 de inflamación; mientras que los metacestodos recuperados del SNC al día 109 pi el 16.5% de los parásitos recuperados correspondían a grado 0 de inflamación (cisticercos vesiculares) y el 83.5% correspondieron a grados 4 y 5 de inflamación en el tejido circundante.

El inmunodiagnóstico de la cisticercosis y neurocisticercosis se ha basado principalmente en la detección de anticuerpos y antígenos específicos en suero o en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en el ser humano o en el cerdo (Flisser *et al.*, 1990; García *et al.*, 1995; Larralde *et al.*, 1990; Plancarte *et al.* 1994; Aluja *et al.*, 1999).

La detección de anticuerpos presenta dos grandes dificultades desde el punto de vista clínico humano y veterinario: (1) La presencia de anticuerpos puede indicar exposición al agente, pero no necesariamente el establecimiento de la infección. Frecuentemente, en los casos de contactos la presencia de anticuerpos es de

menor duración (García *et al.*,2001) y (2) los anticuerpos pueden persistir por un largo tiempo aunque el parásito ya haya sido destruido por mecanismos inmunes del paciente y/o terapia con fármacos (Harrison *et al.*,1989; García *et al.*,1997). La presencia de anticuerpos inducida por el contacto con antígenos del parásito, se observó claramente en el experimento No. 1, en dónde los animales del grupo 1 e inoculados con 3 metacestodos de *T. solium*, presentaron títulos elevados de anticuerpos a partir del día 81 pi que se mantuvieron hasta el tiempo de la necropsia 109 pi. no habiéndose detectado la presencia de ningún cisticerco viable. En el experimento 2, al momento de la necropsia se encontraron cisticercos vesiculares y coloidales a nivel macroscópico, lo cual coincidió con una concentración elevada en los niveles de anticuerpos por encima del punto de corte a partir del día 53 pi.

Los anticuerpos en suero se incrementaron en los cuatro grupos de animales inoculados con dosis bajas de oncosferas activadas de *T. solium*, lo cual nos refleja que la infección fue exitosa y que el sistema inmune reaccionó de forma positiva al parásito. El incremento en los niveles de anticuerpos por encima del valor umbral comenzó a notarse en el experimento 1 a partir del día 81 pi, y se mantuvieron por encima del valor umbral hasta el día 109 pi; mientras que en el experimento 2 el incremento en los niveles de anticuerpos por encima de punto de corte fue a partir del día 53 pi y mantuvieron esta cinética hasta el día 123 pi; esto concuerda con lo descrito por Sciutto y colaboradores (1998), quienes reportaron que en cerdos con carga parasitaria alta se detectan niveles de anticuerpos y antígenos a partir del día 29 pi y hasta el día 200 pi; mientras que los cerdos con

carga parasitaria baja tanto los anticuerpos como los antígenos se presentan hasta el día 67 y 91 pi.

El incremento en los niveles de anticuerpos anti *T.solium* se genera tempranamente después de la inoculación de las oncosferas y resultó ser una herramienta diagnóstica temprana para estos animales de experimentación, ya que nos permitió saber que los cerdos eran positivos a la producción de anticuerpos; por lo tanto confirmamos que los cerdos estuvieron en contacto con la *Taenia solium*, pero no aseguramos que existiera una infección activa.

Se ha visto que en las oncosferas de *T. solium* presentan algunas proteínas de distintos pesos moleculares que son altamente inmunogénicas (Kyngdom., et al 2006; Lightowlers., et al 2010; Plancarte., et al 1990; Verástegui., et al 2002), es posible que al inocular oncosferas activadas estas moléculas entren en contacto inmediatamente con el sistema inmune, promoviendo así que haya una respuesta temprana a esta, por lo tanto una detección de anticuerpos a un menor tiempo post infección.

Aluja y colaboradores (1999) describieron que en el cerdo, el parásito puede presentarse en diferentes masas musculares así como en el SNC y que aun cuando el número de parásitos puede ser bajo en los cerdos, es frecuente identificar anticuerpos en el suero y que estos disminuyen cuando los cisticercos se calcifican. En el caso de los dos experimentos realizados en este trabajo de tesis consolidan que los anticuerpos son un marcador de contacto aunque no necesariamente de infección con el parásito, aunque los niveles en los que

comienzan a detectarse pueden variar según el tipo de desafío y la instalación o no de la infección inducida.

Por otra parte, la detección de antígenos parasitarios de secreción mediante la técnica de ELISA ha demostrado tener una alta sensibilidad y especificidad en humanos para detectar parásitos viables localizados en el espacio subaracnoideo o en el sistema ventricular, tanto en líquido cefalorraquídeo (LCR) como en suero (Fleury., et al 2007; García *et al.*, 1998). De acuerdo con lo reportado por Fleury y colaboradores (2003) la sensibilidad y especificidad de la detección de antígenos parasitarios por medio de ELISA en LCR de humanos varia dependiendo del estado clínico y perfil inflamatorio de los pacientes, en este mismo estudio hubo una correlación positiva entre el número de cisticercos vivos y los niveles de antígeno parasitario, alcanzando una sensibilidad del 100% en casos dónde se encontraban múltiples cisticercos y un perfil inflamatorio elevado. Estudios realizados en muestras de suero en humanos (Harrison *et al.*,1989; Garcia *et al.*,1998; García *et al.*, 2000; García *et al.*, 2002), reportan que la detección de antígenos parasitarios por medio de ELISA solo detecta parásitos vivos, ya que el antígeno es secretado únicamente por los metacestodos viables. Consistentemente con lo reportado en la literatura, en el experimento 1 donde no hubo instalación de cisticercos según se confirmó por necropsia no se detectaron niveles positivos de antígeno HP10; mientras que en el experimento 2 en los cuatro grupos de animales inoculados con oncosferas activadas de *T. solium* se recuperaron cisticercos vesiculares y cisticercos en estado coloidal en todos los

animales y presentaron niveles positivos del antígeno parasitario de secreción HP10.

Con los resultados obtenidos en el segundo experimento es posible recomendar la inoculación de oncosferas activadas de *T. solium* directamente en el SNC de los cerdos, para realizar infecciones experimentales y poderlo emplear como procedimiento de rutina en la investigación de la neurocisticercosis porcina y como modelo para el estudio de la NC humana

La inoculación de metacestodos de *T. solium* que se realizó en el primer experimento, no permitió el establecimiento de una infección experimental por lo tanto no es recomendable.

Cabe aclarar que con los resultados encontrados en el segundo experimento se logró establecer una infección experimental en el SNC de los cerdos, pero los cisticercos se encontraban en estados avanzados de degeneración a nivel histopatológico, ya que el tiempo entre la infección y la recuperación de los encéfalos fue mayor de 4 meses, por lo que se recomienda en lo futuro acortar el tiempo entre la infección y el sacrificio humanitario de los cerdos.

6. CONCLUSIONES

En este estudio se logró implantar oncosferas de *Taenia solium* activadas *in vitro* en el sistema nervioso central de los cerdos, desarrollando una forma de neurocisticercosis experimental porcina.

Los resultados obtenidos indican la factibilidad de evaluar a futuro nuevos tratamientos; así como aumentar los conocimientos acerca de los componentes de la reacción inflamatoria asociada a la neurocisticercosis.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nash TE, Singh G, White AC, Rajshekhar V, Loeb JA, Proano JV, *et al.* [Treatment of neurocysticercosis: current status and future research needs.](#) *Neurology* 2006; 67: 1120-7.
- Antoniuk S. [Epidemiología de la Neurocisticercosis.](#) *Rev Neurol* 1999; 29:331-4.
- Fleury A, Gomez T, Alvarez I, Meza D, Huerta M, Chavarria A, Carrillo-Mezo RA, Lloyd C, Dessein A, Preux PM, Dumas M, Larralde C, Sciutto E, Fragoso G. [High prevalence of calcified silent neurocysticercosis in a rural village of Mexico.](#) *Neuroepidemiology* 2003; 22:139-45.
- Fleury A, Morales J, Bobes RJ, Dumas M, Yanez O, Pina J, Carrillo-Mezo R, Martinez JJ, Fragoso G, Dessein A, Larralde C, Sciutto E. [An epidemiological study of familial neurocysticercosis in an endemic Mexican community.](#) *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006;100:551-8.
- Jiménez-Marcial ME, Velásquez-Pérez L: [Morbidity at the Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, 1995-2001.](#) *Gac Med Mex.* 2004 Mar-Apr; 140(2):155-62.
- Cardona AE, Restrepo BI, Jaramillo JM, Teale JM: [Development of an animal model for neurocysticercosis: immune response in the central nervous system is characterized by a predominance of \$\gamma\delta\$ T cells.](#) *J. Immunol* 1999; 162:995–1002.
- Verástegui M, González A, Gilman RH, Gavidia C, Falcón N, Bernal T, Garcia HH: [Experimental infection model for *Taenia solium* cysticercosis in](#)

swine. Cysticercosis Working Group in Peru. *Vet Parasitol* 2000 Dec 20; 94(1-2):33-44.

- Aluja AS de, Villalobos ANM, Plancarte A, Rodarte LF, Hernández M, Scciuto E.: [Experimental *Taenia solium* cysticercosis in pigs: characteristics of the infection and antibody response.](#) *Vet. Parasitol* 1996 61; 49–59.
- Scitutto E, Hernández M, García G, Aluja AS de, Villalobos ANM, Rodarte LF, Parkhouse M, Harrison L.: [Diagnosis of porcine cysticercosis: a comparative study of serological tests for detection of circulating antibody and viable parasites.](#) *Vet. Parasitol* 1998 78; 185-194.
- Nguekam A, Zoli AP, Vondou L, Pouedet SMR, Assana E, Dorny P, Brandt J, Losson B, Geerts S: [Kinetics of circulating antigens in pigs experimentally infected with *Taenia solium* eggs.](#) *Vet Parasito* 2003 111; 323-332.
- Lodoño DP, Alvarez JI, Trujillo J, Margarita MJ, Restrepo BI: [The inflammatory cell infiltrates in porcine cysticercosis: immunohistochemical analysis during various stages of infection.](#) *Vet Parasitol* 2002 109; 249-259.
- Chavarria A, Fleury A, Bobes JR, Morales J, Fragoso G y Scitutto E: [A depressed peripheral cellular immune response is related to symptomatic neurocysticercosis.](#) *Microbes Infect.* 2006 Apr ;8(4):1082-1089.
- Álvarez JI, Colegial CH, Cataño J, Trujillo J, Teale JM, Restrepo BI. [The human nervous tissue in proximity to granulomatous lesions induced by *Taenia solium* metacestodes displays an active response.](#) *Journal of Neuroimmunology* 2002; 127 (1-2): 139-144.

- Ramos-Kuri M, Montoya RM, Padilla A, Govenzensky T, Díaz ML, Sciutto E, et al. Immunodiagnosis of neurocysticercosis. Disappointing performance of serology (Enzyme-linked immunosorbent assay) in an unbiased simple of neurological patients. *Arch Neurol* 1992; 49:633-6.
- Flisser A, Espinoza B, Tovar A, Plancarte A, Correa D. Host-parasite relationship in cysticercosis: immunologic study in different compartments of the host. *Vet parasitol* 1986; 20: 95-102.
- Harrison LJ, Joshua GW, Wright SH, Parkhouse RM. Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *Taenia saginata* cysticercosis. *Parasite Immunology* 1989, 11: 351-370.
- Fleury A, Beltran C, Ferrer E, Garate T, Harrison LJ, Parkhouse RM, et al. Application of synthetic peptides to the diagnosis of neurocysticercosis, *Trop Med Int Health* 2003; 8:1124-30.
- Aluja AS de, Vargas G. The histopathology of porcine cysticercosis. *Vet Parasitol*. 1988; 28(1-2):65-77.
- González D., Rodriguez-Carbajal J., de Aluja A.S., Flisser A. Cerebral cysticercosis in pigs studied by computed tomography and necropsy. *Vet Parasitol* 1987; 26(1-2):55-69.
- Verastegui, M, Gilman RH, Gonzales A, Garcia HH, Gavidia C, Falcon N, Bernal T, Arana Y, Tsang VC. *Taenia solium* oncosphere antigens induce immunity in pigs against experimental cysticercosis. *Vet. Parasitol* 2002; 108:49-62.

- Kyngdon CT, Gauci CG, Rolfe RA, Velásque JC, Salazar MJ, Verástegui MR, Gonzalez AE, Garcia HH, Gilmanl RH, Strugnell RA, Lightowlers MW. [In vitro oncosphere-killing assays to determine immunity to the larvae of *Taenia pisiformis*, *Taenia ovis*, *Taenia saginata*, and *Taenia solium*. *Jou Parasitol*. 2006; 92\(2\):273-81.](#)
- Aluja SA de y Constantino CF. [Técnicas de Necropsias en Animales Domésticos](#). Ed. Manual Moderno. México. 2002.
- Escobar A, “Enfermedades parasitarias. Infecciones por metazoarios”, en F. Cruz-Sánchez (comp.), *Neuropatología: Diagnóstico y clínica, 2000* Edimsa, Madrid, pp. 315-337.
- Escobar, A. y K. Weidenheim, “The pathology of neurocysticercosis”, en G. Singh y S. Prabhakar (comps.), *Taenia Solium Cysticercosis. From Basic to Clinical Science 2002*; CABI Publishing, Nueva York, cap. 30, pp. 289-305.
- Escobar A. The pathology of neurocysticercosis, en E. Palacios, J. Rodríguez-Carbajal y J. M. Taveras (comps.), *Cysticercosis of the Central Nervous System*, Charles C. Thomas, 1983; Springfield Illinois, pp. 27-54.
- Aluja AS de, Villalobos AN, Plancarte A, Rodarte LF, Hernández M, Sciutto E. [Experimental *Taenia solium* cysticercosis in pigs: characteristics of the infection and antibody response.](#) *Vet Parasitol* 1996; 61:49-59.
- Palapa S, Juan D; de Aluja AS de ; Lecumberri LJ; Villalobos, ANM. [Comparison of the inflammatory reaction caused by the metacestode of *Taenia solium* in brains and muscles of pigs.](#) *Vet Mex* 1997; 28 (1): 1-5.
- Aluja AS de, Martínez JJ, Villalobos ANM. [Taenia solium cysticercosis in](#)

young pigs: age at first infection and histological characteristics. *Vet parasitol* 1998; 76: 71-79.

- Restrepo BI, Llaguno P, Sandoval MA, Enciso JA, Teale JM. Analysis of immune lesions in neurocysticercosis patients: central nervous system response to helminth appears Th1-like instead of Th2. *J.Neuroimmunol* 1998; 89:64-72.
- Restrepo BI, Alvarez JI, Cataño JA, Arias LF, Restrepo M, Trujillo J, et al. Brain granulomas in neurocysticercosis patients are associated with Th1 and Th2 profile. *Infect Immun* 2001; 69: 4554-60.
- Lightowers MW, Rickard MD. Excretory Secretory products of helminth Parasites: effects on host immune responses. *Parasitol* 1988; 96: 5167-5193.
- Potter K, Leid RW. A review of eosinophil chemotaxis and function in *Taenia Taeniaformis* infections in the laboratory rat. *Vet parasitol* 1986, 20: 103-116.
- Lentoja T, Hammerberger. Third component of complement, immunoglobulin deposition, and attachment related to surface sulfate on larval *Taenia Taeniaformis*. *J. Parasitology* 1983; 69: 637-644.
- Correa D, Dalma D, Espinoza B, et al. Heterogeneity of humoral immune components in human cysticercosis. *J Parasitol* 1985; 71:535-41.
- Correa D., Tovar A., Espinoza B., Plancarte A., Flisser A. Cisticercosis humana: relación inmunológica huésped-parásito. in *Cisticercosis humana y porcina: su conocimiento e investigación en México*.1989; Eds Flisser A.,

Malagón F. (Limusa, México), pp 31–43.

- Willms, K, Merchant, M.T. [The inflammatory reaction surrounding *T. solium* larvae in pig muscle, ultrastructural and light microscopic observations.](#) *Parasitol. Immunol* 1980; 2: 261-275.
- Flisser A, González D, Shkurovich M, Madrazo I, Correa D, Rodríguez-Carbajal J, Cohen S, Rodríguez-del-Rosal E, Collado M, Fernández B, Fernández F, Aluja AS de. [Praziquantel treatment of porcine brain and muscle *Taenia solium* cysticercosis: 1. Radiological, physiological and histopathological studies.](#) *Parasitol Res* 1990; 76:263–269
- Aluja, A. S. de, A. N. Villalobos, A. Plancarte, L. F. Rodarte, M. Hernández, C. Zamora y E. Sciutto. [*Taenia solium* cysticercosis: immunity in pigs induced by primary infection.](#) *Vet Parasitol* 1999; 81(2):129-135.
- García HH, Gilman RH, Tovar MA, Flores E, Jo R, Tsang V, *et al.* [Factors associated with *Taenia solium* cysticercosis: analysis of nine hundred forty-six Peruvian neurologic patients. Cysticercosis Working Group in Peru \(CWG\).](#) *Amer J Trop Med Hyg* 1995; 52: 145-8.
- Larralde C, Padilla A, Hernández M, Govezensky T, Sciutto E, Gutiérrez G, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Sepúlveda J. [Seroepidemiology of cysticercosis in Mexico.](#) *Salud Pública de México* 1990; 34:197-210.
- Plancarte A, Fexas M, Flisser A. [Reactivity in ELISA and dot blot of purified GP24, an immunodominant antigen of *Taenia solium*, for the diagnosis of human neurocysticercosis.](#) *Int Jour of Parasitol* 1994; 24(5):733-738.
- García, H H, Gonzálezn AE, Gilman RH, Palacios LG, Jiménez I,

Rodríguez S, Verástegui M, Wilkins P, Tsang VC, Cysticercosis Working Group in Peru (CWG). [Short report: transient antibody response in *Taenia solium* infection in field conditions: a major contributor to high seroprevalence.](#) *Ame Jou of Trop Med and Hyg* 2001; 65(1) 31-32.

- García HH, Gilman RH, Tsang VC, González AE. [Clinical significance of neurocysticercosis in endemic villages. The Cysticercosis Working Group in Peru.](#) *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997; 91: 176-8.
- Fleury A, Hernández M, Ávila M, Cárdenas G, Bobes RJ, Huerta M, *et al.* [Detection of HP10 antigen in serum for diagnosis and follow-up of subarachnoidal and intraventricular human neurocysticercosis.](#) *J Neurol Neurosur Psy* 2007; 78: 970-4.
- García, H, Harrison LJ, R. Parkhouse M, Montenegro T, Martínez SM, Tsang VC, Gilman RH. [A specific antigen detection ELISA for the diagnosis of human neurocysticercosis,](#) The Cysticercosis Working Group in Peru. *Trans R Soc Trop Med and Hyg* 1998; 92(4): 411-414.
- Fleury A, Hernández M, Fragoso G, Parkhouse M, Harrison L, Sciutto E. [Detection of secreted cysticercal antigen: a useful tool in the diagnosis of inflammatory neurocysticercosis.](#) *Trans R Soc Trop Med and Hyg* 2003; 97: 542-6.
- Lightowers MW, Gauci CG, Chow C, Drew DR, Gauchi SM, Heath DD, Jackson DC, Dadley-Moore DL, Read AJ. [Molecular and genetic characterization of the host-protective oncosphere antigens of taeniid cestode parasites.](#) *Int. J. Parasitol* 2003; 33, 1207-1217

- Garcia, HH, Parkhouse, RME, Gilman, RH, Montenegro T, Bernal T., Martinez SM, Gonzalez AE, Tsang VC, Harrison LJS. [Serum antigen detection in the diagnosis, treatment, and follow-up of neurocysticercosis patients.](#) *Trans R Soc Trop Med and Hyg* 2000; 94, 673- 676.
- Garcia, HH, Gonzalez AE, Gilman RH, Bernal T, Rodriguez S, Pretell EJ, Azcurra O, Parkhouse, RME., Tsang VC, Harrison W. [The Cysticercosis Working Group in Peru. Circulating parasite antigen in patients with hydrocephalus secondary to neurocysticercosis.](#) *Ame Jou Trop Med and Hyg* 2002; 66: 427-430.

8. CUADROS Y FIGURAS

Cuadro. 1. Grupos de animales del experimento 1.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
4 cerdos inoculados con 3 metacestodos de <i>T. solium</i> , en el espacio SA.	1 cerdo inoculado con 3 metacestodos de <i>T. solium</i> , Intramuscular, MPD.	2 cerdos control de cirugía

SA. Subaracnideo, MPD. Miembro pélvico derecho

Cuadro. 2. Grupos de animales del experimento 2

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
4 cerdos inoculados con 500 oncosferas activadas de <i>T. solium</i> , en el espacio SA.	4 cerdos inoculados con 1000 oncosferas activadas de <i>T. solium</i> , en el espacio SA.	1 cerdo inoculado con 500 oncosferas activadas de <i>T. solium</i> , Intramuscular MPD.	1 cerdo inoculado con 1000 oncosferas activadas de <i>T. solium</i> , Intramuscular MPD.	2 cerdos control de cirugía

SA. Subaracnideo, MPD. Miembro pélvico derecho

Cuadro 3. Número y estadio de los cisticercos en los tres grupos de cerdos infectados experimentalmente con metacestodos de *T. solium* (Experimento 1)

Grupos	No. de cerdo	Total Cist.	Estado de los cisticercos.	
			V ^(a)	Ca/Cs
Grupo 1	1	1	-	1
Metacestodos	2	-	-	-
de	3	-	-	-
<i>T. solium</i> , SNC	4	-	-	-
Grupo 2	6	1	-	1
Metacestodos				
de				
<i>T. solium</i> , IM.				
	5	-	-	-
Grupo 3	8	-	-	-
Controles de				
cirugía				
Total de		2		
cisticercos				

V: Vesicular, Cs: Caseoso, Ca: Calcificado

^(a) Estos cisticercos se utilizaron para medir la viabilidad, por lo tanto no son presentados en las tablas de resultados de histopatología.

Cuadro 4. Número y estadio de los cisticercos en los cinco grupos de cerdos infectados experimentalmente con oncosferas activadas de *T. solium*. (Experimento 2)

Grupos	No. de cerdo	No. total de cisticercos	Estado de los cisticercos.	
			V	Ca/Cs
Grupo 1 500 oncosferas de <i>T. solium</i> en el SNC	2	7	2	5
	3	2	1	1
	7	3	0	3
	8	15	0	15
	5	11	0	11
Grupo 2 1000 oncosferas de <i>T. solium</i> en el SNC	6	10	9	1
	9	10	0	10
	12	4	0	4
Grupo 3 Inoculados con 500 <i>T. solium</i> , IM.	4	6	0	6
	10	5	0	5
Grupo 4 1000 oncosferas de <i>T. solium</i> , IM.	1	-	-	-
	11	-	-	-
Grupo 5 Animales control de cirugía				
Total cisticercos		73	12	61

V: Vesicular, Cs: Caseoso, Ca: Calcificado

Cuadro 5. Número y estadio de los cisticercos de cerdos infectados experimentalmente en el SNC con 500 oncosferas activadas de *T. solium*. (Grupo 1)

		Clasificación histopatológica de los cisticercos							
Grupo I	No. de cerdo	0	1	2	3	4	5	6	
Cerdos inoculados con 500 oncosferas de <i>T. solium</i> en el SNC. (Grupo 1)	2	-	-	-	-	5	-	-	
	3	-	-	-	-	1	-	-	
	7	-	-	-	3	-	-	-	
	8	-	-	-	5	10	-	-	
Total: 24 cisticercos									

Cuadro 6. Número y estadio de los cisticercos de cerdos infectados experimentalmente en el SNC con 1000 oncosferas activadas de *T. solium*. (Grupo 2)

		Clasificación histopatológica de los cisticercos							
Grupo II	No. de cerdo	0	1	2	3	4	5	6	
Cerdos inoculados con 1000 oncosferas de <i>T. solium</i> en el SNC. (Grupo 2)	5	-	-	-	4	4	3	-	
	6	-	-	-	1	-	-	-	
	9	-	-	2	1	6	1	-	
	12	-	-	-	1	3	-	-	
Total: 26 cisticercos.									

Cuadro 7. Número y estado de los cisticercos de cerdos infectados experimentalmente IM con 500 oncosferas activadas de *T. solium*. (Grupo 3)

Clasificación histopatológica de los cisticercos								
Grupo III	No. de cerdo	0	1	2	3	4	5	6
Cerdo inoculado con 500 oncosferas de <i>T. solium</i> IM.	4	-	-	-	-	1	5	-

Total: 6 cisticercos.

Cuadro 8. Número y estado de los cisticercos de cerdos infectados experimentalmente IM con 1000 oncosferas activadas de *T. solium*. (Grupo 4)

Clasificación histopatológica de los cisticercos								
Grupo IV	No. de cerdo	0	1	2	3	4	5	6
Cerdo inoculado con 1000 oncosferas de <i>T. solium</i> IM.	10	-	-	-	-	1	4	-

Total: 5 cisticercos.

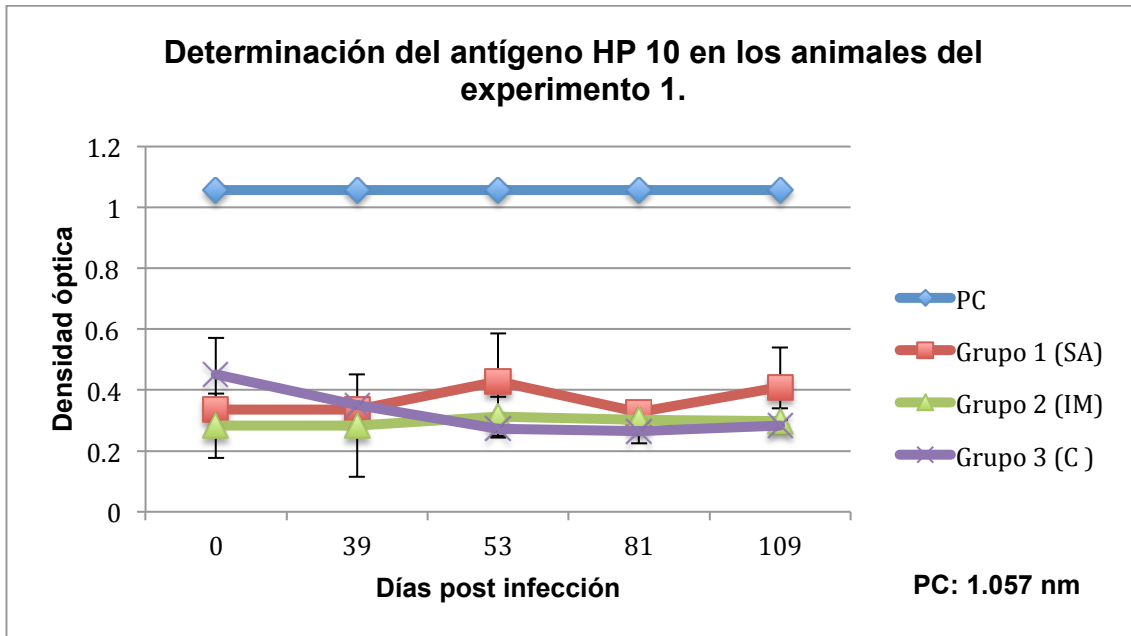


Figura 1. Promedio de la densidad óptica de los valores de absorbancia cada uno de los grupos de animales inoculados con metacestodos de *T. solium*, contra los días post-infección. (PC: Punto de corte, SA: Subaracnoideo; IM: Intramuscular; C: Controles de cirugía).

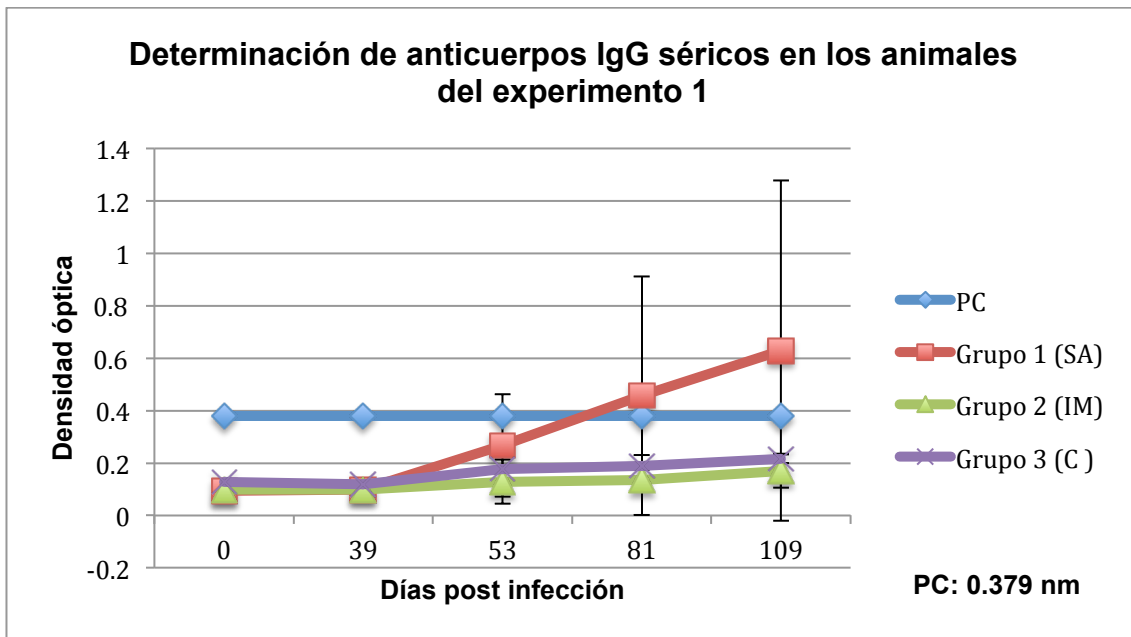


Figura 2. Promedio de la densidad óptica de los valores de absorbancia de cada uno de los grupos de animales inoculados con metacestodos de *T. solium*, contra los días post-infección. (PC: Punto de corte, SA: Subaracnoideo; IM: Intramuscular; C: Controles de cirugía).

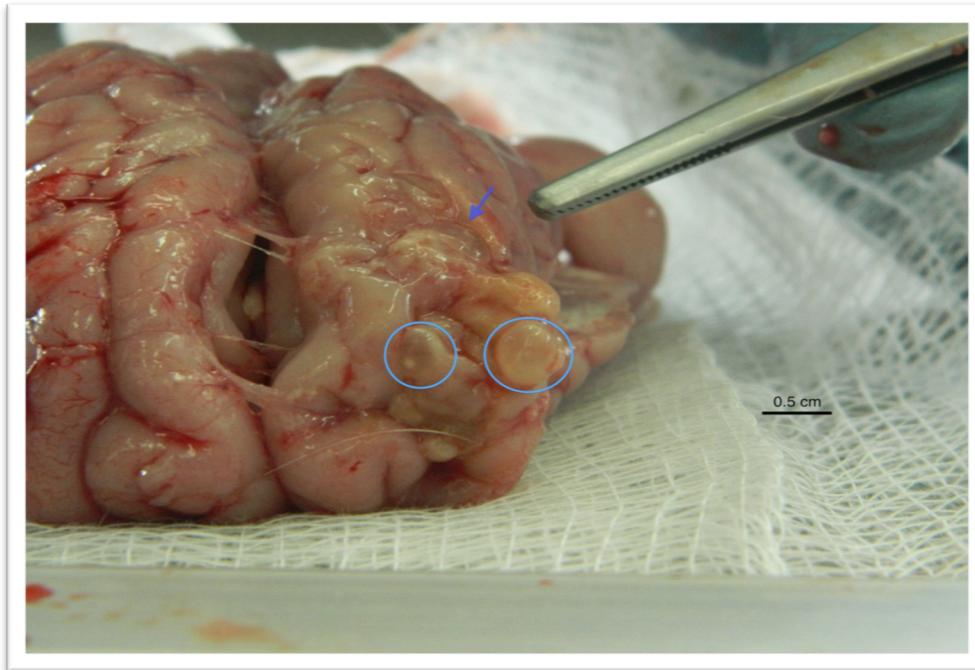


Figura 3. En la imagen se muestran múltiples cisticercos en el sitio de inoculación de las oncosferas, note el aspecto coloidal de los cisticercos dentro de los círculos (en una se logra apreciar el escólex), y el estado vesicular del cisticerco señalado por la flecha.

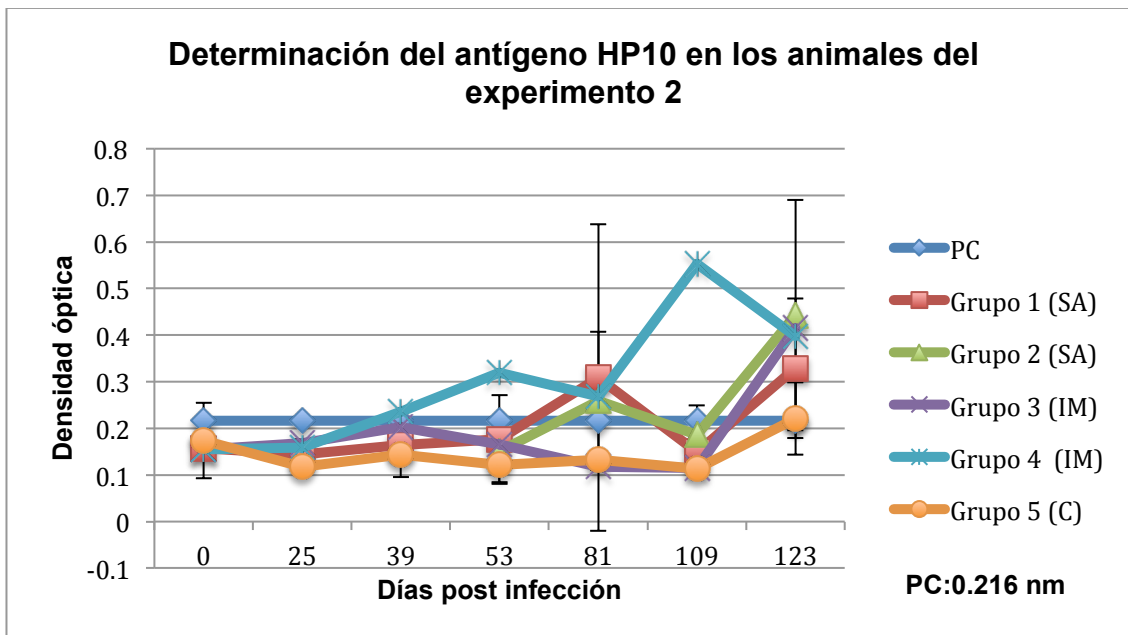


Figura 4. Promedio de la densidad óptica de los valores de absorbancia de cada uno de los grupos de animales inoculados con oncosferas activadas de *T. solium*, contra los días post-infección. (PC: Punto de corte, SA: Subaracnoideo; IM: Intramuscular; C: Controles de cirugía).

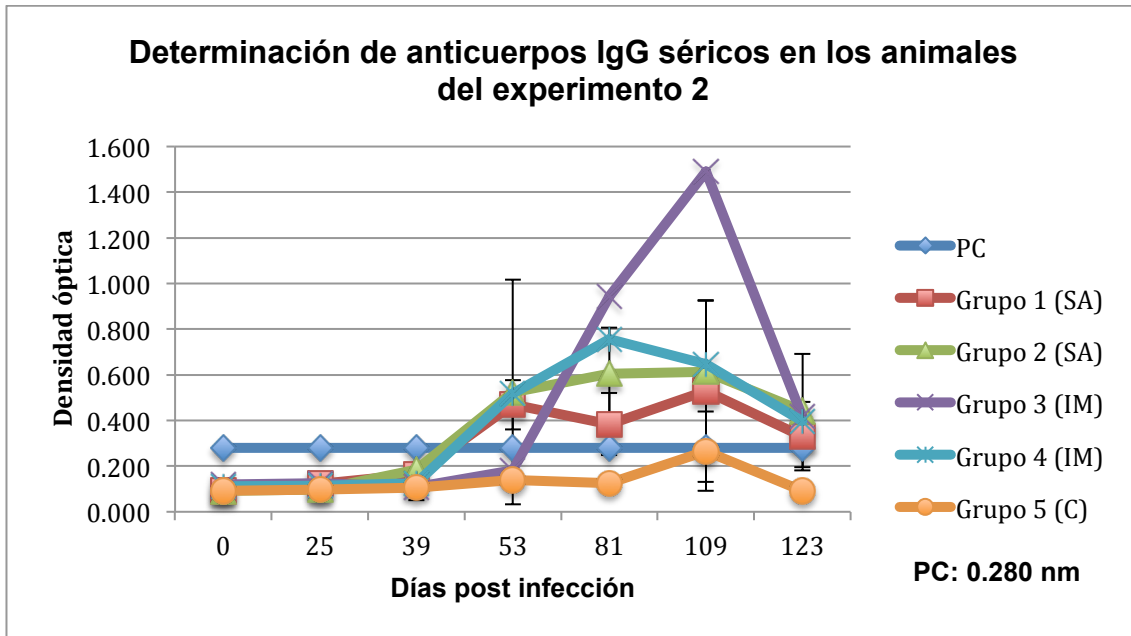


Figura 5. Promedio de la densidad óptica de los valores de absorbancia de cada uno de los grupos de animales inoculados con oncosferas activadas de *T. solium*, contra los días post-infección. (PC: Punto de corte, SA: Subaracnoideo; IM: Intramuscular; C: Controles de cirugía).

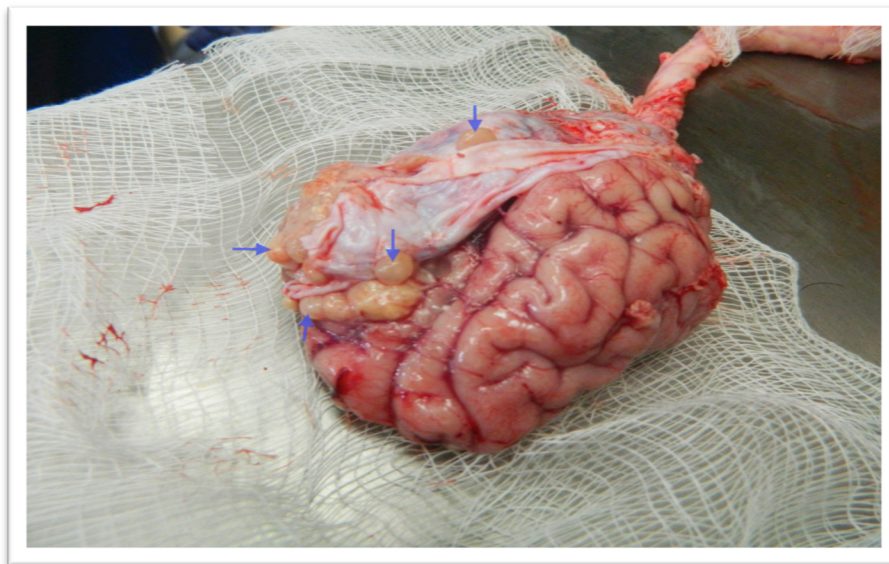


Figura 6. En esta imagen se logran apreciar múltiples cisticercos a nivel macroscópico en estado coloidal (señalados por las flechas), nótese el aspecto lechoso, gelatinoso en consistencia.

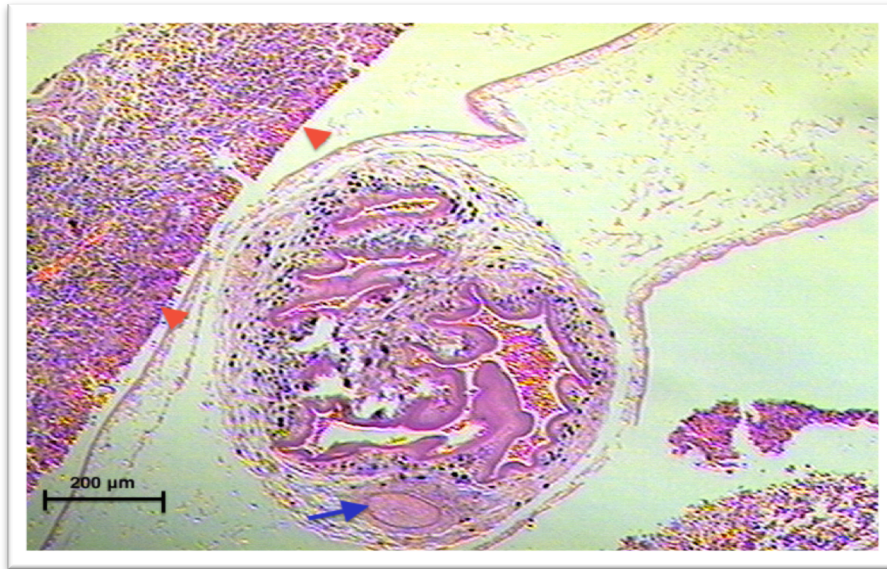


Figura 7. En este corte se observa un cisticerco con reacción inflamatoria en el tejido circundante al parásito en grado 3 (cabezas de flecha), se observan eosinofilos dentro del canal espiral del cisticerco, se alcanza apreciar una estructura sugerente de una ventosa del escólex (flecha). Corte y Tinción H&E (4x).

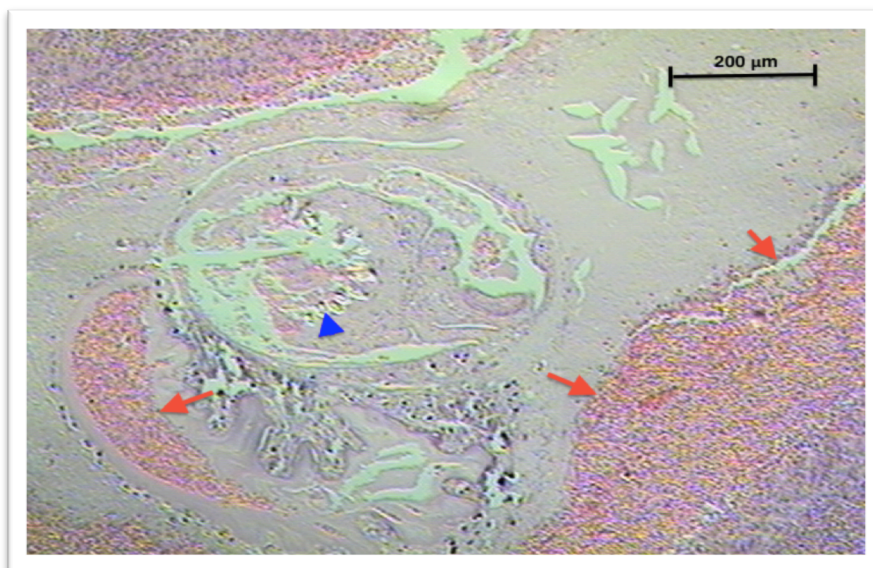


Figura 8. En este corte se observa un cisticerco con reacción inflamatoria en el tejido circundante al parásito en grado 4 (flechas), dentro de la cavidad vesicular se aprecia material acidofílico. En este mismo corte se logran observar estructuras sugerentes de ganchos del escólex (cabeza de flecha). Corte y Tinción H&E (4x).

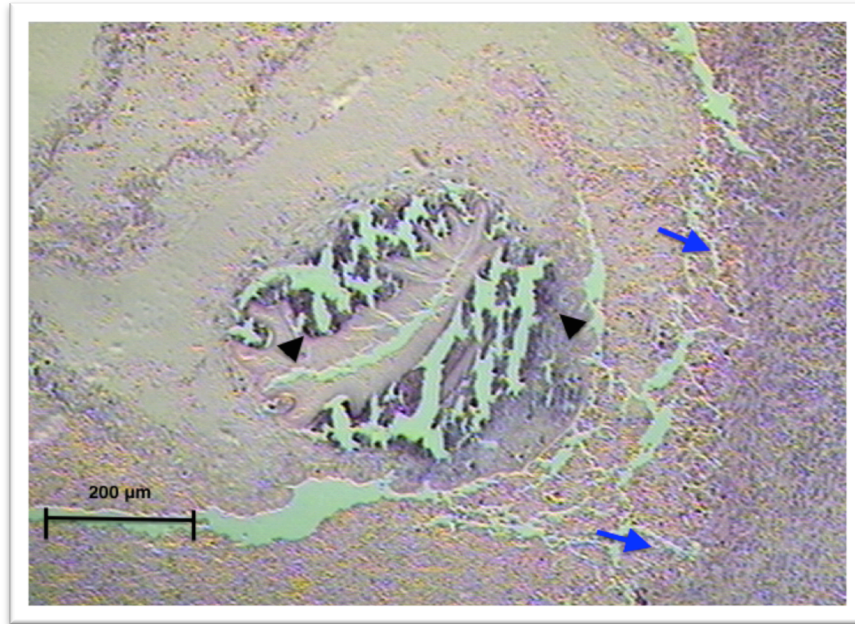


Figura 9. En este corte se observa una masa acidofílica y restos necróticos (cabezas de flecha) no se reconocen detalles estructurales del cisticerco, en el tejido circundante al material necrótico observamos células gigantes, linfocitos y células plasmáticas (flechas). Corte y Tinción H&E (4x).