



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**Evaluación de la protección del péptido TSOL18  
expresado en el virus de la Enfermedad de Newcastle  
contra la Cisticercosis Porcina**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Steffi ROLLER PARODI

**ASESOR**

Armando Emiliano GONZALEZ ZARIQUIEY

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Roller S. Evaluación de la protección del péptido TSOL18 expresado en el virus de la Enfermedad de Newcastle contra la Cisticercosis Porcina [Tesis pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2021.

---

## Metadatos complementarios

<b>Datos de autor</b>	
Nombres y apellidos	Steffi Roller Parodi
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	71746634
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-3641-4913">https://orcid.org/0000-0002-3641-4913</a>
<b>Datos de asesor</b>	
Nombres y apellidos	Armando Emiliano Gonzalez Zariquiey
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	7330504
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0003-1909-1873">https://orcid.org/0000-0003-1909-1873</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	Amanda Cristina Chávez Velásquez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07801682
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Luis Antonio Gómez Puerta
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10810335
<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Miguel Angel Rojas Montes
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	42290575
<b>Datos de investigación</b>	
Línea de investigación	A.1.3.1. Salud Pública

Grupo de investigación	Ateneo abocado a responder amenazas y oportunidades del sector pecuario (ATENEO)
Agencia de financiamiento	Convenio de Financiamiento N°022-2016-FONDECYT: “Formación y consolidación de un Ateneo abocado al desarrollo de nuevas vacunas recombinantes para responder a amenazas y oportunidades del sector pecuario peruano”
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM) País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Calle: Avenida Circunvalación 2800 Latitud: -12.08107 Longitud: -76.98752
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2019-2020
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01</a> Parasitología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.07">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.07</a> Salud pública, Salud ambiental <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05</a>



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD VIRTUAL  
PARA OPTAR EL TÍTULO DE MEDICA VETERINARIA  
Autorizado por R.D N° 304-D-FMV-2020**

**1. FECHA DE LA SUSTENTACIÓN 15/10/2021**

HORA INICIO: 12:00 horas

HORA TÉRMINO: 13:25 horas

**2. MIEMBROS DEL JURADO**

PRESIDENTE: **MV. Mg. Chávez Velásquez, Amanda Cristina**

MIEMBRO: **MV. Mg. Gómez Puerta, Luis Antonio**

MIEMBRO: **MV. Dr. Rojas Montes, Miguel Angel**

ASESOR: **MV. PhD. Gonzalez Zariquiey, Armando Emiliano**

**3. DATOS DEL TESISISTA**

APELLIDOS Y NOMBRES: **ROLLER PARODI STEFFI**

CÓDIGO: **14080055**

R.R. DE GRADO DE TESISISTA NÚMERO: **013780-2020-R-UNMSM**

TÍTULO DE LA TESIS: **“EVALUACIÓN DE LA PROTECCIÓN DEL PÉPTIDO TSOL18 EXPRESADO EN EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE CONTRA LA CISTICERCOSIS PORCINA”**

**4. RECOMENDACIONES**

---

**Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:**

https: <https://meet.google.com/gtw-gmgw-dap>

ID: gtw-gmgw-dap

Grabación archivada en:

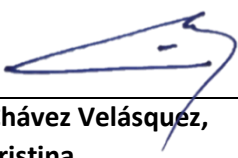
<https://drive.google.com/file/d/1WTxfNdAwWMIFsxG7KRqOPVRL7DMZmwZK/view?usp=sharing>

**5. NOTA OBTENIDA: ..... (16), ..... (Dieciséis)**

**6. PÚBLICO ASISTENTE:** (Nombre, apellido y DNI)

<b>Nombres y apellidos</b>	<b>DNI</b>	<b>Correo electrónico</b>
Steffi Roller Parodi	71746634	steffi.roller@unmsm.edu.pe
Amanda Chávez Velásquez	07801682	achavezv@unmsm.edu.pe
Armando Gonzalez Zariquiey	7330504	agonzalez@unmsm.edu.pe
Luis Antonio Gómez Puerta	10810335	lgomezp@unmsm.edu.pe
Miguel Angel Rojas Montes	42290575	mrojasm2@unmsm.edu.pe
Faride Altamirano Zevallos	43695598	faltamiranoz@unmsm.edu.pe
Rocío Rímac Beltrán	47029502	rociorimacvet2@gmail.com
Ana Miluska Vargas Calla	45705704	ana.vargas@unmsm.edu.pe
Maria Teresa López Urbina	9145647	mlopezu@unmsm.edu.pe
Raquel Andrea Watanabe	45229538	rwatanabew@unmsm.edu.pe
María Katia Parodi Carbonel	9375950	Mariabridak@gmail.com
Edwin Rolando Roller	7211225	Edwinroller01@gmail.com
Juan Olazabal Loaiza	20050845	jolazaball@unmsm.edu.pe
Madeline Victoria Garcia	41552864	madeline.garcia@unmsm.edu.pe
Joel Jefferson Cuenca	14080045	joel.cuenca@unmsm.edu.pe
Jhonathan Arturo Bazalar	21087071	05080060@unmsm.edu.pe
Vanessa Atalaya Ruiz	15080032	vanessa.atalaya@unmsm.edu.pe
Josselyn Antuaneth Escano	14080069	josselyn.escano@gmail.com
Kendall Anthony Vergara	13080061	kendall.vergara@unmsm.edu.pe
Judith Lozano Lozano	962157	JLOZANOI@UNMSM.EDU.PE
Amilquer Moreno Sinche	-	amilquermorenosinch@gmail.com
Diego Díaz Coahila	7521315	ddiazc@unmsm.edu.pe
Andrés Trujillo Peña	-	informatica.fmv@unmsm.edu.pe

**7. FIRMAS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO**

Firma 
<b>MV. Mg. Chávez Velásquez, Amanda Cristina</b>
<b>Apellidos y Nombres</b>
<b>PRESIDENTE</b>

Firma 	Firma 	Firma 
<b>MV. PhD. Gonzalez Zariquiey, Armando Emiliano</b>	<b>MV. Mg. Gómez Puerta, Luis Antonio</b>	<b>MV. Dr. Rojas Montes, Miguel Ángel</b>
<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Apellidos y Nombres</b>
<b>ASESOR DE LA TESIS</b>	<b>MIEMBRO JURADO</b>	<b>MIEMBRO JURADO</b>



## AGRADECIMIENTOS

Quiero iniciar agradeciendo a mis padres. A mi madre, por ser la mujer más fuerte que conozco e inspirarme cada día. A mi padre, por ser el mayor ejemplo de perseverancia y valores que tengo. Muchas gracias a ambos por apoyarme en mis sueños desde niña, y muchas gracias por demostrarme su amor cada día. A mi mejor amiga, mi hermana menor, Irene, gracias confiar en mis habilidades a veces más de lo que yo confío en mí misma. A mi abuelita, gracias por creer en mí. A mi mami Blanca y a Liz, gracias por haber iluminado mi vida, y gracias por haber iluminado la vida de mis padres también.

Al Dr. Gonzalez, muchas gracias por ayudarme a encontrar mi camino en medicina veterinaria y por haberme permitido iniciar esta experiencia en el área de Epidemiología. Al Dr. Gómez, le agradezco todo el apoyo y los consejos prestados para sacar adelante y de la mejor manera este proyecto. A la Dra. Teresa López, por todo el cariño, por ser un ejemplo de profesional y de ser humano. A la Dra. Ana Vargas, por compartir todos sus conocimientos para absolver cualquiera de mis inquietudes. A la Dra. Rocío Rímac, le agradezco el inmenso apoyo que me ha brindado durante todo el desarrollo del proyecto, gracias por compartir sus historias y su amor por la ciencia. A Elton y a Alejandro, por su ayuda en el proyecto y las anécdotas que llevaré siempre conmigo.

A Andrea e Iran, por ser grandes amigas más a lo largo de la carrera, por su compañía y las anécdotas que tenemos juntas. A la Dra. Raquel Watanabe, por su amistad y cariño, y por siempre transmitir un mensaje positivo. También a Valeria, a pesar de la distancia, muchas gracias por tu amistad.

## **DEDICATORIA**

Para mi familia, por el apoyo incondicional a que yo siguiera mis metas desde siempre.

Para Blomster, inicié este viaje gracias a ti, y sé que me acompañas en todo momento por medio de Oreo. Te dedico esta tesis por cómo me marcaste, a pesar del poco tiempo que pasamos juntas.

A mi yo de hace 10 años, este es un logro de entre la lista de metas que tenemos. Aun cuando parezca difícil, sigamos adelante, la vida es larga, y nuestras metas, infinitas.

# INDICE

1	RESUMEN	viii
2	ABSTRACT	x
3	LISTA DE CUADROS	xii
4	LISTA DE FIGURAS	xiii
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.	Cisticercosis y Taeniasis por <i>Taenia solium</i>	3
1.1	<i>Clasificación taxonómica</i>	3
1.2	<i>Morfología</i>	3
1.3	<i>Ciclo biológico (Transmisión)</i>	5
1.4	<i>Teniasis</i>	6
1.4.1	<i>Presentación y Síntomas</i>	6
1.4.2	<i>Diagnóstico</i>	6
1.4.3	<i>Tratamiento</i>	7
1.5	<i>Cisticercosis porcina</i>	7
1.5.1	<i>Presentación y Signos Clínicos</i>	7
1.5.2	<i>Diagnóstico</i>	7
1.5.3	<i>Tratamiento</i>	8
1.6	<i>Neurocisticercosis</i>	9
1.6.1	<i>Presentación</i>	9
1.6.2	<i>Signos clínicos</i>	11
1.6.3	<i>Diagnóstico</i>	13
1.6.4	<i>Tratamiento</i>	14
1.7	<i>Epidemiología</i>	15

1.7.1 <i>Contexto Internacional</i>	15
1.7.2 <i>Contexto Nacional</i>	18
1.8 <i>Prevención y control</i>	19
1.8.1 <i>Control en animales</i>	20
1.8.2 <i>Tratamiento de la población humana</i>	21
1.8.3 <i>Educación en salud</i>	22
1.9 Vacunación contra cisticercosis	23
2. Vacunas vectorizadas	26
2.1 <i>Virus de la enfermedad de Newcastle</i>	26
2.2 <i>Morfología</i>	27
2.2 <i>Uso en vacunas</i>	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS	31
1. Lugar y periodo de ejecución del estudio	31
2. Material experimental	31
2.1 <i>Tamaño muestral</i>	31
2.2 <i>Diseño experimental</i>	32
2.3 <i>Conteo de quistes</i>	34
3. Análisis de datos	36
4. Consideraciones éticas	36
IV. RESULTADOS	37
1. Conteo de quistes	37
2. Viabilidad de quistes	37
V. DISCUSIÓN	39
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	44
VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	45



## 1 RESUMEN

La cisticercosis porcina (CP) es una enfermedad parasitaria endémica detectada principalmente en zonas rurales y causada por el estadio larval de *Taenia solium* debido al consumo de heces con huevos del parásito excretados por el hombre. Además, el ser humano puede desarrollar accidentalmente la neurocisticercosis (NCC) por la vía fecal-oral o por consumir alimentos contaminados. Por ello, una de las formas principales para prevenirla es mediante la vacunación de los animales. Se desarrolló una candidata a vacuna vectorizada que emplea como vector el virus de la enfermedad de Newcastle (VEN) para expresar el péptido TSOL18. Esta fue evaluada en lechones de dos meses de edad administradas por la ruta ocular y nasal, detectándose la producción de anticuerpos contra el péptido; sin embargo, no se evaluó la protección post desafío experimentalmente. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la protección de la candidata a vacuna vectorizada en animales desafiados con una proglótide de *Taenia solium* experimentalmente, realizando el conteo de quistes encontrados y determinando su viabilidad; además, de conocer la seguridad de esta en la especie porcina. Un total de 16 cerdos de 2 meses de edad fueron divididos en dos grupos (control y experimental). El grupo experimental fue inmunizado con una dosis de  $1.6 \times 10^9$  pfu/ml por la vía nasal e intramuscular el primer día y dos refuerzos posteriores por la vía nasal con un intervalo de 15 días. El grupo control recibió únicamente suero fisiológico por las mismas rutas descritas para el grupo experimental. Posterior a dos semanas de la última inmunización, los animales fueron desafiados con una proglótide de *T. solium* por la vía oral. Luego de tres meses de seguimiento post-desafío, se realizó la necropsia para determinar el número de quistes sanos en los animales. Un quiste sano fue determinado por la presencia de la vesícula con líquido translúcido permitiendo observar el escólex como un punto blanco. Un animal del grupo experimental amaneció muerto el día 55 posterior al desafío sin mostrar signos clínicos. El 62,5% (5/8) del grupo control y el 71,4% (5/7)

del grupo experimental presentaron quistes sanos. La mediana del número de quistes sanos en el grupo control fue de 3 y del grupo experimental fue de 24, que analizados con la prueba U de Mann-Whitney, no se detectó diferencia estadísticamente significativa. Por lo tanto, la candidata a vacuna vectorizada no protegió a los animales del desafío experimental con *Taenia solium*.

**Palabras clave:** vacuna vectorizada, cisticercosis porcina, *Taenia solium*, TSOL18

## 2 ABSTRACT

Porcine cysticercosis (PC) is an endemic parasitic disease detected mainly in rural areas and caused by the larval stage of *Taenia solium* due to the consumption of human feces with eggs of the parasite. In addition, people can accidentally develop neurocysticercosis (NCC) through the fecal-oral route or by consuming contaminated food. Therefore, one of the main ways to prevent it is by vaccinating animals. A vectorized vaccine candidate using Newcastle Disease Virus (NDV) as a vector to express the TSOL18 peptide was developed. The vaccine candidate was tested in two-month-old piglets, and it was administered by the ocular and nasal routes, detecting the production of antibodies against the peptide; however, post challenge protection was not evaluated experimentally. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the protection of the vectorized vaccine candidate in animals challenged with a *Taenia solium* proglottid experimentally, by counting the number of cysts found at necropsy and determining their viability; also, to recognize the safety of this vaccine candidate in pigs. A total of 16 2-month-old pigs were divided into two groups (control and experimental). The experimental group was immunized with a dose of  $1.6 \times 10^9$  pfu / ml by the nasal and intramuscular route on the first day and two subsequent boosters by the nasal route with an interval of 15 days. The control group received only physiological saline solution by the same routes described for the experimental group. Two weeks after the last immunization, the animals were challenged with a *T. solium* proglottid by the oral route. After three months of post-challenge follow-up, a necropsy was performed to determine the number of healthy cysts in the animals. A healthy cyst was determined by the presence of translucent wall fluid-filled, allowing the scolex to be seen as a white point. One animal from the experimental group woke up dead on day 55 after the challenge without showing clinical signs. 62.5% animals (5/8) from the control group and 71.4% (5/7) from the experimental group presented healthy cysts. The median number of healthy cysts in the control group was 3; and in the experimental one, 24. These results were analyzed with the Mann-



Whitney U test and no statistically significant difference was detected. Therefore, the vectorized vaccine candidate did not protect the animals from the experimental challenge with *Taenia solium*.

**Key Words:** vectorized vaccine, porcine cysticercosis, *Taenia solium*, TSOL18

### 3 LISTA DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
<b>Cuadro 1.</b> Efectores celulares y humorales claves asociados con NCC parenquimal y extraparenquimal (Prodjinotho <i>et al.</i> , 2020)	<b>9</b>
<b>Cuadro 2.</b> Hallazgos en Tomografía Computarizada y Resonancia Magnética en varias etapas de neurocisticercosis (Kimura-Hayama <i>et al.</i> , 2010)	<b>10</b>
<b>Cuadro 3.</b> Número de cisticercosis de <i>Taenia solium</i> en cerdos del grupo experimental (n=7) y control (n=8) y el nivel de protección adquirida por vacunación.	<b>37</b>
<b>Cuadro 4.</b> Viabilidad de los quistes observables sanos en necropsia en los grupos control (n=64) y experimental (n=88).	<b>38</b>

## 4 LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Proglótide madura de <i>Taenia solium</i> (B); Proglótide grávida (C) (Quiroz, 1990)	<b>4</b>
<b>Figura 2.</b> Huevo de <i>Taenia solium</i> después de proceso de hatching	<b>4</b>
<b>Figura 3.</b> Cisticerco de <i>Taenia solium</i> en el cerebro de un perro que se puede identificar por las formas y la medida de los ganchos del escólex ( $\times 5$ ) (Bowman, 2014)	<b>5</b>
<b>Figura 4.</b> Ciclo biológico de <i>Taenia solium</i> (Modificado de Garcia <i>et al.</i> , 2003)	<b>6</b>
<b>Figura 5.</b> Cisticercos extraídos de músculos de cerdos. El punto blanco en cada uno indica la presencia del escólex	<b>8</b>
<b>Figura 6.</b> Cisticerco cerebral calcificado viejo que muestra una amplia área de edema perilesional tres días después de un episodio convulsivo (IMR sin contraste, protocolo FLAIR). (Garcia <i>et al.</i> , 2006)	<b>11</b>
<b>Figura 7.</b> Fotografía de un espécimen patológico que muestra neurocisticercosis intraventricular (flecha) (Kimura-Hayama <i>et al.</i> , 2010)	<b>12</b>
<b>Figura 8.</b> Fotografía de un espécimen patológico que muestra neurocisticercosis subaracnoidea-parenquimal (Kimura-Hayama <i>et al.</i> , 2010)	<b>12</b>
<b>Figura 9.</b> Diferentes estadios de neurocisticercosis como se visualizan en neuroimagenología. (A) Quistes viable con escólex (IMR, protocolo FLAIR); (B) quiste en degeneración (IMR, protocolo FLAIR); (C) quistes calcificado (TAC sin contraste); y (D) cisticercosis basal	<b>13</b>

subaracnoidea (racemosa) (IMR, protocolo FLAIR).  
(Garcia *et al.*, 2006)

<b>Figura 10.</b>	Paciente de 16 años con fiebre y alteración del sensorio de 3 días de duración con historial de convulsiones en el pasado. (A) Tomografía computarizada sin contraste mostrando lesiones calcificadas intraparenquimales e intraventriculares de neurocisticercosis en cerebro, resultando en apariencia de “noche estrellada”. (B) Resonancia magnética con realce de contraste mostrando múltiples lesiones quísticas focales en el cerebro con un escólex excéntrico típico de neurocisticercosis (Tale <i>et al.</i> , 2017)	<b>14</b>
<b>Figura 11.</b>	Mapa que muestra las principales áreas endémicas para teniasis/cisticercosis por <i>Taenia solium</i> en el Perú (Garcia <i>et al.</i> , 2010)	<b>18</b>
<b>Figura 12.</b>	Sujeción e inmunización de un cerdo con la vacuna vectorizada empleando la vía nasal mediante el uso de una pipeta Pasteur	<b>33</b>
<b>Figura 13.</b>	Desafío de los cerdos mediante la ingestión de una proglótide grávida de <i>Taenia solium</i>	<b>34</b>
<b>Figura 14.</b>	Quiestes de <i>Taenia solium</i> extraídos de los músculos (A) y luego de evaginar con bilis bovina (B)	<b>35</b>

---

## I. INTRODUCCIÓN

*Taenia solium* causa el complejo teniasis/cisticercosis en el hombre y en el cerdo, respectivamente. Además, el consumo accidental de alimentos contaminados con huevos de *Taenia solium* causa neurocisticercosis (NCC) en humanos (García *et al.*, 2014). NCC es causa del 35% de casos de epilepsia en zonas endémicas (Moyano *et al.*, 2014). A pesar del tratamiento antiparasitario, las crisis epilépticas persisten incluso con quistes calcificados (Moyano *et al.*, 2014). Debido a que es un problema de salud pública, se han analizado diferentes medidas de diagnóstico y control, como la palpación de la lengua o la inspección visual de la carne, pero muestran un bajo nivel de sensibilidad cuando la carga parasitaria es baja (Da Silva *et al.*, 2012; Akoko *et al.*, 2019; Sithole *et al.*, 2019).

El cerdo es el hospedador intermedio de *T. solium*, por ello, el desarrollo de vacunas en esta especie sería una forma de prevenir la continuidad del ciclo biológico del parásito (Gilman *et al.*, 2012; Gonzalez *et al.*, 2005). Después de la identificación de las proteínas de la oncósfera de *T. solium* homólogas a *Taenia ovis* (Gauci *et al.*, 1998), se determinó que el péptido TSOL18 es el mejor candidato vacunal porque confiere una protección de hasta el 99.9%, a diferencia de TSOL45 (98.6%) y la combinación Tsol18-Tsol16 (99.7%) (Gonzalez *et al.*, 2005; Jayashi *et al.*, 2012). Aunque existe una vacuna comercial contra la cisticercosis porcina, no está disponible comercialmente en Perú por razones desconocidas. Sin embargo, requiere de tres dosis, siendo la última dosis administrada a los seis meses después de la segunda dosis, aumentando el costo del servicio de personal calificado (Flisser *et al.*, 2004; Gonzalez *et al.*, 2005).

El interés en el desarrollo de vacunas vectorizadas ha aumentado debido a sus ventajas, como la estimulación de las respuestas inmunitarias sistémicas y de mucosas, así como la inmunidad humoral y celular. Además, pueden administrarse por vía ocular, nasal y oral imitando la vía de entrada de diferentes patógenos (Zhang *et al.*, 2015; Kim y Samal, 2016). La vía nasal se ha vuelto de gran interés para las vacunas comerciales en cerdos, perros y bovinos debido a su

fácil administración, la gran vascularidad, permeabilidad y el metabolismo limitado en la cavidad nasal y la posibilidad de vacunación a grandes números de animales (Calderon-Nieva *et al.*, 2017; Ellis *et al.*, 2017).

El virus de la enfermedad de Newcastle (VEN) es un virus ARN de sentido negativo monocatenario que se replica en el citoplasma, lo que lo convierte en un vector viral de elección debido al menor riesgo de inserción de material genético en el genoma animal, como los vectores de ADN viral (DiNapoli *et al.*, 2007; Kim y Samal, 2016). Los estudios en cerdos que utilizaron al NDV como vector vacunal contra el virus Nipah, el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino, y la peste porcina, refuerzan lo mencionado anteriormente (Kong *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019). En un ensayo experimental en cerdos, la vacuna vectorizada, empleando las vías nasal y ocular, indujo una ligera producción de anticuerpos contra el péptido TSOL18 en los animales, sin embargo, no se realizó la evaluación de protección por desafíos (Martínez A., 2018).

En el presente estudio, el objetivo fue evaluar la protección post-desafío en animales inmunizados con una candidata a vacuna vectorizada por vía intramuscular y nasal e infectados experimentalmente con una proglótide de *T. solium*; así como explorar los efectos adversos de la candidata a vacuna vectorizada, conocer el número de quistes sanos y degenerados post desafío después de la necropsia y determinar la viabilidad de los quistes sanos detectados.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1. *Cisticercosis y Taeniasis por Taenia solium*

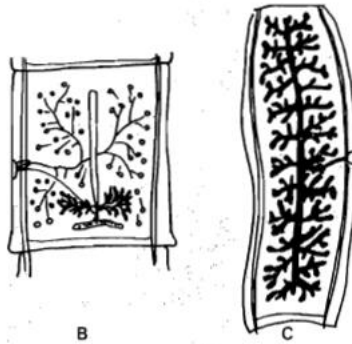
#### 1.1 *Clasificación taxonómica*

*Taenia solium* pertenece al *Phylum Platyhelminthes*, *Clase Cestoda*, *Orden Cyclophyllidea*, *Familia Taeniidae* (Meza-Lucas y Aguilar, 2002). Esta familia incluye a tres especies de parásitos que afectan a los seres humanos: *T. solium* (la tenia del cerdo), *T. saginata* (la tenia de la vaca) y *T. asiatica* (morfológicamente similar a *T. saginata*, pero biológicamente parecida a *T. solium*) (Del Brutto y García, 2015).

#### 1.2 *Morfología*

La forma adulta de *Taenia solium*, se aloja en el intestino delgado del ser humano y posee un escólex o cabeza que mide de 0.6 a 1 mm con 4 ventosas, y un rostelo no retráctil con una doble corona de ganchos, siendo estos de 22 a 32. Posee un cuello estrecho y una gran estróbila (cuerpo) que mide de dos a cuatro metros y que consta de varios cientos de proglótides o segmentos que miden de diez a doce milímetros de largo por cinco a seis de ancho (Quiroz, 1990; Garcia *et al.*, 2003, 2006; Bowman, 2014). La esperanza de vida de una tenia adulta es desconocida, mencionándose en diversos textos un aproximado de 20 a 25 años; sin embargo, estudios de años posteriores sugieren una esperanza de vida mucho menor, probablemente incluso menor de 5 años (Garcia *et al.*, 2003).

Las proglótides presentan poros genitales unilaterales alternados de forma irregular de un lado a otro a lo largo de todo el cuerpo (Quiroz, 1990). Los ovarios están en el tercio posterior y el útero tiene de siete a doce ramas laterales de cada lado. Cada proglótide contiene entre  $50\text{-}60 \times 10^3$  huevos fértiles (Bowman, 2014) (Figura 1).



**Figura 1.** Proglótide madura de *Taenia solium* (B); Proglótide grávida (C) (Quiroz, 1990)

Los huevos del género *Taenia* son esferoides pequeños y midiendo entre 20-50 micrómetros de diámetro (Bowman, 2014; Martínez J., 2018). Poseen una cubierta radiada (embrióforo) y estriada, la cual es formada por bloques unidos gracias a una proteína cementante. Contienen al embrión hexacanto (oncósfera) en el interior, la cual mide cerca de 30 micrómetros de diámetro y posee tres pares de ganchos embrionarios y un par de glándulas que le ayudarán en la migración dentro del hospedador posteriormente (Meza-Lucas y Aguilar, 2002; Martínez J., 2018) (Figura 2).



**Figura 2.** Huevo de *Taenia solium* después de proceso de hatching

Los cisticercos son la forma larvaria de *T. solium*, se describen como quistes o vesículas de 1 cm de diámetro con paredes delgadas que miden entre 10-20 mm en diámetro, y con un contenido líquido claro semitransparente y el escólex invaginado en el interior que da la apariencia de un punto blanco opaco (Flisser y Lightowlers, 2001; Garcia *et al.*, 2006, 2014).



Dicho escólex posee cuatro ventosas y dos hileras de ganchos que varían de tamaño (Martínez A., 2018) (Figura 3).

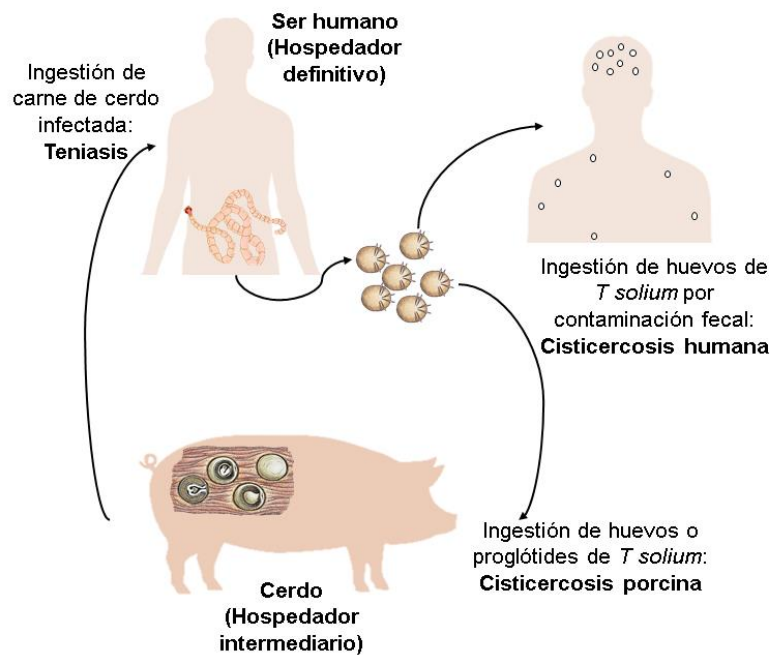


**Figura 3.** Cisticercos de *Taenia solium* en el cerebro de un perro que se puede identificar por las formas y la medida de los ganchos del escólex ( $\times 5$ ) (Bowman, 2014)

### 1.3 Ciclo biológico (Transmisión)

El ciclo biológico de *T. solium* es de dos hospedadores, el ser humano y el cerdo. Los humanos son los únicos hospedadores definitivos para la tenia, adquiriéndola mediante la ingestión de carne de cerdo mal cocida infectada con cisticercos. Esta forma larvaria evagina en el intestino delgado y el escólex se adhiere a la mucosa intestinal mediante sus ventosas y ganchos (García *et al.*, 2014).

El desprendimiento de las proglótides grávidas se produce dos meses luego de la infección, eliminándose por las heces (García *et al.*, 2003). Cada proglótide grávida contiene alrededor de 50,000 huevos (Flisser y Lightowlers, 2001). Las zonas rurales donde se encuentran un déficit de sanidad y salud pública, agregando a ello el tipo de crianza de traspatio que se practica, los cerdos acceden fácilmente a las heces infectadas con proglótides o huevos de *Taenia solium* eliminadas por el hombre (García *et al.*, 2014). Posteriormente, en el tracto intestinal del cerdo, los embriones hexacantos (oncósferas) cruzarán la mucosa intestinal para migrar por la circulación sanguínea y llegar a los músculos, ojos y al Sistema Nervioso Central, dónde se desarrollarán los cisticercos (Flisser y Lightowlers, 2001; García *et al.*, 2014). Todo este proceso de formación de los quistes toma cerca de tres meses (García *et al.*, 2006). Sin embargo, las personas también pueden comportarse como hospedador intermediario accidental y desarrollar la neurocisticercosis (NCC) (García *et al.*, 2014) (Figura 4).



**Figura 4.** Ciclo biológico de *Taenia solium* (Modificado de Garcia *et al.*, 2003)

## 1.4 Teniasis

### 1.4.1 Presentación y Síntomas

La teniasis es causada por el estadio adulto de *Taenia solium*, con el humano como único hospedador definitivo. La persona presenta una diversidad de síntomas como inflamación leve en el sitio de implantación, dolor abdominal, distensión, diarrea, y náuseas, hasta incluso ninguna sintomatología (Flisser y Lightowlers, 2001; Garcia y Gonzalez, 2001; Garcia *et al.*, 2003).

### 1.4.2 Diagnóstico

El diagnóstico se realiza con la técnica de coproparasitología que consiste en la visualización de los huevos de *T. solium*. Sin embargo, la prueba tiene una baja sensibilidad ya que los huevos de *T. solium* y *T. saginata* son muy parecidos. En ocasiones se puede visualizar las proglótidos grávidas mediante tamizaje de heces o por identificación directa en las heces del paciente. (Garcia *et al.*, 2003; Cordero *et al.*, 2010).

El inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) coproantígeno para *Taenia solium* detecta 2.5 veces más casos de teniasis que la microscopía, presentando una sensibilidad del 98% y una especificidad del 99% (Bustos *et al.*, 2012).

### **1.4.3 Tratamiento**

Los antiparasitarios empleados son la niclosamida y el praziquantel (Gilman *et al.*, 2012). La niclosamida no cruza la barrera hematoencefálica (BHE) y se considera segura para tratar en pacientes que aún no se ha determinado la presencia de quistes en el tejido cerebral (García *et al.*, 2003). Se emplea una sola dosis de 2 gramos por la vía oral en adultos, y de 1 gramo en niños (García *et al.*, 2010). Para el praziquantel la dosis empleada es de 5-10mg/kg en una sola dosis oral, sin embargo, sí cruza la BHE por lo que su administración se debe realizar con más cuidado y seguimiento del paciente (García *et al.*, 2003; Gilman *et al.*, 2012). También se indica el uso de un purgante antes y después del tratamiento para que el paciente elimine la taenia por completo (García *et al.*, 2006). En caso el parásito no haya sido eliminado en las heces, el tratamiento debe repetirse (García *et al.*, 2006).

## **1.5 Cisticercosis porcina**

### **1.5.1 Presentación y Signos Clínicos**

Los cerdos adquieren cisticercosis porcina al ingerir huevos de *Taenia solium* eliminados por el ser humano. Los cisticercos de *Taenia solium* se desarrollan en el tejido muscular, corazón, lengua y cerebro, sin embargo, usualmente no presentan signos clínicos (Singh *et al.*, 2013; Trevisan *et al.*, 2016). En ocasiones se ha visto el desarrollo de crisis epilépticas en cerdos con neurocisticercosis posterior a una infección experimental.

### **1.5.2 Diagnóstico**

El método más empleado en animales vivos es la examinación de la lengua mediante palpación en búsqueda de quistes. Con ayuda de una vara de madera o una cuerda se mantiene la boca del cerdo abierta, permitiendo extraer la lengua y examinarla (Singh *et al.*, 2013). Sin embargo, el método es considerado de tener una baja sensibilidad, detectando solo el 11% de animales infectados en un estudio (Chembensofu *et al.*, 2017).

En el proceso de faenamiento, se realiza la inspección de la carne para determinar la presencia de quistes. Se considera la disección de carcasas como la prueba “gold standard” para determinar la infección de un animal (Chembensofu *et al.*, 2017). Sin embargo, los quistes no siempre se llegan a visualizar, ya que no se puede realizar muchos cortes a la carne destinada al consumo humano (Garcia *et al.*, 2010).



**Figura 5.** Cisticercos extraídos de músculos de cerdos. El punto blanco en cada uno indica la presencia del escólex

### ***1.5.3 Tratamiento***

El oxfendazol es el antiparasitario de elección para el tratamiento contra la cisticercosis porcina, empleándose una sola dosis de 30 mg/kg (Garcia *et al.*, 2010). Al usar esta droga, se recomienda un tiempo de espera de al menos 17 días entre el final del tratamiento y el consumo de la carne por el ser humano debido al efecto residual (Moreno *et al.*, 2012).

Un estudio en Tanzania comparó el uso de ivermectina (0.3mg/kg) y oxfendazol (30 mg/kg) en cerdos con presencia de cisticercosis. Posteriormente se realizó la necropsia de los cerdos a las cuatro y doce semanas post tratamiento, demostrándose que el tratamiento con oxfendazol fue el más efectivo, y los quistes encontrados en los músculos, lengua y corazón se hallaron calcificados (Mkupasi *et al.*, 2013). Es importante tener en consideración además que el tiempo para eliminar los quistes depende de la carga parasitaria de cada cerdo al momento del tratamiento (Gilman *et al.*, 2012).

También se menciona el uso de otras drogas como flubendazol, albendazol y praziquantel para el tratamiento de cisticercosis porcina, pero requieren múltiples dosis (Gilman *et al.*, 2012).

## 1.6 Neurocisticercosis

### 1.6.1 Presentación

En las personas, después de la ingestión de los huevos, las oncósferas son liberadas por el contacto con el ácido gástrico y fluidos intestinales. Luego, estas oncósferas atraviesan la pared intestinal, ingresando al torrente sanguíneo, para enquistarse como cisticercos en los músculos y otros tejidos (García *et al.*, 2003). Los quistes o cisticercos localizados en el SNC logran evadir la respuesta inmune del hospedador ya que cruzan la barrera hematoencefálica (García *et al.*, 2014). En el cuadro 1 se aprecia un resumen de la respuesta inmune del hospedador en NCC (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Efectores celulares y humorales claves asociados con NCC parenquimal y extraparenquimal (Prodjinotho *et al.*, 2020)

	<b>NCC Parenquimal</b>	<b>NCC Extraparenquimal</b>
Respuesta humoral	IgG1, IgG2, IgG4, IgE (Suero/plasma)	IgG, IgM, IgE (LCR) Complemento (CAA haplotipo C5)
Respuesta celular	Microglia/Macrófagos (SNC) Mastocitos (SNC) Neutrófilos/Eosinófilos (SNC) Células B/plasmáticas CD20 <sup>+</sup> (SNC) Células TCD8 <sup>+</sup> (SNC) Células NK (SNC) Treg CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> (periferia) Células dendríticas (periferia)	Macrófagos (SNC) Mastocitos (SNC) Neutrófilos Células B/plasmáticas (SNC) Células TCD8 <sup>+</sup> (SNC) Treg CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> (periferia) Células dendríticas (periferia)
Citoquinas	IL-4, IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ (QV) IL-1b, IL-2, IL-12, IL-4, IL-6, IL-13, IL-18, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ (QD) IL-4, IL-6, IL-10, TNF $\alpha$ (QC) Suero/Plasma/Parénquima cerebral	LCR: IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-6, IL-10, IL-12 (QV/QD/QC) Suero/Plasma: IL-4, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-10 (QV/QD/QC)
Manifestaciones principales	Epilepsia, edema perilesional, dolores de cabeza, déficits focales, deterioro cognitivo	Déficits focales, aracnoiditis, oclusión de arterias, hidrocefalia, hipertensión intracraneal, infartos cerebrales

CAA: haplotipo C5 complemento; QC: quiste calcificado; CD4/8/20/25: cluster de diferenciación 4/8/20/25; SNC: sistema nervioso central; LCR: líquido cefalorraquídeo; QD:

quiste en degeneración; IFN $\gamma$ : interferón gamma; IL: interleucina; NCC: neurocisticercosis; NK: natural killer; TGF- $\beta$ : factor de crecimiento transformante beta; TNF $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa; Treg: Células T reguladoras; QV: quiste vesicular.

Los quistes o cisticercos se dividen en cinco estadios: no quístico, vesicular, vesicular coloidal, nodular granular, y nodular calcificado. Cualquiera de estas cinco etapas se puede localizar en los lóbulos, y cerca del 50% de los pacientes presentan diversos estadios del quiste (Cuadro 2) (Kimura-Hayama *et al.*, 2010).

**Cuadro 2.** Hallazgos en Tomografía Computarizada y Resonancia Magnética en varias etapas de neurocisticercosis (Kimura-Hayama *et al.*, 2010)

<b>Etapas</b>	<b>Hallazgos TC</b>	<b>Hallazgos RM</b>
No quística	Usualmente invisible	Usualmente invisible
Vesicular*	Quistes de 10-20mm con atenuación de fluido; la pared del quiste es delgada y lisa; poco o inexistente edema periquístico o realce de contraste; el escólex se presenta como una estructura pequeña, redondeada, isoatenuada (agujero con apariencia de punto)	Intensidad de la señal del quiste similar a la del LCR en imágenes ponderadas en T1 y T2; la pared del quiste está bien definida y es delgada, con poco o nada de realce en imágenes con realce de gadolinio; el escólex (agujero con apariencia de punto); iso o hipointenso en relación a la materia blanca en imágenes ponderadas en T1; iso a hiperintenso en relación con la materia blanca en imágenes ponderadas en T2; se ven mejor en imágenes potenciadas en densidad de protones.
Vesicular coloidal <sup>a</sup>	El quiste puede hiperatenuarse, realce periquístico en imágenes con realce de contraste, se puede ver edema.	Contenido del quiste hiperintenso en imágenes ponderadas en T1 y T2 (fluido proteínico), pared del quiste es gruesa e hipointensa, edema periquístico (mejor observado en imágenes con atenuación de fluido invertido), realce periquístico en imágenes con realce de gadolinio.
Nodular granular	Similar a la etapa vesicular coloidal pero con más edema, realce en anillo más notorio.	Similar a la etapa vesicular coloidal pero con más edema, realce en anillo más notorio.
Nodular calcificado	Nódulos calcificados hiperatenuados, no edema, no realce.	Nódulos hipointensos, no edema, no realce.

\*En la neurocisticercosis racimosa, el escólex puede no verse.

<sup>a</sup>La llamada fase encefalítica de la neurocisticercosis.

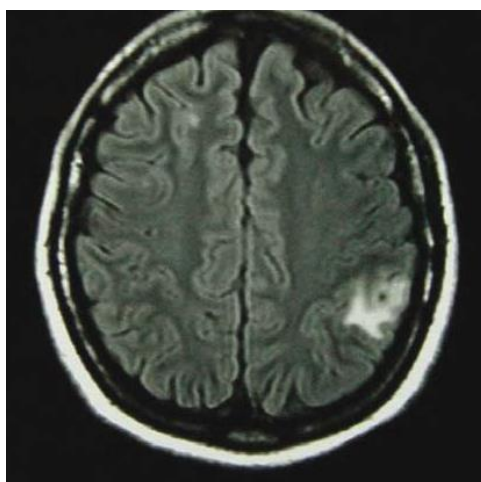
### 1.6.2 Signos clínicos

La neurocisticercosis se puede presentar con síntomas neurológicos generales, como crisis epilépticas, y hasta cisticercosis ocular causando alteraciones en la visión (García *et al.*, 2010). Pueden presentarse también déficits cognitivos y demencia (Nash y García, 2011).

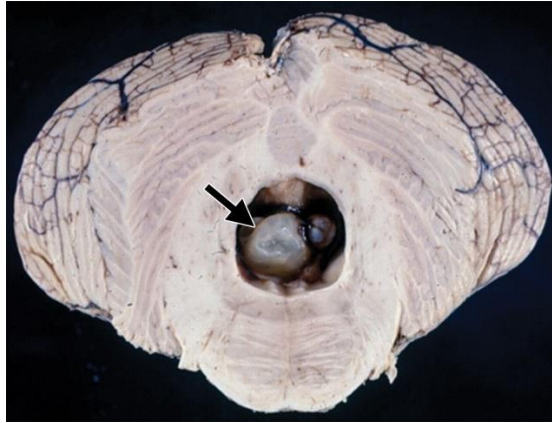
Respecto a las formas de presentación en base a su ubicación, la NCC parenquimal (70%) se considera como la más común (García *et al.*, 2006). Las manifestaciones principales son las crisis epilépticas, seguidas de las disfunciones neurológicas focales y la hipertensión intracraneal (Tang *et al.*, 2019).

A diferencia de la NCC parenquimal, la extraparenquimal es reportada con menos frecuencia (30%) y se divide en intraventricular y subaracnoidea (Figura 7 y Figura 8) (García *et al.*, 2006; Nash y García, 2011). La intraventricular se da cuando los quistes se alojan en los ventrículos desarrollando una obstrucción mecánica, que genera vómitos, náuseas, cefalea y vértigo (Nash y García, 2011); mientras que la subaracnoidea causa aracnoiditis, hidrocefalia obstructiva o hasta un accidente cerebrovascular (Tale *et al.*, 2017).

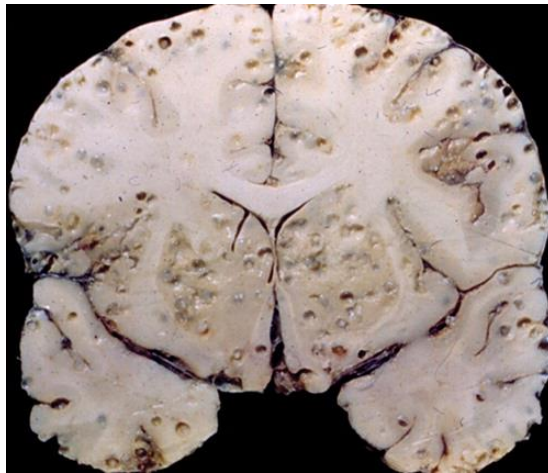
Las personas generalmente manifiestan crisis epilépticas después de cinco años de instalado los quistes en el SNC. Las crisis epilépticas se producen por el reconocimiento del sistema inmune contra los quistes, generando una inflamación perilesional. Posterior a ello, se da la degeneración y calcificación del quiste. Sin embargo, se reporta aún crisis epilépticas en pacientes con quistes calcificados (García *et al.*, 2006, 2014; Moyano *et al.*, 2016).



**Figura 6.** Cisticercosis cerebral calcificada vieja que muestra una amplia área de edema perilesional tres días después de un episodio convulsivo (IMR sin contraste, protocolo FLAIR) (García *et al.*, 2006)



**Figura 7.** Fotografía de un espécimen patológico que muestra neurocisticercosis intraventricular (flecha) (Kimura-Hayama *et al.*, 2010)



**Figura 8.** Fotografía de un espécimen patológico que muestra neurocisticercosis subaracnoidea-parenquimal (Kimura-Hayama *et al.*, 2010)

Aparte del sistema nervioso u ocular, la cisticercosis “extraneural” es principalmente asintomática, pudiéndose notar en el tejido muscular y subcutáneo a manera de nódulos móviles pequeños (García *et al.*, 2010; Tale *et al.*, 2017).

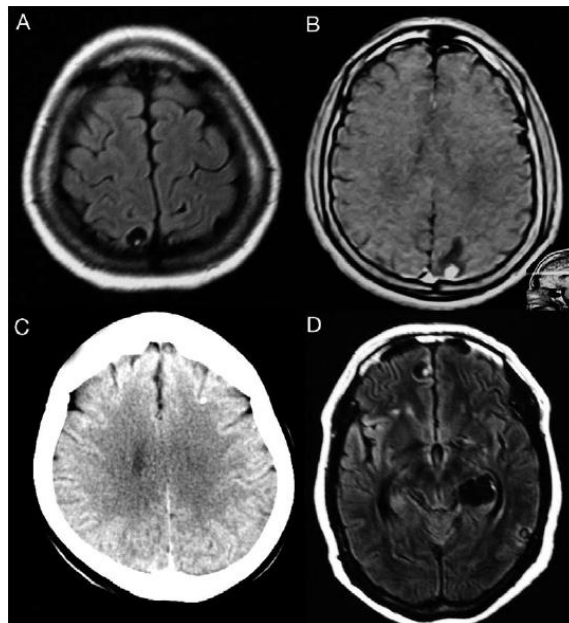
La encefalitis por cisticercosis es una presentación rara, representando solo el 0,3% de todas las neurocisticercosis, caracterizada por quistes parenquimatosos multifocales, inflamación perilesional y edema cerebral difuso (Tale *et al.*, 2017).



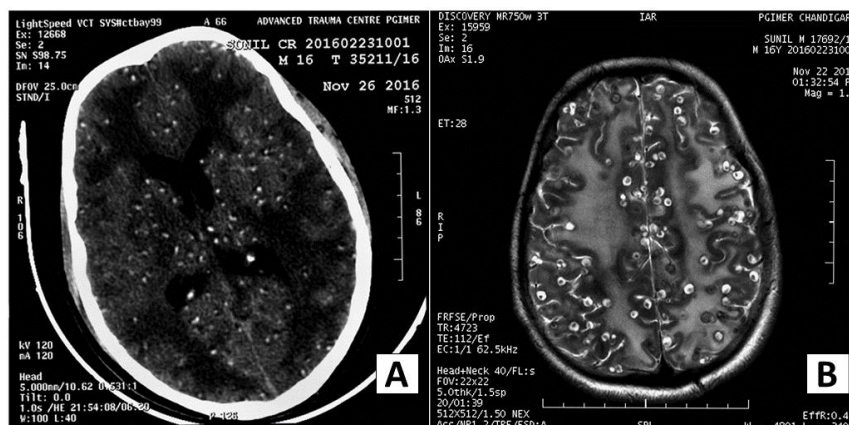
### 1.6.3 Diagnóstico

El diagnóstico de NCC se basa en una serie de factores que incluye los síntomas neurológicos, el vivir o haber viajado a zonas endémicas, la prueba de Western Blot e imágenes por tomografía computarizada (TC) o resonancia magnética (RM) (García *et al.*, 2006). Se ha desarrollado la técnica de ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) para el diagnóstico de antígenos o anticuerpos en suero o líquido cefalorraquídeo. Sin embargo, la prueba más sensible para la detección de anticuerpos es la técnica de Western Blot (García *et al.*, 2018).

En la imagenología, se requiere de un diagnóstico diferencial que incluye tuberculosis, tumores, metástasis y abscesos (García *et al.*, 2006) (Figura 9). La elección entre TC y RM depende de la localización y el estadio de la enfermedad (Kimura-Hayama *et al.*, 2010). La TC se emplea con mayor frecuencia para la detección de quistes calcificados y la RM para los quistes viables (García *et al.*, 2006) (Figura 10).



**Figura 9.** Diferentes estadios de neurocisticercosis como se visualizan en neuroimagenología. (A) Quistes viable con escólex (IMR, protocolo FLAIR); (B) quiste en degeneración (IMR, protocolo FLAIR); (C) quistes calcificados (TAC sin contraste); y (D) cisticercosis basal subaracnoidea (racemosa) (IMR, protocolo FLAIR) (García *et al.*, 2006)



**Figura 10.** Paciente de 16 años con fiebre alteración del sensorio de 3 días de duración con historial de convulsiones en el pasado. (A) Tomografía computarizada sin contraste mostrando lesiones calcificadas intraparenquimales e intraventriculares de neurocisticercosis en cerebro, resultando en apariencia de “noche estrellada”. (B) Resonancia magnética con realce de contraste mostrando múltiples lesiones quísticas focales en el cerebro con un escólex excéntrico típico de neurocisticercosis (Tale *et al.*, 2017).

#### 1.6.4 Tratamiento

El tratamiento involucra un manejo tanto sintomático como antiparasitario del paciente de forma individual (García *et al.*, 2014). El tratamiento sintomático busca controlar las crisis epilépticas o la hipertensión endocraneal, mientras que el tratamiento antiparasitario va a depender del estadio, número, tamaño y ubicación de los cisticercos para evitar una reacción inflamatoria que pueda comprometer la vida del paciente. (García *et al.*, 2006).

Se emplea como terapia antiquística al albendazol a 15 mg/kg/d por una a dos semanas o praziquantel a 50 mg/kg/d dividida por dos semanas, usualmente con esteroides (García *et al.*, 2010). Los efectos adversos del albendazol es toxicidad hepática leve, síntomas gastrointestinales y supresión de la médula ósea; mientras que el praziquantel puede causar dolor abdominal, calambres, diarrea, mareos, somnolencia, fiebre, dolores de cabeza, sudoración, anorexia, malestar, náuseas, vómitos, y en ciertos casos, reacciones alérgicas (García *et al.*, 2006).

Cuando el paciente presenta encefalitis, el tratamiento incluye el uso de corticoides como la prednisona o la dexametasona a 1 mg/kg/día y 0.1 mg/kg/día, respectivamente, durante 5 a 10 días con un retiro de forma gradual (Tale *et al.*, 2017). Las drogas antiepilépticas frecuentemente empleadas son la carbamazepina y la fenitoína (White *et al.*, 2018).

El tratamiento quirúrgico es muy poco empleado para controlar la epilepsia, limitándose para la mejora de la hidrocefalia, las lesiones de gran tamaño, hipertensión intracraneal y la cisticercosis intraventricular (Singh y Chowdhury, 2014). La técnica de elección empleada es la derivación ventrículo-peritoneal, sin embargo, se pueden obstruir, y en el 50% de los casos

pueden ocasionar la muerte, especialmente dentro de los primeros 2 años después de haber sido colocadas (Garcia *et al.*, 2006).

### **1.7 Epidemiología**

La cisticercosis, tanto humana como porcina, afecta a la salud y economía de los países en desarrollo. Esta enfermedad parasítica es importante debido a la gran incidencia de casos de NCC en hospitales neurológicos. Se reporta que uno de cada diez pacientes con signos neurológicos es por NCC y que es responsable de uno de cada dos diagnósticos de epilepsia de inicio tardío. Por otro lado, la cisticercosis en músculo esquelético en cerdos disminuye el valor de la carne y es causa de decomiso de la carne en los camales (Sciutto *et al.*, 1995; Flisser y Lightowlers, 2001; Garcia *et al.*, 2006).

La cisticercosis porcina afecta a los pequeños productores que mantienen una crianza de traspatio, permitiendo el contacto con las heces de personas teniásicas (Rojas-Rivera, 2021). Además, el hecho de decomisar la carne infectada lleva a que los productores realicen el sacrificio de los animales en camales locales o en sus hogares, evitando la inspección de las carnes parte de las autoridades de la salud (Carhuallanqui *et al.*, 2010).

La falta de educación sanitaria es un factor importante ya que permite el mantenimiento del ciclo biológico del parásito, reportándose casos de NCC, teniasis y cisticercosis porcina. Además, estas patologías se reportan en las zonas rurales, por lo que los productores no realizan gastos en tratamiento antiparasitario ni servicios de un Médico Veterinario (Sciutto *et al.*, 1995; Garcia *et al.*, 2006).

#### **1.7.1 Contexto Internacional**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta que entre 2.56 y 8.3 millones de personas sufren de neurocisticercosis en el mundo, y se cree que en los países endémicos, este parásito es el causante del 30% de los casos de epilepsia (OMS, 2021).

La prevalencia de la cisticercosis porcina es extremadamente variable pasando de ser desde menos del 2% hasta más del 75% (Pawlowski *et al.*, 2005). En los países musulmanes se considera casi ausente debido a factores culturales (Bouteille, 2014). Mientras que en Nepal se ha llegado a reportar que el 18.5% de pacientes con NCC son vegetarianos, mientras que solo el 4.5% de los pacientes no vegetarianos con NCC consumen carne de cerdo. del 21.5%, resaltando las características inusuales de la enfermedad en este territorio (Khanal y Shrestha, 2019).

La Península Ibérica se considera un área endémica, especialmente en el norte de Portugal y el oeste de España, y a pesar de ser raros, los casos en Europa no han desaparecido (Garcia *et*

*al.*, 2006; Bouteille, 2014). Una revisión de casos de cisticercosis y teniasis humanas, entre 1990 y 2011, mencionó que de los 846 casos de cisticercosis 522 fueron autóctonos (70,1% de Portugal) y 324 importados (incluidos el 17,6% entre viajeros y el 74,7% entre los migrantes). La mayoría de los casos importados provinieron de América Latina (69.8% de migrantes y 44.0% de viajeros). La mayoría de estos casos fueron diagnosticados en España (47,5%), Francia (16,7%) e Italia (8,3%) (Zammarchi *et al.*, 2013)

Respecto a Estados Unidos, los casos autóctonos simbolizan cerca del 5% de los pacientes con NCC, reportándose un total de cinco mil casos (Bouteille, 2014). Además, se menciona que el aumento de casos de NCC durante las décadas de 1980 y 1990 se atribuyó principalmente a la inmigración masiva de personas de América Latina, ya que se reportaron casos en una comunidad judía ortodoxa de Nueva York e identificaron como fuente de infección a los empleados inmigrantes (Bouteille, 2014).

En Latinoamérica, África y Asia se detecta en la población anticuerpos contra cisticercos hasta en un 15%, apreciándose la poca efectividad de las medidas sanitarias comparadas con los países de “primer mundo” que han logrado una reducción considerable o eliminación de la enfermedad (Flisser y Lightowers, 2001; Gonzalez *et. al*, 2005).

En los países endémicos, entre el 10-20% de la población poseen calcificaciones cerebrales sin presentar signos neurológicos lo que indica que las personas tienen quistes en el cerebro sin saberlo (Garcia *et al.*, 2006).

En la India, recientemente se apreció que 28.12% de los pacientes epilépticos en Odisha presentaban anticuerpos anti-cisticercos (Sahu *et al.*, 2015). Además, la mayoría de los casos de NCC en la India son por la presencia de un quiste en el tejido cerebral, que al generar una crisis epiléptica se observa un anillo alrededor de la lesión detectada por TC con contraste (Garcia *et al.*, 2006). Por otro lado, los casos cisticercosis porcina se presentan en una prevalencia estimada de 3.7% (Singh *et al.*, 2018).

En China, se menciona que la prevalencia de teniasis rodea el 2.5% y que existe una seroprevalencia del 2.3% a 15.6% de cisticercosis humana en escuelas de Sechuan (Li *et al.*, 2019). La cisticercosis porcina también se encuentra presente, en porcentajes que van desde el 3.7 al 12.1% (Li *et al.*, 2007).

En África, la prevalencia de NCC en pacientes con epilepsia es de 22%, con la mayoría de los casos en las zonas sur y este (45% y 25%, respectivamente) (Owolabi *et al.*, 2020). Por otro lado, Nigeria presente una prevalencia serológica de cisticercosis humana del 14.3% (Edia-

Asuke *et al.*, 2015) y Burkina Faso posee una de las prevalencias más altas de cisticercosis porcina con 39.6% (Melki *et al.*, 2018).

La cisticercosis es un problema reportado en América Latina, estimándose que 75 millones de personas están en riesgo de cisticercosis y teniasis, de las cuales 400.000 padecen de las enfermedades de forma sintomática (García *et al.*, 2006).

Los estudios de seroprevalencia humana permiten determinar la producción de anticuerpos contra el antígeno. Basándose en esta situación, se han observado diferentes porcentajes sobre la exposición a huevos tipo *Taenia* en los siguientes países: Colombia (rango de 1.8-2.2%), Brasil (3.0-5.6%), México (1.3-10%), Perú (7.1-26.9%), Honduras (15.6-17%), Ecuador (2,6-14,3%), Guatemala (10-17%), Bolivia (22%) y Venezuela (4-36,5%) (Pawlowski *et al.*, 2005).

Además, la carne de cerdo se considera el tipo de carne más consumida a nivel mundial representando el principal ingreso económico para los productores de granjas tecnificadas y de traspatio (Adesokan y Adeoye, 2019). Sin embargo, en la crianza de traspatio, la posibilidad de infección por *Taenia solium* aumenta por factores como la falta de educación sanitaria, de los servicios básicos de agua potable y desagüe y la falta de letrinas que permiten el acceso de heces infectadas con huevos del parásito hacia el cerdo (Adesokan y Adeoye, 2019; Cortez *et al.*, 2020).

En el matadero municipal Bodija en Ibadan, Nigeria, se reportó 4.4% de carcasas porcinas con cisticercos y por ello se realizó una encuesta a los trabajadores del camal relacionada a los factores de riesgo y patologías por *Taenia solium*. El 39% de los encuestados no tenían facilidades de inodoro en casa, solo 17.5% había notado la presencia de quistes en las carcasas previamente, el 4.7% poseían buen conocimiento de la cisticercosis porcina, y ninguno de los encuestados conocía la importancia del lavado de manos y desparasitación periódica. Además, como compradores, el 73% de los encuestados reportó que adquieren carne de cerdo de mercados donde no hay una supervisión veterinaria (Adesokan y Adeoye, 2019).

En México, la prevalencia del parásito varía de 0 al 33,3% y la transmisión todavía parece estar activa en las zonas rurales (Bouteille, 2014). En la comunidad rural de Tepetzintla, en Puebla, México, de 26 casas testeadas a lo largo de las cuatro estaciones del año, se apreció que el 25.3% de las muestras de suelo de los hogares presentaron huevos de *Taenia spp.* y la frecuencia de teniasis fue del 2.7%. Del total de las casas evaluadas, 14 de 115 de personas fueron positivas a NCC (Huerta *et al.*, 2008).

Un estudio reciente en Venezuela demostró altos niveles de geohelminiasis y logró detectar a portadores de tenia en familias que criaban cerdos en libertad o alrededor de sus casas.

Además, muchos comentaron haber consumido carne de cerdo infectada, a la cual llamaban “frutica”, e inclusive mencionaron haber visto proglótides en sus propias heces (Cortez *et al.*, 2020).

### 1.7.2 Contexto Nacional

La teniasis se encuentra cerca del 0,5% a 1% de la población peruana en zonas endémicas, siendo los jóvenes, mujeres embarazadas y ancianos los que reportan la mayoría de los casos (García *et al.*, 2010). Así, un estudio realizado en Piura y Cajamarca halló una prevalencia total de teniasis del 1.5% mediante el análisis de heces por PCR (Watts *et al.*, 2014).

La posterior introducción de la técnica de Western Blot (EITB) confirmó el rol que posee la NCC como causa de epilepsia en las zonas endémicas (Figura 11). En el Perú, las zonas endémicas con mayor frecuencia de NCC son la sierra, la costa norte y la selva alta (García *et al.*, 2010).



**Figura 11.** Mapa que muestra las principales áreas endémicas para teniasis/cisticercosis por *Taenia solium* en el Perú (García *et al.*, 2010)

En el 2005, un estudio concluyó que la NCC era un factor de riesgo en el 30% de los síndromes epilépticos en Tumbes, seguida de regiones como Apurímac (4-28%), Junín (7-25%), Cusco (13-24%) y Piura (7-8%) (Cordero *et al.*, 2010). Un estudio sobre la seroprevalencia de cisticercosis en Ancash menciona un porcentaje de 5.7% mediante EITB (Carbajal y Jara, 2014). También se ha reportado un caso de cisticercosis diseminada proveniente de Junín, zona endémica, en un paciente con antecedentes de convulsiones (Maquera-Afaray *et al.*, 2014).

En Tumbes, un estudio reportó quistes calcificados en el cerebro en uno de cada cinco adultos con NCC, dando un estimado de 18.8% de prevalencia (Moyano *et al.*, 2016). Este estudio indicó, además, que existe una exposición continua al parásito que aumenta el riesgo de adquirir la enfermedad. También, cuando se evaluó la presencia de letrina, esta se relacionó con la disminución del riesgo de desarrollar NCC. A pesar de que se les ofreció una evaluación médica, cerca de la mitad de las personas con síntomas se negaron a ser revisados por el médico neurólogo debido a razones religiosas (Moyano *et al.*, 2016).

Otro estudio realizado en residentes de Ayacucho y Lima, reportó los siguientes niveles de seroprevalencia de cisticercosis mediante EITB: 2% en el grupo urbano, 13.5% en el grupo migrante (Ayacucho a Lima), y 18% en el grupo rural; mencionando que no solo la migración internacional modifica los casos de cisticercosis, sino que las migraciones internas de un área endémica a una no endémica, también lo hacen (Gonzales *et al.*, 2015).

Un estudio en Jauja, Junín, encuestó a la población sobre el nivel de conocimiento que poseían sobre la cisticercosis humana y porcina, donde todos los participantes mencionaron conocerla y muchos de ellos (80%) afirmaron haber visto quistes en carne. Sin embargo, solamente el 15% de las personas conocía el ciclo biológico del parásito, a pesar de que el 40% del total de los encuestados mencionó tener familiares con diagnóstico de neurocisticercosis (Puerta *et al.*, 2020).

En Tumbes se presentó una seroprevalencia porcina del 45% en caseríos locales de la provincia de Tumbes (García *et al.*, 2011). Una prevalencia similar se presentó al evaluarse caseríos de Zarumilla, Tumbes, donde la cisticercosis porcina distribuida se detectó en porcentajes de 16% hasta 41% mediante EITB (Taico *et al.*, 2003).

En la provincia de Tambopata, Madre de Dios, un estudio reportó una frecuencia de cisticercosis porcina del 16.6% mediante EITB, donde solamente siete de los 16 animales positivos se alimentaban a base de alimento concentrado, en comparación con el resto de los animales, que consumían desperdicios de restaurantes cercanos (Rojas-Rivera, 2021).

### **1.8 Prevención y control**

La cisticercosis se considera como erradicable por poseer un solo hospedador definitivo y un hospedador intermediario. Hay tratamientos antiparasitarios para la teniasis humana (Okello y Thomas, 2018) y también existe un tratamiento contra la cisticercosis porcina mediante el uso del oxfendazol (Gilman *et al.*, 2012). Además, NCC también emplea otros antiparasitarios más antiinflamatorios para reducir el desarrollo de crisis epilépticas (Nash *et al.*, 2011).

En el caso de los animales, también se ha desarrollado una vacuna por la empresa Cysvax® cuyo uso principal se ha visto por la vía intramuscular (Poudel *et al.*, 2019; Kabululu *et al.*, 2020) y es distribuida principalmente en Asia (Martínez J, 2018). Además, existen tratamientos efectivos contra las formas parasitarias en el animal (García *et al.*, 2010).

### ***1.8.1 Control en animales***

En los camales se realiza la inspección de la carne mediante la visualización de quistes para posteriormente sean decomisados por la entidad sanitaria. Sin embargo, el control en camales es un método que no ha mostrado resultados ya que se realiza el sacrificio de los animales en el hogar del propietario y son comercializados en mercados informales a menor precio. (The Cysticercosis Working Group in Peru, 1993; Carhuallanqui *et al.*, 2010).

En Huancayo, a través de la inspección de lengua en cerdos de un mercado informal, se reportó que cerca del 15% de los cerdos comercializados estaban infectados. Además, los compradores mencionaban que buscaban cicatrices en lengua debido a que los comerciantes solían extraer los quistes de esta zona para no disminuir el precio de venta (The Cysticercosis Working Group in Peru, 1993).

En dos distritos de Sudáfrica con alta prevalencia en cisticercosis porcina se realizó la inspección de la carne como en músculos maseteros, músculo triceps, lengua, corazón y diafragma. Se procedió a realizar la disección del tejido muscular y se demostró la poca efectividad en la detección de cerdos infectados durante la inspección rutinaria de carne en mataderos (Sithole *et al.*, 2019).

Un estudio realizado en el norte del Perú comparó protocolos de eliminación de *Taenia solium*, organizado en tres fases. La primera fase consistió en la detección humana y porcina, tratamiento antiparasítico, educación de la población y reemplazo de porcinos. La segunda fase consistió en tratamiento y diagnósticos masivos. La tercera fase, finalmente involucró la quimioterapia masiva con niclosamida en humanos y con oxfendazol en cerdos, en combinación con la vacunación porcina. Al final del estudio, hubo una reducción de la prevalencia de cisticercosis porcina, sin embargo, se detectaron 3 animales con quistes viables (García *et al.*, 2016).

En el caso de antiparasitarios, una sola dosis de 30mg/kg de oxfendazol por la vía oral ha demostrado ser efectiva en la eliminación de quistes de *T. solium* en los músculos de cerdos infectados (Gilman *et al.*, 2012). Sin embargo, pese a ser el tratamiento recomendado por la OMS, el tiempo entre la terapia con la droga y la desaparición completa de remanentes de quistes requiere de tres meses para que la carne este completamente sin quistes. Esto podría llevar a la



reinfección durante el tiempo de eliminación del quiste si no se realiza un bloqueo en el acceso de heces contaminadas con huevo de *T. solium* en los animales (Gilman *et al.*, 2012; Mkupasi *et al.*, 2013).

Un estudio en Mozambique evaluó el empleo del antiparasitario en cerdos de dos grupos etarios diferentes (4 y 9 meses de edad, respectivamente), que al cumplir los doce meses fueron sacrificados al azar para realizar la inspección de quistes. En el grupo que recibió el tratamiento a los nueve meses, el 9.1% de los animales permanecía infectado y se concluye que el tratamiento con oxfendazol podría poseer un efecto aproximado de 3 meses (Pondja *et al.*, 2012).

En Nepal evaluaron el uso de la vacuna y el oxfendazol para la eliminación de los quistes en cerdos. Consistió en cuatro intervenciones separadas entre ellas por tres meses. Durante la necropsia, no hallaron quistes en los cerdos tratados, y mencionaron que el tratamiento únicamente con Oxfendazol solo puede tratar quistes ya existentes, por lo que no funciona como herramienta preventiva por sí solo (Poudel *et al.*, 2019).

No obstante, la venta de este antiparasitario en el Perú se da en presentaciones que poseen concentraciones del 10% o menos, las cuales no permiten eliminar completamente todos los quistes. Para equilibrar esto, se emplea una mayor dosis de oxfendazol, arriesgando la vida de los cerdos debido al aumento de problemas por aspiración del medicamento, por lo que es necesario buscar otras alternativas para el control y prevención de la cisticercosis porcina (Arroyo *et al.*, 2021).

### **1.8.2 Tratamiento de la población humana**

Un estudio considera el tratamiento masivo con praziquantel a una sola dosis de 10mg/kg es efectivo para reducir el índice de teniasis de forma temporal, siempre y cuando los pacientes no tengan el diagnóstico por NCC (Haby *et al.*, 2020) ya que, el tratamiento con praziquantel puede desencadenar crisis epilépticas en pacientes asintomáticos de NCC. Por ello, la niclosamida se considera una alternativa ya que requiere de una única dosis, no cruza la barrera hematoencefálica como praziquantel y con menos efectos secundarios (dolor abdominal, diarrea y náuseas) (García *et al.*, 2010; Quispe *et al.*, 2015). Lamentablemente, ninguna de las dos drogas se encuentra a tan fácil alcance de muchos países endémicos por precio y acceso en farmacias (García *et al.*, 2010).

El tratamiento con antihelmínticos contra la teniasis no ha mostrado resultados favorables para el control de la transmisión del parásito, atribuyéndose esto a que, a pesar de lograr un

tratamiento efectivo, el parásito permanece en los cerdos como una fuente de contagio a futuro (Gonzalez *et al.*, 2005).

Desde hace muchos años se busca controlar la teniasis/cisticercosis mediante el tratamiento masivo de las personas. Sin embargo, se ha apreciado un éxito limitado de estos, tendiendo a ser temporales y centrarse en una sola área geográfica. Por estas razones, la vacunación en cerdos es considerada por muchos como la mejor estrategia de control a largo plazo (Garcia *et al.*, 2006, 2010).

### **1.8.3 Educación en salud**

La implementación de un programa de salud como charlas educativas sobre el ciclo biológico, el uso de letrinas y el correcto lavado de manos y alimentos provisto por un personal entrenado puede otorgar resultados favorables al ser empleada con otros métodos de control, como la identificación y tratamiento de portadores. (Flisser y Lightowers, 2001; Garcia *et al.*, 2010).

En un estudio en el sur de la India realizado con estudiantes de secundaria, la comunidad en general y criadores de cerdos, aplicaron una encuesta inicial que mostró la falta de conocimiento sobre la teniasis y cisticercosis. Solo el 21% conocía que comer carne de cerdo infectada conllevaba a la teniasis, mientras que solo el 19% había escuchado sobre NCC. La encuesta realizada después de las charlas educacionales mostró una gran mejora, obteniéndose que el 46% tenía conocimiento sobre la teniasis y cisticercosis en comparación con la primera encuesta (Alexander *et al.*, 2012).

Por otro lado, un estudio en la comunidad altoandina de Queropalca, en Huanuco - Perú, ejecutaron un plan educativo mediante charlas, capacitaciones a docentes, volantes, teatros callejeros y demás, durante un período de seis meses. Se aplicaron cuestionarios antes y después de la intervención. Al finalizar el tiempo establecido, se observó que el 66.2% de la población demostraba un nivel de conocimiento alto sobre la teniasis y la cisticercosis (Palacios-Flores y Borneo-Cantalicio, 2008).

Otro estudio en el norte de Perú realizó intervenciones buscando promover la vigilancia por parte de la comunidad, mediante la publicidad por radio y la educación escolar y familiar; además, posteriormente se trató en base a los reportes de la población. Por otro lado, en un grupo de aldeas control se dio una intervención en educación en salud menor y sin tratamiento de reportes. Al finalizar el estudio, luego de 12 meses, no se apreció una diferencia entre el antes y

después en la población intervenida (la cual reportó solamente 14 casos en total), y tampoco se vio una diferencia entre esta y la población control (Beam *et al.*, 2018).

### 1.9 Vacunación contra cisticercosis

Los cerdos, al ser el hospedero intermediario obligatorio de *Taenia solium*, ofrecen una posibilidad de intervención para bloquear la transmisión del patógeno mediante la vacunación, y así eliminar la fuente de infección para la teniasis en el ser humano (Sciutto *et al.*, 1995; Flisser *et al.*, 2004).

Para la elaboración de vacunas contra la cisticercosis porcina se podría emplear huevos de *T. solium* e inactivarlos, sin embargo, es difícil conseguir una concentración de huevos de *T. solium*, principalmente porque la niclosamida o praziquantel causan la destrucción de proglótidos (Flisser y Lightowlers, 2001; Verástegui *et al.*, 2000).

Para determinar la protección de la vacunación en cerdos, se han empleado diversos antígenos a lo largo de los años en distintos estudios. Estos estudios establecieron que los antígenos vacunales más prometedores son los que derivan del estadio infectivo presente en los huevos de *T. solium* maduros, que viene a ser la oncósfera (Flisser y Lightowlers, 2001; Lightowlers, 2010).

A partir de *Taenia ovis* se identificaron tres antígenos protectores en la oncósfera, y sus homólogos (TSA18 y TSA9) son protectores contra de la infección con *Taenia saginata* en ganado bovino (Lightowlers *et al.*, 1996). Por ello, en *Taenia solium* también se analizó la secuencia genética que codifica las proteínas de oncósfera, siendo estas TSOL18 y TSOL45-1A, antígenos homólogos en *T. ovis* (To18 y To45W) y *T. saginata* (TSA18) (Gauci *et al.*, 1998; Gauci y Lightowlers, 2001).

Los antígenos protectores contra *Taenia solium* han sido expresados y purificados a partir de *Escherichia coli*. Estas vacunas recombinantes (TSOL18 y TSOL45), producidas como proteínas de fusión glutathione-S-transferase (GST), fueron encontradas de tener una alta eficacia (99%) en prevenir infecciones porcinas en ensayos experimentales (Gonzalez *et al.*, 2005; Garcia *et al.*, 2010).

En un estudio en México se empleó ADNc de TSOL18 y TSOL45-1A expresadas en *Escherichia coli*. Veinte cerdos de dos meses de edad fueron separados en cuatro grupos de cinco animales cada uno y se inmunizaron con diferentes antígenos. En el grupo control se aplicó 200 ug de proteína control (GST) y en los grupos experimentales se empleó diferentes combinaciones de antígenos (grupo 1: 200 ug de TSOL18, grupo 2: 200 ug de TSOL45-1A, y grupo 3: 200 ug de TSOL18 y TSOL45-1A, con 1 mg de Quil A como adyuvante). Una segunda inmunización idéntica

fue dada dos semanas después de la primera inyección. Tres semanas después de la segunda inyección, cada cerdo recibió un desafío con 40,000 huevos de *T. solium* colocados en una cápsula. Después de 10 semanas del desafío, se realizó el sacrificio de los animales y se inspeccionó el tejido muscular para determinar la presencia de cisticercos. Se halló que las vacunas TSOL18, TSOL45-1A y la que combina ambas, otorgaron una protección del 100%, 0% y 94.7%, respectivamente. Además, el análisis serológico indicó que los cerdos respondieron a ambas inmunizaciones de TSOL18 ya que produjeron IgG específica; mientras que aquellos vacunados con TSOL45-1A, no (Flisser *et al.*, 2004).

Otro estudio llevado a cabo en México realizó la inmunización con 200 ug TSOL18 y TSOL45-1A, además de dos grupos controles con seis cerdos cada uno. Uno de los grupos experimentales fue inmunizado con 200 ug de TSOL18 más 1 mg de QuilA y dos refuerzos a las 2 y 20 semanas, mientras que el otro grupo fue vacunado con 200ug de TSOL45-1A más 1mg de QuilA y refuerzo a las 2, 4 y 20 semanas. El desafío se dio una semana después de la última inmunización con 9,000 huevos de *T. solium*; y posterior a 14 semanas del desafío, se realizaron las necropsias. Se halló una sola lesión no viable en el grupo de cerdos vacunados con TSOL18, mientras que uno de los cerdos vacunados con TSOL45-1A presentó seis quistes degenerados; la protección fue del 99.5 y 97.1%, respectivamente (Flisser *et al.*, 2004).

Un tercer experimento se llevó a cabo en Camerún, emplearon cinco cerdos para el grupo control conformado y experimental. El grupo experimental recibió tres inmunizaciones con 200ug de TSOL18 más 1mg de QuilA, y otras dos dosis a las dos semanas y 6 meses después de la primera inmunización. A los seis días después de la última inmunización, los cerdos fueron desafiados por la vía oral con 5,000 huevos viables de *T. solium*. Al finalizar el experimento, se apreció que cuatro de los cinco cerdos control presentaron cisticercos, tres de estos tuvieron quistes no viables y uno tuvo casi todos los quistes viables. No se hallaron cisticercos en ninguno de los cerdos vacunados con TSOL18, por lo que se menciona una protección del 100% para esta vacuna experimental (Flisser *et al.*, 2004).

En Perú, un estudio fue llevado a cabo con cerdos de tres meses de edad, a los que se les aplicó ya sea la vacuna experimental de TSOL18 o TSOL45 empleando Quil A como adyuvante. En el grupo que recibió TSOL18, las dosis fueron aplicadas con 4 semanas de separación y en el caso del grupo inmunizado con TSOL45 recibió una dosis extra a las dos semanas posterior a la segunda inmunización. A los diez días de la última inmunización, todos los cerdos fueron desafiados oralmente con una proglótide grávida de *T. solium*. Doce semanas después del desafío, se realizó la necropsia en busca de cisticercos y su viabilidad. Entre los 8 animales inmunizados con TSOL18, ninguno reportó cisticercos viables, y solamente tres animales presentaron quistes

degenerados sumando un total de 4 quistes. En el caso de la TSOL45, tres animales no desarrollaron cisticercos, un animal presentó un quiste viable y degenerados y los cuatro restantes sólo tenían quistes degenerados. Estos resultados mostraron que las vacunas de TSOL18 y TSOL45 inducen un alto nivel de protección del 99.98% y 98.6% respectivamente (Gonzalez *et al.*, 2005).

En Camerún se realizó un ensayo de campo donde se adquirieron 240 animales entre las 2-3 semanas de edad y fueron distribuidos en distintos hogares. Cada hogar recibió un animal inmunizado y un animal control. Se emplearon dos dosis de TSOL18 con QuilA, con cuatro semanas de separación entre ellas. Los animales del grupo control recibieron únicamente oxfendazol y también el grupo experimental al momento de la segunda aplicación. Tres meses después de la segunda inmunización, el grupo experimental recibió una dosis más, y seis meses después se realizó la necropsia. Ningún animal del grupo experimental desarrolló quistes, a diferencia del grupo control que presentaron hasta 37000 quistes y sólo un animal de este grupo no desarrolló cisticercos (Assana *et al.*, 2010).

Un estudio en Tanzania demostró una eficacia del 100% al emplear una vacuna intramuscular de TSOL18 y el uso de oxfendazol (30 mg/kg) en 90 cerdos. Los 36 animales control sólo recibieron el antiparasitario. Ambos métodos fueron administrados cada cuatro meses, recibiendo los animales en total tres dosis de la vacuna y del antiparasitario. En el caso del grupo control recibieron tres dosis del antiparasitario. Al final se realizó la necropsia de algunos animales que pertenecían al estudio 70 días después del último tratamiento. Además, se comparó esta metodología con el tratamiento únicamente con oxfendazol, en el cual tres cerdos seguían infectados al final del estudio (Kabululu *et al.*, 2020). En Uganda, se llevó a cabo otro estudio similar combinando ambos métodos cada tres meses a lo largo de seis intervenciones, viéndose los mismos resultados (Nsadha *et al.*, 2021).

Estos estudios mencionados demuestran que una proteína de oncósfera particular, TSOL18, se identifica como el antígeno vacunal más efectivo contra la cisticercosis porcina (Lightowers *et al.*, 2010). Sin embargo, la vía intramuscular requiere de personal calificado para aplicarse, mientras que aquellas que puedan ser administradas por vía nasal permiten evitar el uso de agujas que causen dolor y además, son convenientes para programas de vacunación masivos (Calderon-Nieva *et al.*, 2017).

Además, en otros estudios han evaluado la protección de vacunas experimentales por la vía oral también con el fin de estimular la respuesta inmune de mucosas y también porque es la ruta de ingreso del parásito en infecciones naturalmente. La vacuna comestible experimental administrada por la vía oral, HP6 / TSOL18, elaborada con zanahoria produjo una reducción en

la carga parasitaria de cisticercos de *T. crassiceps* en murinos desafiados experimentalmente (Monreal-Escalante *et al.*, 2015); y posteriormente, otro estudio con la vacuna oral S3Pvac a partir de la papaya demostró tener una capacidad protectora contra la cisticercosis durante la experimentación en conejos para *T. pisiformis* (Hernández *et al.*, 2021).

Por otro lado, un estudio realizado por Hunter y colaboradores en el 2009 emplearon una primo vacunación contra el Virus de Inmunodeficiencia Humana por la vía intramuscular como impulso vacunal para mejorar la respuesta inmune en mucosas, seguida por un refuerzo en aerosol, resultando en una respuesta de anticuerpos fuerte en suero y mucosas.

## 2. *Vacunas vectorizadas*

Las vacunas recombinantes de péptido emplean agentes como cepas de *Escherichia coli* no patógenas para expresar antígenos heterólogos y purificar la proteína expresada, la cual posteriormente es aplicada en los animales y de esta forma, generar inmunidad solamente contra el péptido purificado (Tripathi y Shrivastava, 2018).

Por otro lado, las vacunas vectorizadas que emplean virus como vectores expresan antígenos heterólogos de distintos patógenos que son sintetizados dentro del animal de forma intracelular para así inducir una fuerte respuesta inmune. Además, su aplicación otorga inmunidad contra el antígeno insertado y el vector (Ura *et al.*, 2014).

### 2.1 *Virus de la enfermedad de Newcastle*

La enfermedad de Newcastle es causada por un virus de tipo ARN sentido negativo denominado como el virus de la enfermedad de Newcastle (VEN). La enfermedad es de distribución mundial en aves, y los seres humanos no son susceptibles a infecciones por este virus. Sin embargo, suele presentarse conjuntivitis en las personas cuando se exponen al virus por investigación en laboratorios de diagnóstico con pobres medidas de bioseguridad, o también en gallineros durante los procedimientos de vacunación. El frotar los ojos con las manos contaminadas por el virus lleva al desarrollo de conjuntivitis que suele resolverse sin emplear medicamentos (Miller y Afonso, 2011).

VEN es clasificada en cepas lentogénicas, mesogénicas, y velogénicas para las aves de corral en base a su virulencia. Esta virulencia está determinada principalmente por la secuencia de aminoácidos del sitio de escisión de la proteína de fusión (F), los cuales se expresan en diversos órganos afectados propiamente por las cepas altamente virulentas, más que en las de baja

virulencia. Las cepas lentogénicas son virus de baja virulencia (loNDV por sus siglas en inglés) y causan infecciones respiratorias o entéricas leves (Kong *et al.*, 2012).

Respecto a las cepas de virulencia intermedia son denominadas mesogénicas, ya que se manifiestan clínicamente como patógenos principalmente respiratorios y que no causan una alta mortalidad. Por otro lado, los aislamientos de VEN altamente virulentos que causan alta mortalidad se denominan velogénicos. Entonces, tanto las cepas mesogénicas y velogénicas son considerados como causantes de mortalidad en la producción aviar (Miller y Afonso, 2011; Kong *et al.*, 2012). Las cepas velogénicas se clasifican además como neurotrópicas o viscerotrópicas, según la manifestación clínica (las neurotrópicas producen signos respiratorios seguidos de parálisis, y las viscerotrópicas inducen lesiones hemorrágicas en tracto intestinal) (Miller y Afonso, 2011).

## **2.2 Morfología**

El virus de la enfermedad de Newcastle (VEN) es un virus de la especie *Avulavirus Aviar 1* (AAvV-1) del género *Orthoavulavirus* de la familia *Paramyxoviridae* (Maan *et al.*, 2019). El genoma del VEN es un ARN no segmentado, de polaridad negativa y de una sola cadena de 15,186 a 15,198 nucleótidos conteniendo seis unidades transcripcionales (3'-N-P-M-F-HN-L-5') (Kim y Samal, 2016).

Por microscopía electrónica, el VEN se observa como una partícula prácticamente esférica, pero también puede ser pleomórfica, con un diámetro de aproximadamente 100-500 nm, con formas filamentosas también presentes. Además, una doble membrana lipídica obtenida a partir de la célula hospedadora durante la gemación del virus. EL VEN codifica las siguientes proteínas: proteína de la nucleocápside (N), fosfoproteína (P), proteína de la matriz (M), proteína de fusión (F), proteína hemaglutinina-neuraminidasa (HN), proteína polimerasa larga (L) (Miller y Afonso, 2011; Kim y Samal, 2016).

Posee también una nucleocápside helicoidal de 18 nm compuesta por proteínas asociadas con ARN genómico. La membrana del virus tiene proyecciones en la superficie de unos ocho nanómetros, que representan las proteínas F y HN, está última siendo la responsable de la unión del virión al ácido siálico, mientras que la proteína F media la entrada del virus en la célula huésped mediante la fusión de la envoltura viral a la membrana plasmática (Kim y Samal, 2016).

## 2.2 *Uso en vacunas*

Las cepas lentogénicas LaSota y B1 son comúnmente utilizadas como vectores para vacunas debido a su seguridad. Las cepas mesogénicas y velogénicas no son usadas como vectores vacunales debido a que son virulentas en pollos. A pesar de esto, en un estudio experimental, la cepa mesogénica Beaudette C (BC) fue evaluada como un vector de vacuna en primates no humanos, replicando un título más alto e induciendo un nivel de respuesta de anticuerpos sustancialmente más elevada que la cepa LaSota, siendo el primer estudio en primates no humanos en demostrar la eficacia de ambas, dejándolas como posibilidad para su uso en vacunas futuras (Kim y Samal, 2016).

Como vacuna bivalente, la cepa LaSota fue usada para expresar la proteína VP2 del virus de la enfermedad infecciosa bursal, mostrando una protección del 90% contra ambos virus. Este éxito se presentó también con otros virus como contra el virus de la laringotraqueitis infecciosa y el virus de la bronquitis infecciosa (Kim y Samal, 2016).

El VEN posee diversas ventajas para su uso como vector vacunal, y sus cepas avirulentas son extremadamente seguras en especies tanto aviares como no aviares. Además, el VEN administrado por la ruta nasal induce una respuesta inmune muy fuerte, a nivel sistémica, como de mucosa (Kim y Samal, 2016).

Los virus de cadena negativa no segmentados (VCNN), entre ellos el VEN, tienen un número de características que los hace candidatos atractivos como vectores virales (DiNapoli *et al.*, 2007). Existen algunos VCNN que son antigénicamente distintos a los patógenos en otras especies, por lo que toda la población se consideraría susceptible a la infección y a la inmunización de forma satisfactoria. Además, el VEN comparte solo un bajo nivel de identidad de secuencia de aminoácidos con paramixovirus humanos conocidos y son antigénicamente distintos a los patógenos humanos y animales comunes, por lo que no se vería afectado por la inmunidad ya existente (DiNapoli *et al.*, 2007; Kim y Samal, 2016).

Es posible atenuar cada vector VCNN que expresa un antígeno protector viral extraño, y conseguir un equilibrio entre la atenuación y la inmunogenicidad para la población diana. Además, la mayoría de los VCNN pueden infectar eficazmente por la vía intranasal (IN) e inducir inmunoglobulina A local e inmunoglobulina G sistémica, y respuestas inmunitarias protectoras mediadas por células. Esto reforzaría el uso de vacunas intranasales sin necesidad de una aguja y además de forma rápida, facilitando la inmunización de animales. (Kim y Samal, 2016)



Entonces, el VEN tiene la habilidad de sintetizar al antígeno heterólogo de manera intracelular y de inducir respuestas inmunes sistémica y de mucosa, tanto humoral como celular. Por ello, VEN se encuentran disponible como vector empleando cepas lentogénicas como vacunas vivas sin representar algún peligro para la industria avícola (Khattar *et al.*, 2010; Miller y Afonso, 2011; Kim y Samal, 2016).

Entre otras de las características del vector, tenemos que se replica en el citoplasma y no se integra en el genoma de la célula hospedera, lo que evitaría las preocupaciones con relación a la transformación celular. Además, el intercambio de genes que involucra a estos virus se considera extremadamente raro y no se ha observado en la naturaleza, lo que indica que el uso de virus vacunales VCNN en poblaciones abiertas no representaría la amenaza de recombinación entre virus vacunales y virus circulantes. Es importante recalcar que esta falta de recombinación también terminaría contribuyendo a la estabilidad del gen extraño insertado (DiNapoli *et al.*, 2007; Kim y Samal, 2016).

Los VCNN codifican de 5 a 11 proteínas separadas y el VEN codifica solo ocho proteínas, mientras que los virus de ADN grandes, como los pox virus, codifican hasta 200. El expresar un número reducido de proteínas lo hace conveniente para reducir el gasto de energía y seguir sintetizando la proteína del antígeno heterólogo insertado, a diferencia de los virus de tipo ADN. A pesar de que la mayoría de los VCNN codifican una o dos proteínas que llegan a interferir con el sistema de interferón del hospedador, estas se pueden mutar o eliminar (DiNapoli *et al.*, 2007).

Los genomas de los VCNN consisten en genes que, en su mayor parte, no se superponen y se expresan como ARNm separados, lo que significa una organización genómica de fácil manipulación para la inserción y el mantenimiento estable de inserciones externas (DiNapoli *et al.*, 2007; Kim y Samal, 2016). Además de conocerse esta información sobre los virus de cadena negativa no segmentados, existen vacunas vectorizadas en VEN que ya han sido evaluadas en diversas especies animales como, por ejemplo: pollo, vacuno, ovino, felino, ratón, porcino y canino (Kim y Samal, 2016). En China se aprobó el uso comercial de una vacuna vectorizada que emplea el VEN para expresar el antígeno HA del virus de influenza aviar H5N1. Esta vacuna además es capaz de proteger contra el virus de la enfermedad de Newcastle e influenza aviar considerándose una vacuna bivalente (Hu *et al.*, 2020).

Un estudio evaluó una vacuna vectorizada que usó el VEN para expresar antígenos del virus Nipah. La inmunización consistió en aplicar la vacuna en ratones de 6 semanas de edad, por la vía intramuscular con un refuerzo posterior a las 4 semanas. También se emplearon lechones de 4 semanas de edad que fueron inoculados también por la vía intramuscular y 4 semanas después tuvieron un refuerzo. Al finalizar, el estudio destaca que la vacuna indujo la producción de

anticuerpos neutralizantes en ambos animales, siendo además de larga duración en cerdos (Kong *et al.*, 2012).

Igualmente, para el virus del Distemper Canino se usaron visones de 6 meses y se aplicaron 2 vacunas vectorizadas que expresaban la proteína H (Hemaglutinina) del virus, por la vía intramuscular. Dos semanas luego de la última vacunación, algunos animales fueron anestesiados y desafiados con el virus por vía intranasal. Al finalizar el estudio se vio que la vacuna indujo una producción significativa de anticuerpos en contra del virus del Distemper Canino. Tampoco se mostraron signos o reacciones adversas (Ge *et al.*, 2015).

Para evaluar una vacuna vectorizada contra el Herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1) se realizó una sola inoculación intranasal e intratraqueal en terneros con VEN expresando una glucoproteína heteróloga que provocó anticuerpos tanto en la inmunidad de mucosas y sistémica específicos para BHV-1. La protección contra el virus no fue completa y los animales llegaban a eliminarlo. Sin embargo, se asocian a estos resultados el hecho de haberse empleado una sola dosis y no múltiples, y a la expresión exclusiva de una sola glucoproteína (Khattar *et al.*, 2010).

También se realizaron estudios con la vacuna vectorizada contra la rabia canina, para lo que se emplearon ratones hembra de 4 semanas, gatos menores de 2 años y perros Beagle de 3 meses los cuales no poseían antecedentes de vacunación previa. Empleando la vía intramuscular, los perros y gatos recibieron 2 refuerzos a las 3 y 50 semanas de la primovacuna. Luego del desafío y observación, se apreció que el grupo vacunado no desarrolló signos, a diferencia de los animales del grupo control (Ge *et al.*, 2011).

Para el virus de la estomatitis vesicular, se realizó un estudio en ratones, empleándose dos rutas, la intranasal e intramuscular, probándose que por ninguna de las rutas se desarrolló reacciones adversas. Además, se demostró que la vacuna vectorizada podía inducir altos niveles de anticuerpos neutralizantes al momento del desafío con el virus (Zhang *et al.*, 2016).

En el caso del virus de la fiebre bovina efímera, se realizó la vacunación de ratones por vía intramuscular con dos dosis separadas por 3 semanas entre ambas; también se realizó vacunación en bovinos con el mismo esquema de vacunación. Se demostró que la vacuna vectorizada indujo altos niveles de anticuerpos neutralizantes en ambas especies, lo que probablemente significaría también en otorgar una buena protección en contra de la enfermedad (Zhang *et al.*, 2017).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### ***1. Lugar y periodo de ejecución del estudio***

El proyecto se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM), con un período de duración de cinco meses.

Los animales fueron trasladados a las instalaciones del laboratorio en un camión que permitía el pase del aire para la ventilación, tenía un techo para evitar la exposición directa con el sol o lluvia y además se realizó el traslado en las primeras horas del día para reducir el tiempo del transporte.

Cada box tenía dos focos infrarrojos para proporcionar calor a los animales. La disposición de agua y comida fue ad libitum y el aseo se realizó diariamente.

#### ***2. Material experimental***

##### ***2.1 Tamaño muestral***

Se emplearon 16 cerdos de dos meses de edad, provenientes de una granja tecnificada. El tamaño muestral se determinó bajo la consideración de que el 90% de los animales pertenecientes al grupo de vacuna (Martínez J., 2018) y 10% pertenecientes al grupo control no formaran quistes sanos (Flisser *et al.*, 2004), con un poder del 80% y nivel de confianza del 95%, dando como resultado un número de 6 animales en ambos grupos. Se agregaron dos animales a cada grupo a

forma de prevención ante algún posible problema o pérdida durante el tiempo de estudio, consiguiéndose así, 8 animales por grupo. El cálculo fue realizado con el programa EPIDAT 4.0.

## ***2.2 Diseño experimental***

Los animales se dividieron en dos grupos de ocho cerdos cada uno, siendo así un grupo control y otro grupo experimental con la candidata a vacuna. Se obtuvieron muestras de sangre previo al estudio para determinar la ausencia de anticuerpos contra cisticercosis porcina. Estas muestras fueron enviadas para su evaluación mediante la prueba de Western Blot a la Unidad de Cisticercosis-INCN (Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas).

La candidata a vacuna vectorizada experimental fue desarrollada y patentada por FARVET SAC empleando como vector una cepa no patógena del VEN. El vector contenía al antígeno recombinante de la oncósfera de *T. solium*, TSOL18.

La dosis empleada fue de  $1.6 \times 10^9$  pfu/ml tomándose como referencia el estudio previo que evaluó la producción de anticuerpos (Martínez A., 2018). El esquema de inmunización consistió en cuatro dosificaciones de la siguiente manera: el día 0 se aplicó por la vía intramuscular y nasal y los días 15 y 30 sólo se administraron por la vía nasal.

La inmunización por la vía nasal fue realizada administrando 0.5 ml de la candidata a vacuna vectorizada en cada fosa nasal con pipetas Pasteur. En la vía intramuscular se administró 1 ml de esta, y en el caso de los animales del grupo control sólo recibieron suero fisiológico.

La candidata a vacuna vectorizada a evaluar fue enviada desde Ica donde se encuentra las instalaciones de FARVET SAC en una caja de Tecnopor con geles refrigerantes. La candidata a vacuna fue enviada en tres tubos falcon de 50 ml conteniendo cada uno 30 ml de la candidata a vacuna experimental. A su llegada, los tubos falcon fueron congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su uso en los animales.

En cada día de la inmunización, un tubo falcón era descongelado y se trasladaba en una caja de Tecnopor con geles refrigerantes hasta los boxes. En la siguiente imagen se observa la administración de la candidata a vacuna por la vía nasal (Figura 12).



**Figura 12.** Sujeción e inmunización de un cerdo con la candidata a vacuna vectorizada empleando la vía nasal mediante el uso de una pipeta Pasteur

A los 15 días después de la última inmunización, se desafiaron los animales con una proglótide grávida de *T. solium* dentro de una porción muy pequeña de plátano recubierta con alimento seco administrada por la vía oral (Figura 13).

La Unidad de Cisticercosis-INCN (Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas) realiza diferentes estudios con respecto a *Taenia solium*. Cada vez que se llega a recuperar una tenia, se procede a dividir las proglótides entre los distintos laboratorios que son parte del Grupo de trabajo de cisticercosis en Perú. Con respecto a la morfología de la tenia, las últimas proglótides son las que se encuentran en estadios grávidos con mayor número de huevos. Por ello, al momento de realizar la separación de las proglótides, las que se ubican más arriba tendrán menor porcentaje de huevos.

Las proglótides grávidas fueron enviadas por la Unidad de Cisticercosis-INCN (Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas) tres semanas antes de la infección experimental y conservadas en glicerol al 25% suplementado con penicilina (1000 IU/ml), gentamicina (100 ug/ml), estreptomycin (1 mg/ml), y anfotericina B (20 ug/ml) a 4°C hasta su uso, como se describe en otro estudio (Gomez-Puerta *et al.*, 2018).

Previo al desafío, dos proglótides grávidas, pertenecientes a dos tenias diferentes, fueron evaluadas para calcular el porcentaje de viabilidad con la técnica de hipoclorito de sodio modificado. Esta técnica consiste en la liberación de los huevos de la proglótide usando un mortero y el uso posterior de 1 ml hipoclorito de sodio al 0.75% por 10 minutos. Luego se añadió RPMI y se centrifugó tres veces. El sedimento final se observó al microscopio.

Para determinar una oncosfera viable se basa en la no captación de colorante de azul de tripán, a diferencia de las oncosferas no viables que se llegan a teñir por algún deterioro de su pared. Al final se obtuvo como resultado un 67.6% (71/105) de viabilidad para la primera proglótide evaluada, y 100% (94/94) para la segunda. La fórmula para realizar este cálculo se muestra a continuación:

$$\text{Porcentaje de viabilidad de proglótides} = \frac{\text{número de oncósferas viables}}{\text{total de oncósferas}} \times 100$$



**Figura 13.** Desafío de los cerdos mediante la ingestión de una proglótide grávida de *Taenia solium*

Tres meses posteriores al desafío, se realizó la eutanasia de los animales para determinar el número de quistes a través de la necropsia. Para esto, se sujetó el hocico con el axial, y otra persona ayudó con la inmovilización del animal ejerciendo presión en la parte posterior del cerdo hacia la pared. Un médico veterinario aplicó la Xilacina (Dormi-Xyl 2,2 mg/kg IM) y la Ketamina (Ket-A-100, 20 mg/kg IM) detrás de la oreja, en la base de esta. Luego se inyectó una sobredosis de pentobarbital sódico (Halatal, 150 mg/kg) por la vena yugular. Se auscultó para certificar la muerte del animal.

### 2.3 Conteo de quistes

Se realizó la necropsia de los animales y se emplearon diferentes bandejas rotuladas con el nombre de la zona del cuerpo y el número del animal. Cada animal fue seccionado en 8 partes de la siguiente manera: pierna derecha, pierna izquierda, columna, sacro, costilla derecha, costilla izquierda, brazo derecho y brazo izquierdo.

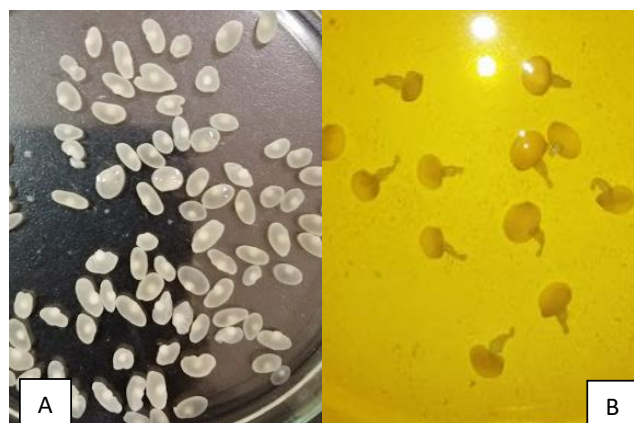
Posteriormente, a cada sección se le realizó cortes seriados con la ayuda de bisturí. Los cortes eran de aproximadamente de 5 milímetros de grosor para observar los quistes (Sikasunge *et al.*, 2008).

Cuando se observada quistes en el tejido muscular se clasificaba en quiste sano y degenerado según las siguientes características macroscópicas: un quiste sano era aquel que contenía liquido translucido y que poseían una membrana que permitiera observar al escólex a forma de un nódulo pequeño de 2 a 3 mm dentro. En el caso de un quiste degenerado, se observaba la pared del quiste engrosado con liquido vesicular opaco y, además, los bordes del quiste eran irregulares y reducidos de tamaño (Garcia *et al.*, 2003)

En los animales que presentaban quistes sanos, se extraían un número mínimo de 20 quistes por animal o su totalidad en caso hubiera un número menor a 20 quistes y eran colocados en una placa Petri con suero fisiológico, con el cuidado debido para evitar la ruptura del quiste y analizar su viabilidad (Figura 14A).

La determinación de la viabilidad de los quistes consistió en seleccionar 20 quistes sanos por animal y suspenderlos en buffer salino fosfato (PBS) de 0.15 M y pH 7.2 por un tiempo aproximado de 5 minutos. Luego, se eliminó la solución PBS y se suspendieron en 40 a 50 ml de una solución estéril de bilis bovina. Se incubó a 37°C durante 1 hora. Al culminar este tiempo, las placas se retiraron de la incubadora y se determinaba un quiste viable por la evaginación del escólex s (Falcón, 2006) (Figura 14B).

Porcentaje de viabilidad de los quistes= número de quiste viables/número de quistes sanos x 100



**Figura 14.** Quistes de *Taenia solium* extraídos de los músculos (A) y luego de evaginar con bilis bovina (B)

### **3. *Análisis de datos***

El análisis estadístico consistió en reportar el número de quistes sanos y degenerados por cada animal con relación al grupo experimental y control con frecuencias y porcentajes. Posteriormente, se analizó la normalidad del número de quistes sanos y al no cumplirse el supuesto mediante la prueba de Shapiro-Wilk, se analizó la igualdad de medianas de ambos grupos con la prueba U de Mann-Whitney.

El porcentaje de viabilidad de los quistes sanos encontrados se presenta en una tabla de acuerdo con cada grupo experimental y control. Además, el porcentaje de viabilidad fue analizada para comprobar su normalidad y homocedasticidad con la prueba Shapiro-Wilk y la prueba de varianza, respectivamente.

El promedio del porcentaje de viabilidad para cada grupo fue comparado mediante la prueba T-Student para muestras independientes.

El análisis estadístico fue realizado con el software estadístico STATA 14.

### **4. *Consideraciones éticas***

Todos los procedimientos realizados fueron revisados y aprobados por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la Facultad De Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.



## IV. RESULTADOS

### 1. *Conteo de quistes*

Durante el tiempo de seguimiento, un animal del grupo experimental murió por causas desconocidas el día 55 después del desafío. A pesar de lo sucedido, ningún otro animal mostró signos clínicos como inapetencia, diarrea o secreciones nasales.

Después de la necropsia, tanto en el grupo experimental y control, cinco animales presentaron quistes sanos y degenerados. En el grupo experimental, el 71.4% (5/7) y 85.7% (6/7) de los animales presentaron quistes sanos y degenerados, respectivamente a diferencia del grupo control, con 62.5% (5/8) y 75% (6/8) quistes sanos y degenerados, respectivamente.

La mediana del número de quistes sanos del grupo experimental fue de 24 (RIC 593) y del grupo control de 3 (RIC 463). Posteriormente se analizó la mediana del número de quistes sanos entre los dos grupos mediante la prueba de U Mann Whitney para determinar si hay diferencia, sin embargo, no se detectó una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) (Cuadro 3).

### 2. *Viabilidad de quistes*

A partir de los cinco animales por cada grupo que presentaron quistes sanos, se procedió a realizar la prueba de viabilidad de los quistes. Posterior a la incubación con bilis bovina a 37°C por una hora se observó que el promedio de quistes viables en el grupo control fue de 53.88% y del grupo experimental de 65.16%.

Luego, al comparar el promedio de quistes viables de cada grupo mediante la prueba T de Student para muestras independientes, no se apreció una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) (Cuadro 4).

**Cuadro 3.** Número de cisticercos de *Taenia solium* en cerdos del grupo experimental (n=7) y control (n=8)

<b>Grupo</b>	<b>Sanos</b>	<b>Degenerados</b>	<b>Total</b>	<b>Mediana(QS)</b>	<b>RIC</b>
<i>Control</i>					
1	0	2	2		
2	3568	3786	7354		
3	3	12	15		
4	0	0	0	3*	463
5	3	0	3		
6	900	149	1049		
7	0	7	7		
8	26	158	184		
<i>Experimental</i>					
9	0	26	26		
10	28	1	29		
11	11	0	11	24*	593
12	5383	4	5387		
13	0	26	26		
15	593	136	729		
16	24	1	25		

QS: Quistes sanos; RIC: Rango Intercuartílico (p25-p75)

\* p=0.55 para la diferencia de medianas en la prueba de U Mann Whitney con el programa STATA14.

**Cuadro 4.** Viabilidad de los quistes observables sanos en necropsia en los grupos control (n=64) y experimental (n=82).

<b>Grupo</b>	<b>Total</b>	<b>Viables</b>	<b>Viabilidad (%)</b>	<b>Media</b>	<b>IC 95%</b>
<i>Control</i>					
1	0	-	-		
2	20	15	75.0		
3	4	0	0		
4	0	-	-	53.88*	0 - 100
5	2	0	0		
6	20	20	100.0		
7	0	-	-		
8	18	17	94.4		
<i>Experimental</i>					
9	0	-	-		
10	16	6	37.5		
11	6	2	33.3	65.16*	28.90 - 100
12	20	20	100.0		
13	0	-	-		
15	20	14	70.0		
16	20	17	85.0		

IC: Intervalo de confianza

\* p=0.67 para la diferencia de medias en la prueba de T de Student para muestras independientes con el programa STATA14.

## V. DISCUSIÓN

El ciclo biológico de *Taenia solium* consiste en dos hospedadores, el ser humano y el cerdo; presentándose como neurocisticercosis en los seres humanos, ocasionando síntomas neurológicos como crisis epilépticas o hasta alteraciones en la visión (Garcia *et al.*, 2010). Al ser un problema de salud pública principalmente en Latinoamérica, África y Asia (Flisser y Lightowlers, 2001), desde hace muchos años se busca controlarla, mediante el tratamiento masivo de las personas, y demás métodos. Sin embargo, el éxito de estos intentos suele ser temporal, además de centrarse en una sola área geográfica (Garcia *et al.*, 2006, 2010). Por esto, la implementación de la vacunación en cerdos es vislumbrada como una mejor estrategia de control a largo plazo.

En el presente estudio se evaluó una candidata a vacuna vectorizada que emplea el virus de la enfermedad de Newcastle para expresar TSOL18 de *T. solium*. En estudios previos, *Escherichia coli* y *Pichia pastoris* se han empleado como vectores para producir TSOL18 con su posterior purificación e inoculación del péptido en los animales. La protección mínima fue del 90% para ambos (Flisser *et al.*, 2004; Cai *et al.*, 2008; Martínez J., 2018). Además, si bien se ha apreciado su protección en vacunas recombinantes de péptido empleando dos dosis (Jayashi *et al.*, 2012), la mayoría de los estudios emplean más de dos dosis para impulsar la respuesta inmune (Assana *et al.*, 2010).

Por ello, los animales fueron inmunizados por la vía nasal e intramuscular con el fin de estimular de la respuesta inmune sistémica y de mucosas. Respecto a esto, las vacunas vectorizadas también pueden aplicarse por la vía intramuscular (De Hann, 2001), por lo que se decidió agregar esta ruta de administración en los animales del presente estudio para reforzar la inmunidad sistémica.

En un estudio previo empleando la misma candidata a vacuna vectorizada experimental se evaluó la producción de anticuerpos contra TSOL18 en la misma concentración con diferente esquema de inmunización y administración (Martínez A., 2018). La producción de anticuerpos en dicho estudio fue ligeramente mayor por la vía nasal en comparación con la vía ocular, por lo que se decidió seleccionar esta vía de inoculación.

Como consecuencia a la evaluación de anticuerpos de la candidata a vacuna vectorizada experimental realizada por Martínez (2018), se buscó determinar la protección post-desafío en los animales infectados con una proglótide grávida de *T. solium* experimentalmente.

Durante la inmunización de los animales no se presentaron signos clínicos como secreción nasal, inapetencia o diarrea y tampoco se apreciaron lesiones en las vías de inoculación, es decir, fosas nasales o la base del cuello, como se reporta también en otros estudios en el cual emplearon el VEN para expresar una glicoproteína del Herpesvirus Bovino tipo 1 en terneros de 10 a 12 semanas de edad por la vía nasal e intratraqueal (Kattar *et al.*, 2010) y en el caso de ratones donde se compararon las dos rutas, intranasal e intramuscular, y ningún animal demostró reacciones adversas (Zhang *et al.*, 2016).

Al día 55 posterior al desafío, un animal del grupo experimental amaneció muerto. Situación similar fue reportada en México, donde se inmunizaron 138 lechones de 2 meses de edad, y otros 140 lechones fueron considerados en el grupo control. En ambos grupos fallecieron 18 (grupo experimental) y 20 animales (grupo control), indicándose que este suceso no tuvo relación con la vacuna recombinante del péptido (Sciutto *et al.*, 2013).

Con respecto a la protección post-desafío, se identificaron cinco animales de cada grupo con quistes sanos, lo que indicaría la falla en la protección de los animales del grupo experimental. El considerar la presencia de quistes sanos como evento de interés para medir la protección se basó en que un quiste sano es suficiente para que el ciclo biológico de *T. solium* continúe en las personas, con el desarrollo del estadio adulto del parásito (Flisser, 2013). Este evento se puede relacionar con la concentración del antígeno TSOL18 en la dosis de inmunización, que en la mayoría de los estudios previos se han visto necesarios 200 µg de este péptido (Flisser *et al.*, 2004; Gonzalez *et al.*, 2005; Jayashi *et al.*, 2012), la cual en este caso pudo haber sido menor a la utilizada estos.

A pesar de que la candidata a vacuna vectorizada experimental elaborada por FARVET SAC fue capaz de expresar la proteína TSOL18 (comunicación directa), no se obtuvo la protección de más del 90% como se reporta en otros estudios realizados en México (99.5%), Camerún (100%) y Perú (99.9%) con vacunas recombinantes de péptido y aplicados por la vía intramuscular (Flisser *et al.*, 2004; Gonzalez *et al.*, 2005). Agregando a ello las 3 inmunizaciones

nasales y el refuerzo por la vía intramuscular en la primo-vacunación que se plantearon para reforzar el sistema inmune.

Estudios previos de candidatas a vacunas de subunidades expresadas en virus contra enfermedades parasíticas han demostrado resultados muy variables, yendo desde la no protección de los animales (para *Fasciola hepática*), hasta una protección del 100% (para un caso con *Babesia rodhaini*) (Van Oers, 2006). Considerando que las vacunas contra parásitos son difíciles de producir debido a la complejidad de estos (Van Oers, 2006), podemos plantear como una posible explicación que el vector, a pesar de haber expresado la proteína TSOL18 en los estudios de laboratorio, quizás no se expresó correctamente o no provocó la producción de niveles altos de anticuerpos que pudieran proteger a los animales.

El detectar 3 animales del grupo control sin quistes sanos posiblemente se deba a que la respuesta inmune del animal controló la infección como se aprecia también en otro estudio donde inmunizaron con el péptido TSOL18 por la vía intramuscular e infectaron con 5000 huevos de *T. solium* por la vía oral a los cerdos del estudio. En este estudio mencionado, un cerdo no desarrolló quistes y tres animales tuvieron quistes degenerados (Flisser *et al.*, 2004). Además, a pesar de que los animales fueron observados por más de una hora después del desafío oral, no se puede descartar la probabilidad de que el animal del presente estudio que no presentó quistes haya eliminado la proglótide grávida mediante el vómito, y que tal vez otro animal lo haya consumido posteriormente.

A su vez, la diferencia en el número de quistes sanos y degenerados entre el grupo experimental (rango=11-5387) y control (rango=0-7354) (cuadro 3) posiblemente se deba al porcentaje de viabilidad que tiene cada proglótide, ya que el cuerpo distal de la tenia presenta las proglótides grávidas con mayor número de huevos, mientras que a medida que se aproximan al cuello van disminuyendo hasta presentar las proglótides no grávidas (Flisser, 2013). El empleo de una proglótide en este estudio se asemeja a la forma de infección natural y la infectividad para una proglótide superaba el 50%; sin embargo, el resultado obtenido en el grupo vacunado demuestra que igualmente los animales no fueron protegidos. Por otro lado, en la administración de las proglótides grávidas, el grupo control mostró resistencia al desafío, y quizás por ello se observaron tres animales sin quistes viables en dicho grupo. Autores previos han demostrado que el desafío con huevos de *T. solium* puede ser muy impredecible (Da Silva *et al.*, 2012).

Luego de evaluar 20 quistes sanos por incubación en bilis bovina a 37°C por 1 hora, el promedio del porcentaje de viabilidad en el grupo experimental (65.16%) fue mayor que el grupo control (53.88%) (Cuadro 4) sin embargo la diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ). Por lo tanto, el porcentaje de viabilidad en ambos grupos es similar y no se observó

protección por parte de la candidata a vacuna ya que se demostró que los quistes sanos fueron capaces de evaginar el escólex, lo que les permitiría su continuidad para la adherencia a nivel intestinal en el hospedero definitivo (García *et al.*, 2014). No hay estudios de protección post-desafío que hayan evaluado el porcentaje de viabilidad de quistes sanos, pero sí se reporta para evaluar el tratamiento con oxfendazol en cerdos infectados naturalmente. El promedio del porcentaje de viabilidad en el grupo tratado fue de 5% y en el grupo control fue del 97% (Sikazunge *et al.*, 2008)

Si bien en el presente estudio no hubo protección post-desafío en los cerdos inmunizados con la candidata a vacuna vectorizada experimental, se han desarrollado vacunas comerciales en cerdos, perros y bovinos que emplean la vía nasal debido a su fácil administración, la gran vascularidad, permeabilidad y el metabolismo limitado en la cavidad nasal, así como la posibilidad de vacunación a grandes números de animales (Calderon-Nieva *et al.*, 2017; Ellis *et al.*, 2017). Además, el virus de la Enfermedad de Newcastle (VEN) sigue siendo un vector de gran interés por haberse desarrollado vacunas experimentales contra el virus Nipah, el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino, y la peste porcina; las cuales demostraron la expresión de antígenos virales y de anticuerpos neutralizantes (Kong *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019).

A pesar de los resultados obtenidos, es importante seguir realizando investigación en cisticercosis porcina ya que Perú es un país endémico, donde la prevalencia de NCC se puede encontrar cerca del 18.8% (Moyano *et al.*, 2016) y es necesario establecer medidas de control y prevención en los animales para así reducir los casos de NCC.

La vacunación porcina se considera la mejor opción; sin embargo, muchos estudios mencionan que la implementación de una medida de control en la población animal para romper con el ciclo del parásito requeriría de un tiempo de mínimo dos años (Kabululu *et al.*, 2020). Con ayuda de charlas educativas, educación sanitaria y mejoras en el servicio de agua potable y desagüe, las zonas rurales podrían reducir su prevalencia de teniasis y NCC y sumado a ello, una mejor guía de las prácticas de crianza disminuiría el riesgo de contagio en las personas (Palacios-Flores y Borneo-Cantalicio, 2008; Ayala *et al.*, 2014), disminuyendo potencialmente o eliminando así la enfermedad del país.

## **VI. CONCLUSIONES**

- La candidata a vacuna vectorizada que emplea VEN para expresar el péptido TSOL18, administrada por la vía intramuscular y nasal, no otorgó protección post-desafío experimental al grupo de animales inmunizados determinado por la presencia de quistes sanos en el tejido muscular.
- Las vías de inoculación fueron seguras en los cerdos, ya que no apreciaron signos clínicos que indicaran enfermedad, ni lesiones en las vías de inoculación.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Realizar ensayos con mayor concentración que la dosis empleada en el presente estudio.
- Emplear dos proglótides en la infección experimental para reducir la variabilidad del porcentaje de viabilidad de las proglótides grávidas.
- Realizar estudios utilizando los diferentes tipos de vacunas como la de péptido purificado más una vacuna vectorizada para estimular la respuesta inmune y disminuir el uso de jeringas en los animales.



## VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Adesokan HK, Adeoye FA. 2019. Porcine cysticercosis in slaughtered pigs and factors related to *Taenia solium* transmission amongst abattoir workers in Ibadan, Nigeria. Pan African Medical Journal 32(145): 13pp. doi: 10.11604/pamj.2019.32.145.10695
2. Akoko JM, MacLeod E, Thomas LF, Alarcon P, Kang'ethe E, Kivali V, Muloi D, Muinde P, Murungi MK, Gachoya JM, Fèvre EM. 2019. Detection of circulating antigens for *Taenia* spp. in pigs slaughtered for consumption in Nairobi and surroundings, Kenya. Parasite Epidemiology and Control 4: 5pp. doi: 10.1016/j.parepi.2019.e00093
3. Alexander AM, Mohan VR, Muliylil J, Dorny P, Rajshekhar V. 2012. Changes in knowledge and practices related to taeniasis/cysticercosis after health education in a south Indian community. Int Health 4(3):164-9. doi: 10.1016/j.inhe.2012.04.003
4. Assana E, Kyngdon CT, Gauci CG, Geerts S, Dorny P, De Deken R, Anderson GA, Zoli AP, Lightowers MW. 2010. Elimination of *Taenia solium* transmission to pigs in a field trial of the TSOL18 vaccine in Cameroon. International Journal for Parasitology 40: 515-519. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.01.006
5. Arroyo G, Bustos JA, Calcina JF, Gallegos L, Vargas-Calla A, Gomez-Puerta LA, Lopez T, Gilman RH, Garcia HH, Gonzalez AE. 2021. Efficacy of two locally produced oxfendazole formulations for the treatment of cysticercosis in naturally infected pigs. Rev perú med exp. salud publica 38(2): 296-301. doi: 10.17843/rpmesp.2021.382.6539
6. Ayala ER, Medina SA, Morales JA. 2014. Cisticercosis humana y su asociación con factores epidemiológicos y clínicos en los Andes centro y sur de Perú, 2000-2001. Revista Peruana de Epidemiología 18. 6p [Internet], [19 agosto 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=203131355005>
7. Beam M, Spencer A, Fernandez L, Atto R, Muro C, Vilchez P, Gamboa R, Olaya S, Ayvar V, Gonzalez AE, Garcia HH, O'Neal SE, and for the Cysticercosis Working Group in Peru. 2018. Barriers to Participation in a Community-Based Program to Control Transmission of *Taenia solium* in Peru. Am J Trop Med Hyg 98(6): 1748-1754. doi: 10.4269/ajtmh.17-0929
8. Bouteille B. 2014. Épidémiologie de la cysticercose et de la neurocysticercose. Médecine et Santé Tropicales. John Libbey Eurotext 24(4): 367-374. doi:10.1684/mst.2014.0378
9. Bowman DD. 2014. Georgis' Parasitology for Veterinarians. 10<sup>a</sup> ed. Elsevier Saunders. 485 p.
10. Bustos JA, Ninaquispe BE, Rodriguez S, Catillo Y, Yang SY, Gilman RH, Dorny P, Gabriël S, Garcia HH, Gonzalez AE, for the Cysticercosis Working Group in Peru. 2019. Performance of a sandwich antigen-detection ELISA for the diagnosis of porcine *Taenia solium* cysticercosis. Am J Trop Med Hyg 100 (3): 604-608. doi: 10.4269/ajtmh.18-0697

11. Cai X, Yuan G, Zheng Y, Luo X, Zhang S, Ding J, Jing Z, Lu C. 2008. Effective production and purification of the glycosylated TSOL18 antigen, which is protective against pig cysticercosis. *Infect Immun* 76(2): 767-770. doi: 10.1128/IAI.00444-07
12. Carbajal JE, Jara CA. 2014. Prevalencia de teniasis y seroprevalencia de cisticercosis en pobladores de San Jacinto, Ancash-Perú. 2010. *REBIOL* 34(2): 44-52
13. Calderon-Nieva D, Goonewardene KB, Gomis S, Foldvari M. 2017. Veterinary vaccine nanotechnology: pulmonary and nasal delivery in livestock animals. *Drug Delivery Translational Research* 7: 558–570. doi: 10.1007/s13346-017-0400-9
14. Carhuallanqui M, López T, González A, Angulo C. 2010. Serprevalencia de cisticercosis porcina en cuatro caseríos del distrito de Omia, Amazonas. *Rev Inv Vet Perú* 21(1): 73-79
15. Chembensofu M, Mwape KE, Van Damme I, Hobbs E, Phiri IK, Masuku M, Zulu G, Colston A, Willingham AL, Devleeschauwer B, Van Hul A, Chota A, Speybroeck N, Berkvens D, Dorny P, Gabriël S. 2017. Re-visiting the detection of porcine cysticercosis based on full carcass dissections of naturally *Taenia solium* infected pigs. *Parasites & Vectors* 10. 9p. doi: 10.1186/s13071-017-2520-y
16. Cordero A, Miranda E, Segovia G, Cantoral V, Huarcaya I. 2010. Prevalencia de teniosis y seroprevalencia de cisticercosis humana en Pampa Cangallo, Ayacucho, Perú 2008. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 27(4):562-568. ISSN 1726-4634
17. Cortez MM, Rojas G, Aguilar CM, Ferrer E, Alviarez Y, Méndez C, Medina-Freites C, Parkhouse RME. 2020. Seroepidemiological evidence for *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in three Venezuelan rural communities. *Journal of Helminthology* 94. 6p. doi: 10.1017/s0022149x20000619
18. Del Brutto OH, Garcia HH. 2015. *Teania solium* cysticercosis – the lessons of history. *Journal of Neurological Sciences* 359: 392-395. doi: 10.1016/j.jns.2015.08.011
19. DiNapoli JM, Kotelkin A, Yang L, Elankumaran S, Murphy BR, Samal SK, Colling PT, Bukreyev A. 2007. Newcastle disease virus, a host range-restricted virus, as a vaccine vector for intranasal immunization against emerging pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(23): 9788-9793. doi: 10.1073/pnas.0703584104
20. Edia-Asuke AU, Inabo HI, Mukaratirwa S, Umoh VJ, Whong CMZ, Asuke S, Ella EE. 2015. Seroprevalence of human cysticercosis and its associated risk factors among humans in areas of Kaduna metropolis, Nigeria. *J Infect Dev Ctries* 9(8): 799-805. doi:10.3855/jidc.5415
21. Ellis JA, Gow SP, Lee LB, Lacoste S, Ball EC. 2017. Comparative efficacy of intranasal and injectable vaccines in stimulating *Bordetella bronchiseptica*-reactive anamnestic antibody responses in household dogs. *The Canadian Veterinary Journal* 58(8): 809–815. PMID: 28761185

22. Falcón N. 2006. Efecto de la edad en un modelo de infección experimental de cisticercosis porcina. Tesis de Magíster en Salud Animal. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 84 p.
23. Flisser A, Lightowers MW. 2001. Vaccination against *Taenia solium* Cysticercosis. Mem Inst Oswaldo Cruz 96(3):353-356. doi: 10.1590/S0074-02762001000300012
24. Flisser A, Gauci C, Zoli A, Martinez-Ocaña J, Garza-Rodriguez A, Dominguez-Alpizar J, Maravilla P, Rodriguez-Canul R, Avila G, Aguilar-Vega L, Kyngdon C, Geerts S, Lightowers M. 2004. Induction of Protection against Porcine Cysticercosis by Vaccination with Recombinant Oncosphere Antigens. Infection and Immunity, p. 5292–5297. doi: 10.1128/IAI.72.9.5292-5297.2004
25. Flisser A. 2013. State of the Art of *Taenia solium* as Compared to *Taenia asiatica*. Korean J Parasitol 51(1): 43-49. Doi: 10.3347/kjp.2013.51.1.43
26. Garcia B, González A, López T, Alvarado A. 2011. Seroprevalencia de Cisticercosis porcina en caseríos rurales del departamento de Tumbes, Perú. Rev Inv Vet Perú 22(3): 244-252
27. Garcia HH, Gonzalez AE. 2001. Teniasis/Cisticercosis por *Taenia solium*, En: Taeniasis Cisticercosis por *Taenia solium*, un serio problema de salud pública en el Perú. Ministerio de Salud. p 7-10.
28. Garcia HH, Gonzalez AE; Carton E, Gilman RH, and The Cysticercosis Working Group in Peru. 2003. *Taenia solium* Cysticercosis. The Lancet. 361: 547-555. doi: 10.1016/S0140-6736(03)14117-7
29. Garcia HH, Gonzalez AE, Tsang VCW, Gilman RH, for the Cysticercosis Working Group in Peru. 2006. Neurocysticercosis: some of the essentials. Practical Neurology 6: 288-297. doi: 10.1136/jnnp.2006.101253
30. Garcia HH, Gonzalez AE, Rodriguez S, Gonzalvez G, Llanos-Zavalaga F, Tsang VCW, Gilman RH, por el Grupo de Trabajo en Cisticercosis en Perú. 2010. Epidemiología y Control de la Cisticercosis en el Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica 27(4): 592-97. ISSN 1726-4634
31. Garcia HH, Nash TE, Del Brutto OH. 2014. Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. Lancet Neurology 13: 1202-1215. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70094-8
32. Garcia HH, Gonzalez AE, Tsang VCW, O'Neal SE, Llanos-Zavalaga F, Gonzalvez G, Tomero J, Rodriguez S, Moyano LM, Ayvar V, Diaz A, Hightower A, Craig PS, Lightowers MW, Gauci CG, Leontsini E, Gilman RH, for the Cysticercosis Working Group in Peru. 2016. Elimination of *Taenia solium* Transmission in Northern Peru. N Engl J Med. 374(24): 2335-2344. doi: 10.1056/NEJMoa1515520

33. Garcia HH, O'Neal SE, Noh J, Handali S, The Cysticercosis Working Group in Peru. 2018. Laboratory Diagnosis of Neurocysticercosis (*Taenia solium*). J Clin Microbiol 56: e00424-18. doi: 10.1128/JCM.00424-18
34. Gauci CG, Flisser A, Lightowlers MW. 1998. A *Taenia solium* oncosphere protein homologous to host-protective *Taenia ovis* and *Taenia saginata* 18 kDa antigens. Int J Parasitol 28(5): 757-760. doi: 10.1016/s0020-7519(98)00034-4
35. Gauci CG, Lightowlers MW. 2001. Alternative splicing and sequence diversity of transcripts from the oncosphere stage of *Taenia solium* with homology to the 45W antigen of *Taenia ovis*. Molecular & Biochemical Parasitology 112: 173-181.
36. Gavidia CM, Verastegui MR, Garcia HH, Lopez-Urbina T, Tsang VCW, Pan W, Gilman RH, Gonzalez AE, the Cysticercosis Working Group in Peru. 2013. Relationship between serum antibodies and *Taenia solium* larvae burden in pigs raised in field conditions. PLoS Negl Trop Dis 7(5): e2192. doi: 10.1371/journal.pntd.0002192
37. Ge J, Wang X, Tao L, Wen Z, Feng N, Yang S, Xia X, Yang C, Chen H, Bu Z. 2011. Newcastle Disease Virus-Vectored Rabies Vaccine Is Safe, Highly Immunogenic, and Provides Long-Lasting Protection in Dogs and Cats. Journal of Virology 85(16): 8241-8252. doi: 10.1128/JVI.00519-11
38. Ge J, Wang X, Tian M, Gao Y, Wen Z, Yu G, Zhou W, Zu S, Bu Z. 2015. Recombinant Newcastle disease viral vector expressing hemagglutinin or fusion of canine distemper virus is safe and immunogenic in minks. Vaccine 33: 2457-2462. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.03.091
39. Gilman RH, Gonzalez AE, Llanos-Zavalaga F, Tsang VCW, Garcia HH, The Cysticercosis Working Group in Peru. 2012. Prevention and control of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis in Peru. Pathogens and Global health 106(5): 312-318. doi: 10.1179/2047773212Y.0000000045
40. Gomez-Puerta LA, Garcia HH, Gonzalez AE, and for the Cysticercosis Working Group in Peru. 2018. Experimental porcine cysticercosis using infected beetles with *Taenia solium* eggs. Acta Trop 183: 92-94. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.04.003
41. Gonzales I, Miranda JJ, Rodriguez S, Vargas V, Cjuno A, Smeeth L, Gonzalez AE, Tsang VCW, Gilman RH, Garcia HH, for The Cysticercosis Working Group in Peru. 2015. Seizures, cysticercosis and rural-to-urban migration: the PERU MIGRANT study. Tropical Medicine and International Health 20(4): 546-552. doi:10.1111/tmi.12456
42. Gonzalez AE, Gauci CG, Barber D, Gilman RH, Tsang VCW, Garcia HH, Verastegui M, Lightowlers MW. 2005. Short Report: Vaccination of Pigs to Control Human

- Neurocysticercosis. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 72(6): 837-839. doi: 10.4269/ajtmh.2005.72.837
43. Haby MM, Sosa LA, Luaciañez A, Nicholls RA, Reveiz L, Donadeu M. 2020. Systematic review of the effectiveness of selected drugs for preventive chemotherapy for *Taenia solium* taeniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 14(1): e0007873. doi: 10.1371/journal.pntd.0007873
  44. Hernández M, Ortiz A, Cervantes J, Villalobos N, Guzmán C, Fragoso G, Sciutto E, Villareal ML. 2021. Development of an oral vaccine for the control of cysticercosis. En: *Current State of the Art in Cysticercosis and Neurocysticercosis*. IntechOpen. 16p. doi: 10.5772/intechopen.97227
  45. Huerta M, Avila R, Jiménez HI, Díaz R, Díaz J, Díaz Huerta ME, Hernández M, Martínez JJ, Garate T, Gómez E, Abad T, Fragoso G, Fleury A, Sciutto E. 2008. Parasite contamination of soil in households of a Mexican rural community endemic for neurocysticercosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102(4): 374-379. doi: 10.1016/j.trstmh.2007.12.009
  46. Hu Z, Ni J, Cao Y, Liu X. 2020. Newcastle Disease Virus as a Vaccine Vector for 20 Years: A Focus on Maternally Derived Antibody Interference. *Vaccines* 8(2):222. doi: 10.3390/vaccines8020222
  47. Hunter Z, Smyth HD, Durfee P, Chackerian B. 2009. Induction of mucosal and systemic antibody responses against the HIV coreceptor CCR5 upon intramuscular immunization and aerosol delivery of a Virus-like Particle based vaccine. *Vaccine* 28(2): 403-414. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.10.035
  48. Jayashi CM, Kyngdon CT, Gauci CG, Gonzalez AE, Lightowlers MW. Successful immunization of naturally reared pigs against porcine cysticercosis with a recombinant oncosphere antigen vaccine. 2012. *Veterinary Parasitology* 188: 261-267. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.03.055
  49. Kabululu ML, Ngowi HA, Mlangwa JED, Mkupasi EM, Braae UC, Colston A, Cordel C, Poole EJ, Stuke K, Johansen MV. 2020. TSOL18 vaccine and oxfendazole for control of *Taenia solium* cysticercosis in pigs: A field trial in endemic areas of Tanzania. *PLoS Negl Trop Dis* 14(10): e0008785. doi: 10.1371/journal.pntd.0008785
  50. Khanal N, Shrestha R. 2019. Seizure commonly associated with Neurocysticercosis are not linked with pork meat diet. A retrospective analysis. *Asian Journal of Medical Sciences* 10. doi: 10.3126/ajms.v10i5.24896
  51. Khattar S, Collins P, Samal S. 2010. Immunization of cattle with recombinant Newcastle disease virus expressing bovine herpesvirus-1 (BHV-1) glycoprotein D induces mucosal and

- serum antibody responses and provides partial protection against BHV-1. *Vaccine* 28(18): 3159-3170. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.02.051
52. Kim SH, Samal SK. 2016. Newcastle Disease Virus as a Vaccine Vector for Development of Human and Veterinary Vaccines. *Viruses* 8(7). 15p. doi: 10.3390/v8070183
  53. Kimura-Hayama ET, Higuera JA, Corona-Cedillo R, Chávez-Macías L, Perochena A, Quiroz-Rojas LY, Rodríguez-Carbajal J, Criales JL. 2010. Neurocysticercosis: Radiologic-Pathologic Correlation. *RadioGraphics* 30(6):1705-1719. doi: 10.1148/rg.306105522
  54. Kong D, Wen Z, Su H, Ge J, Chen W, Wang X, Wu C, Yang C, Chen H, Zhigao B. 2012. Newcastle disease virus-vectored Nipah encephalitis vaccines induce B and T cell responses in mice and long-lasting neutralizing antibodies in pigs. *Virology* 432: 327-335. doi: 10.1016/j.virol.2012.06.001
  55. Li T, Ito A, Craig PS, Chen X, Qiu D, Zhou X, Xiao N, Qiu J. 2007. Taeniasis/Cysticercosis in China. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 28: 131-139.
  56. Li T, Chen X, Wang H, Openshaw JJ, Zhong B, Felt SA, Ito A, Luby SP. 2019. High prevalence of taeniasis and *Taenia solium* cysticercosis in western Sichuan, China. *Acta Tropica* 199: 105133. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.105133
  57. Lightowers MW, Rolfe R, Gauci CG. 1996. *Taenia saginata*: Vaccination against Cysticercosis in Cattle with Recombinant Oncosphere Antigens. *Experimental Parasitology* 84: 330-338. doi:10.1006/expr.1996.0121
  58. Lightowers MW. 2010. Eradication of *Taenia solium* cysticercosis: A role for vaccination of pigs. *International Journal for Parasitology* 40: 1183-1192. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.05.001
  59. Maan S, Mor SK, Jindal N, Joshi VG, Ravishankar C, Singh VK, Ravindran R, Sahoo N, Radzio-Basu J, Schiling MA, McVey WR, Mahajan NK, Kapur V, Goyal SM. 2019. Complete genome sequences of Newcastle Disease Virus isolates from backyard chickens in northern India. *Microbiol Resour Announc* 27(8): 6-8. doi: 10.1128/MRA.00467-19
  60. Maquera-Afaray J, Capaquira E, Conde L. 2014. Cisticercosis diseminada\_ Reporte de un caso en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 31(2): 370-374. doi: 10.17843/rpmesp.2014.312.61
  61. Martínez AL. 2018. Respuesta de anticuerpos séricos en cerdos frente a una vacuna recombinante contra *Taenia solium*. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 81 p.
  62. Martínez JM. 2018. Eficacia del péptido TSOL18 expresado en *Pichia pastoris* como vacuna contra la cisticercosis porcina. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 71 p.

63. Melki J, Koffi E, Boka M, Touré A, Soumahoro MK, Jambou R. 2018. *Taenia solium* cysticercosis in West Africa: status update. *Parasite* 25. doi: 110.1051/parasite/2018048
64. Meza-Lucas A, Aguilar F. 2002. Teniasis humana por *Taenia solium*. *Rev Mex Patol Clin*. 49(2):92–99.
65. Miller PJ, Afonso CL. 2011. Newcastle Disease Virus. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd. p1-9.
66. Mkupasi EM, Ngowi HA, Sikasunge CS, Leifsson PS, Johansen MV. 2013. Efficacy of ivermectin and oxfendazole against *Taenia solium* cysticercosis and other parasitoses in naturally infected pigs. *Acta Tropica* 128(1): 48-53. doi: 10.1016/j.actatropica.2013.06.010
67. Molinari JL, Rodríguez D, Tato P, Soto R, Arechavaleta F, Solano S. 1997. Field trial for reducing porcine *Taenia solium* cysticercosis in Mexico by systematic vaccination of pigs. *Veterinary Parasitology* 69: 55-63. doi: 10.1016/S0304-4017(96)01102-8
68. Monreal-Escalante E, Govea-Alonso DO, Hernández M, Cervantes J, Salazar-González JA, Romero-Maldonado A, Rosas G, Garate T, Fragoso G, Sciutto E, Rosales-Mendoza S. 2015. Towards the development of an oral vaccine against porcine cysticercosis: expression of the protective HP6/TSOL18 antigen in transgenic carrots cells. *Planta* 243(3): 675–685. doi:10.1007/s00425-015-2431-0
69. Moreno L, Lopez-Urbina MT, Farias C, Domingue G, Donadeu M, Dungu B, García HH, Gomez-Puerta LA, Lanusse C, González AE. 2012. A high oxfendazole dose to control porcine cysticercosis: Pharmacokinetics and tissue residue profiles. *Food and Chemical Toxicology* 50: 3819-3825. doi: 10.1016/j.fct.2012.07.023
70. Moyano LM, Saito M, Montano SM, Gonzalvez G, Olaya S, Ayvar V, González I, Larrauri L, Tsang VCW, Llanos F, Rodríguez S, Gonzalez AE, Gilman RH, The Cysticercosis Working Group in Peru. 2014. Neurocysticercosis as a Cause of Epilepsy and Seizures in Two Community-Based Studies in a Cysticercosis-Endemic Region in Peru. *PLoS Neg Trop Dis* 8(2): e2692. doi: 10.1371/journal.pntd.0002692
71. Moyano LM, O’Neal SE, Ayvar V, Gonzalvez G, Gamboa R, Vilechez P, Rodriguez S, Reistetter J, Tsang VCW, Gilman RH, Gonzalez AE, Garcia HH, The Cysticercosis Working Group in Peru. 2016. High Prevalence of Asymptomatic Neurocysticercosis in an Endemic Rural Community in Peru. *PLoS Negl Trop Dis* 10(12): e0005130. doi: 10.1371/journal.pntd.0005130
72. Nash TE, Garcia HH. 2011. Diagnosis and Treatment of Neurocysticercosis. *Nat Rev Neurol*. 7(10): 584-594. doi: 10.1038/nrneurol.2011.135

73. Nash TE, Siddhartha Mahanty, Garcia HH, for the Cysticercosis Group in Peru. 2011. Corticosteroid use in neurocysticercosis. *Expert Rev Neurother* 11(8): 1175-1183. doi:10.1586/ern.11.86
74. Nsadha Z, Rutebarika C, Ayebazibwe C, Aloys B, Mwanja M, Poole EJ, Chesang E, Colston A, Donadeu M, Lightowers MW. 2021. Control trial of porcine cysticercosis in Uganda using a combination of the TSOL18 vaccination and oxfendazole. *Infectious Diseases of Poverty* 10. doi: <https://doi.org/10.1186/s40249-021-00823-6>
75. Okello AL, Thomas LF. 2017. Human taeniasis: current insights into prevention and management strategies in endemic countries. *Risk Manag Healthc Policy* 10: 107-116. doi: 10.2147/RMHP.S116545
76. [OMS] Organización Mundial de la Salud. 2021. Taeniasis/Cysticercosis [Internet], [4 octubre 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/taeniasis-cysticercosis>
77. Owolabi LF, Adamu B, Jibo AM, Owolabi SD, Imam AI, Alhaji ID. 2020. Neurocysticercosis in people with epilepsy in Sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis of the prevalence and strength of association. *Seizure: European Journal of Epilepsy* 76: 1-11. doi: 10.1016/j.seizure.2020.01.005
78. Palacios-Flores E, Borneo-Cantalicio E. 2008. Efecto de una intervención educativa sobre los conocimientos de teniasis/cisticercosis en una comunidad rural de Huánuco, Perú 2005. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 25(3): 294-297. ISSN 1726-4634
79. Pawlowski Z, Allan J, Sarti E. 2005. Control of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis: From research towards implementation. *International Journal for Parasitology* 35(11-12):1221-1232. doi: 10.1016/j.ijpara.2005.07.015
80. Pondja A, Neves L, Mlangwa J, Afonso S, Fafetine J, Willingham AL, Thamsborg SM, Johansen MV. 2012. Use of oxfendazole to control porcine cysticercosis in a high-endemic area of Mozambique. *PLoS Negl Trop Dis* 6(5): e1651. doi: 10.1371/journal.pntd.0001651
81. Poudel I, Sah K, Subedi S, Kumar Singh D, Kushwaha P, Colston A, Gauci CG, Donadeu M, Lightowers MW. 2019. Implementation of a practical and effective pilot intervention against transmission of *Taenia solium* by pigs in the Banke district of Nepal. *PLoS Negl TRp Dis* 13(2): e0006838. doi: 10.1371/journal.pntd.0006838
82. Puerta D, León D, Arana C, Falcón N. 2020. Conocimientos y prácticas asociadas a la exposición al complejo teniasis/cisticercosis entre criadores de cerdos de traspatio en la provincia de Jauja, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 31(2): e17844. doi: 10.15381/rivep.v31i2.17844
83. Prodjinotho UF, Lema J, Lacorcía M, Schmidt V, Vejzagic N, Sikasunge C, Ngowi B, Winkler AS, Prazeres da Costa C. 2020. Host immune responses during *Taenia solium*



- Neurocysticercosis infection and treatment. PLoS Neglected Tropical Diseases 14(4): 1-16. doi: 10.1371/journal.pntd.0008005
84. Quiroz Romero H. 1990. Plelmintos, Céstodos larvarios: Cisticercosis, cenurosis y equinococosis. En: Parasitología. Editorial Limusa p: 336-337
  85. Quispe E, Mamani D, Quispe D, Verastegui M. 2015. Evaluación del fármaco niclosamida en el tratamiento de teniasis humana 2011-2012-Ddepartamento Puno. Rev Investig Altoandin 17(2): 267-272. doi: 10.1827/ria.2015.124
  86. Rojas-Rivera R. 2021. Prevalencia de cisticercosis en porcinos de la provincia de Tambopata, Perú. Rev Med Vet 42: 77-82. doi: 10.19052/mv.vol1.iss42.9
  87. Sahu PS, Patro S, Jena PK, Swain SK, Das BK. 2015. Imaging and Serological-Evidence of Neurocysticercosis Among Patients with Seizures in Odisha, an Unexplored Eastern Coastal Province in India. J Clin Diagn Res 9(5): DC06-DC10. doi: 10.7860/JCDR/2015/12609.5967
  88. Sciutto E, Aluja A, Fragoso G, Rodarte LF, Hernández M, Villalobos MN, Padilla A, Keilbach N, Baca M, Govezensky T, Diaz S, Larralde C. 1995. Immunization of pigs against *Taenia solium* cisticercosis: factors related to effective protection. Veterinary Parasitology 60 (1995) 53-67. doi: 10.1016/0304-4017(94)00781-7
  89. Sciutto E, Fragoso G, Hernández M, Rosas G, Martínez JJ, Fleury A, Cervantes J, Aluja A, Larralde C. 2013. Development of the S3Pvac vaccine against porcine *Taenia solium* cysticercosis: A historical review. Journal of Parasitology 99(4): 686-692. doi: 10.1645/GE-3102.1
  90. Sikasunge CS, Phiri IK, Phiri AM, Siziya S, Domy P, Willingham III AL. 2008. Prevalence of *Taenia solium* porcine cysticercosis in the Eastern, Southern and Western provinces of Zambia. The Veterinary Journal 176: 240-244. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.02.030
  91. Singh AK, Singh SK, Prasad KN, Singh A, Bajpai A, Rahman M, Rai RP, Gupta RK, Tripathi M, Husain N. 2013. Evaluation of ELISA, neck muscle, tongue and eyelid examinations for the diagnosis of swine cysticercosis in a highly endemic area of north India. Experimental Parasitology 134(3): 313-317. doi: 10.1016/j.exppara.2013.03.033
  92. Singh G, Chowdhary AK. 2014. Epilepsy surgery in context of neurocysticercosis. Ann Indian Acad Neurol 17: S65-S68. doi: 10.4103/0972-2327.128660
  93. Singh SP, Singh BB, Kalambhe DG, Pahtak D, Aulakh RS, Dhand NK. 2018. Prevalence and distribution of *Taenia solium* cysticercosis in naturally infected pigs in Punjab, India. PLoS Negl Trop Dis 12(11): e0006960. doi: 10.1371/journal.pntd.0006960
  94. Sithole MI, Bekker JL, Tsotetsi-Khambule AM, Mukaratirwa S. 2019 Ineffectiveness of meat inspection in the detection of *Taenia solium* cysticerci in pigs slaughtered at two

- abattoirs in the Eastern Cape Province of South Africa. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 17: 100299. doi: 10.1016/j.vprsr.2019.100299
95. Taico F, López T, González A, García H, Gilman R. 2003. EPidemiología de la cisticercosis porcina en tres caseríos de la provincial de Zarumilla, Tumbes. *Rev investing vet Perú* 14(2): 166-173. ISSN 1609-9117
  96. Tale S, Chhabria BA, Gawalkar AA, Banavath HN, Bhalla A. 2017. “Sleeping under the starry sky” – cysticercal encephalitis. *QJM: An International Journal of Medicine* 110(12): 833-834. doi: 10.1093/qjmed/hcx162
  97. The Cysticercosis Working Group in Peru. 1993. The marketing if cysticercotic pigs in the Sierra of Peru. *Bulletin of the World Health Organization* 71 (2): 223-228.
  98. Trevisan C, Mkupasi EM, Ngowi HA, Forkman B, Johansen MV. 2016. Severe seizures in pigs naturally infected with *Taenia solium* in Tanzania. *Veterinary Parasitology* 220: 67-71. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.02.025
  99. Tripathi NK, Shrivastava A. 2018. Recent Developments in Recombinant Protein–Based Dengue Vaccines. *Front Immunol* 9. doi: 10.3389/fimmu.2018.01919
  100. Ura T, Okuda K, Shimada M. 2014. Developments in Viral Vector-Based Vaccines. *Vaccines* 2: 624-641. doi: 10.3390/vaccines2030624
  101. Van Oers MM. 2006. Vaccines for Viral and Parasitic Diseases Produced with Baculovirus Vectors. *Advances in Virus Research* 68: 193–253. doi:10.1016/s0065-3527(06)68006-8
  102. Verástegui M, González A, Gilman RH, Gavidia C, Fálcon N, Bernal T, García HH, Cysticercosis Working Group in Peru. 2000. Experimental infection model for *Taenia solium* cysticercosis in swine. *Veterinary Parasitology* 94: 33-44. doi: 10.1016/s0304-4017(00)00369-1
  103. Watts NS, Pajuelo M, Clark T, Loader MCI, Verastegui MR, Sterling C, Friedland JS, Garcia HH, Gilman RH, for The Cysticercosis Working Group in Peru. 2014. *Taenia solium* infection in Peru: a collaboration between Peace Corps volunteers and researchers in a community based study. *PLoS ONE* 9(12): e113239. doi:10.1371/journal.pone.0113239
  104. White AC Jr, Coyle CM, Rajshekhar V, Singh G, Hauser WA, Mohanty A, Garcia HH, Nash TE. 2018. Diagnosis and Treatment of Neurocysticercosis: 2017 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). *Clin Infect Dis* 66(8):e49-e75. doi: 10.1093/cid/cix1084
  105. Zammarchi L, Strohmeyer M, Bartalesi F, Bruno E, Muñoz J, Buonfrate D, Nicoletti A, García HH, Poizo E, Bartoloni A, The COHEMI Project Study Group. 2013. Epidemiology and Management of Cysticercosis and *Taenia solium* Taeniasis in Europe, Systematic Review 1990-2011. *PLOS ONE* 8(12): 12pp. doi: 10.1371/journal.pone.0069537

106. Zhang L, Wang W, Wang S. 2015. Effect of Vaccine Administration Modality on Immunogenicity and Efficacy. *Expert Rev Vaccines* 14(11): 1509-1523. doi: 10.1586/14760584.2015.1081067
107. Zhang M, Ge J, Li X, Chen W, Wang X, Wen Z, Bu Z. 2016. Protective efficacy of a recombinant Newcastle disease virus expressing glycoprotein of vesicular stomatitis virus in mice. *Virology Journal* 13(31): 9pp. doi: 10.1186/s12985-016-0481-y
108. Zhang M, Ge J, Wen Z, Chen W, Wang X, Liu R, Bu Z. 2017. Characterization of a recombinant Newcastle disease virus expressing the glycoprotein of bovine ephemeral fever virus. *Archives of Virology* 162: 359-367. doi: 10.1007/s00705-016-3078-2
109. Zhang H, Nan F, Li Z, Zhao G, Xie C, Ha Z, Zhang J, Han J, Xiao P, Zhuang X, Wang W, Ge J, Tian M, Lu H, Bu Z, Jin N. 2019. Construction and immunological evaluation of recombinant Newcastle disease virus vaccines expressing highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus GP3/GP5 proteins in pigs. *Veterinary Microbiology* 239: 108490. doi: 10.1016/j.vetmic.2019.108490

## IX. APÉNDICE

**Apéndice 1.** Número de quistes sanos, degenerados y totales por individuo al momento del conteo durante la necropsia.

ID	Grupo	Segmento de la carcasa								Conteo de quistes		
		A	B	C	D	E	F	G	H	QS	QD	QT
1	Ctr	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	2
2	Ctr	241	474	1353	685	123	1390	1339	1746	3568	3786	7354
3	Ctr	1	1	1	6	1	0	3	2	3	12	15
4	Ctr	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Ctr	0	0	0	2	0	1	0	0	3	0	3
6	Ctr	109	105	213	171	70	135	113	123	900	149	1049
7	Ctr	0	2	1	2	1	0	1	0	0	7	7
8	Ctr	11	4	27	34	19	33	23	33	26	158	184
9	Vac	2	0	0	3	4	5	5	7	0	26	26
10	Vac	5	1	2	4	2	4	7	4	28	1	29
11	Vac	0	0	0	0	1	2	6	0	11	0	11
12	Vac	142	190	792	2814	345	400	373	331	5383	4	5387
13	Vac	3	3	7	1	0	3	2	7	0	26	26
15	Vac	66	32	193	109	44	90	116	77	593	136	729
16	Vac	0	1	2	10	6	3	2	1	24	1	25

***Leyenda:***

*Vac: Grupo Vacunado*

*Ctr: Grupo Control*

*A: Costilla Derecha*

*B: Costilla Izquierda*

*C: Pierna Derecha*

*D: Pierna Izquierda*

*E: Columna*

*F: Sacro*

*G: Brazo Derecho*

*H: Brazo Izquierdo*

*QS: Quistes Sanos*

*QD: Quistes Degenerados*

*QT: Quistes Totales*