

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

UNIDAD DE POSTGRADO

**Efecto de la edad en un modelo de infección
experimental de cisticercosis porcina**

TESIS

para optar el grado académico de Magíster en Salud Animal

AUTOR

Néstor Gerardo Falcón Pérez

Lima – Perú

2006

CONTENIDOS

RESUMEN	i
SUMMARY	ii
LISTA DE ABREVIATURAS	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE APENDICES	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	4
2.1. GENERALIDADES	4
2.2. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PARÁSITO	5
2.2.1. <i>Taenia solium</i>	5
2.2.2. <i>Cysticercus cellulosae</i>	6
2.3. CICLO DE VIDA DEL PARÁSITO	6
2.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA TENIOSIS Y CISTICERCOSIS	8
2.4.1. Epidemiología de la Teniosis	8
2.4.2. Epidemiología de la Cisticercosis Humana	9
2.4.3. Epidemiología de la Cisticercosis Porcina	9
2.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD	11
2.5.1. Teniosis y Cisticercosis en el Hombre	11
2.5.2. Cisticercosis en el Cerdo	13
2.6. IMPACTO ECONÓMICO DEL COMPLEJO TENIOSIS / CISTICERCOSIS	14

2.7. DIAGNÓSTICO DE LA CISTICERCOSIS	14
2.7.1. Diagnóstico de Teniosis en el Hombre	14
2.7.2. Diagnóstico de Cisticercosis en el Hombre	15
2.7.2.1. Diagnóstico Clínico	15
2.7.2.2. Diagnóstico Por Imágenes	16
2.7.2.3. Diagnóstico Serológico	16
2.7.3. Diagnóstico de Cisticercosis en Cerdos	17
2.7.3.1. Examen de Lengua	17
2.7.3.2. Inspección de la canal	18
2.7.3.3. Diagnóstico Serológico	18
2.8. TRATAMIENTO DE LA CISTICERCOSIS	19
2.8.1. Tratamiento en Humanos	19
2.8.2. Tratamiento en Porcinos	20
2.9. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CISTICERCOSIS PORCINA	21
2.10. APUNTES DE INMUNIDAD CONTRA CISTICERCOSIS PORCINA	23
2.11. USO DE MODELOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	24
2.11.1. Historia de los Modelos Animales	24
2.11.2. Los Modelos Animales y su Clasificación	25
2.11.3. Modelos Animales para Cisticercosis	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1. LUGAR DE ESTUDIO	29
3.2. ANIMALES	29
3.3. TAMAÑO DE MUESTRA	29
3.4. EXPERIMENTO	30
3.4.1. Infección experimental	30
3.4.2. Toma de muestras para serología	30
3.4.3. Procesamiento de las muestras de suero	31
3.4.3.1. Evaluación de la Seroconversión: Prueba de Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB)	31
3.4.3.2. Determinación de Ags circulantes de T. solium: Prueba de ELISA – Ag	31

3.4.4. Determinación de cisticercos en los especímenes infectados	32
3.4.5. Prueba de evaginación de cisticercos	32
3.5. ANÁLISIS DE DATOS	33
IV. RESULTADOS	34
V. DISCUSIÓN	47
VI. CONCLUSIONES	53
VII. RECOMENDACIONES	54
VIII. BIBLIOGRAFÍA	55
APENDICE 1. Protocolo de la prueba de Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB).	67
APENDICE 2. Protocolo de la prueba de ELISA – Ag	70
INDICE	74

RESUMEN

El estudio tuvo por objetivo determinar el efecto de la edad sobre el modelo de infección experimental oral para cisticercosis porcina. Dieciocho porcinos provenientes de granjas comerciales negativos a la prueba de EITB de 1, 3 y 5 meses de edad fueron infectados por vía oral con un proglótido y evaluados serológicamente en forma periódica. Doce semanas después, los porcinos fueron necropsiados y se cuantificó el número de quistes intactos y degenerados presentes en el total de la musculatura esquelética, corazón y lengua. La viabilidad de los cisticercos intactos fue evaluada mediante la prueba de evaginación *In Vitro*. El número de cisticercos fue transformado a grado de infección mediante el análisis de clusters. Se utilizó la prueba de Kruskal Wallis para determinar diferencias y la prueba de correlación de Spearman para determinar el grado de asociación entre las variables edad e infección. Se encontró que la edad influía sobre el número de cisticercos viables y el grado de infección que alcanzan los porcinos infectados ($p=0.0079$) y se observó una correlación inversa de -0.83 entre estas variables ($p=0.0001$). Se demostró que la prueba de EITB solamente determina exposición a huevos de *Taenia solium* y que es necesario utilizar una prueba de detección de antígenos para aseverar que se ha alcanzado un modelo de infección experimental con cisticercosis viable.

Palabras Claves: cisticercosis, modelo animal, infección experimental, *Taenia solium*

SUMMARY

The aim of this study is to determine the effect of age upon the swine cysticercosis oral experimental infection model. Eighteen pigs from commercial farms, negative to EITB (Electro immune Transfer Blot Assay) test, of ages one, three and five months old, were orally infected with one proglottid and periodically evaluated by serology. After twelve weeks the pigs were necropsied and healthy and degenerated cysts were recover for the whole skeletal musculature, heart and tongue. The viability of the healthy Cysticerci was evaluated by the *In vitro* evagination test. The number of Cysticerci was transformed by degree of infection using cluster analysis. The Kruskall Wallis test was performed to find differences and the Spearman coefficient test to determine the degree of association between the variables of age and infection. Age influenced the number of viable Cysticerci and the infection level that infected pigs reached ($p = 0.0079$) with an inverse correlation of -0.83 between these variables ($p = 0.0001$). It was confirmed that the EITB test was only capable to determine exposure to *Taenia solium* eggs, it is necessary to use an antigen detection test, to confirm that we have reach an experimental infection model with viable cysticercosis.

Key words: Cysticercosis, animal model, experimental infection, *Taenia solium*

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag	Antígeno
DNA	Ácido Desoxiribunucleico
EITB	Electro Inmuno Transferencia Blot
ELISA	Siglas en inglés de Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay; Ensayo Inmuno Enzimático
Ig	Inmunoglobulina
Kd	Kilo Daltons
LCR	Líquido cefalorraquídeo
NCC	Neurocisticercosis
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PBS	Buffer salino fosfato
RM	Resonancia Magnética
SNC	Sistema Nervioso Central
TAC	Tomografía Axial computarizada

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de estudios de prevalencia y casos de teniosis por <i>T. solium</i> realizados en diferentes ciudades del Perú	8
Tabla 2. Reportes públicos (estudios) de cisticercosis porcina en diferentes camales del Perú.	10
Tabla 3. Resumen de estudios de seroprevalencia de cisticercosis porcina en el Perú	11
Tabla 4. Resultados a la prueba de EITB en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de <i>T. solium</i> al 1º, 3º y 5º mes de edad	37
Tabla 5. distribución de quistes observado a la necropsia en diferentes órganos de porcinos infectados por vía oral con un proglótido de <i>T. solium</i> al 1º, 3º y 5º meses de edad	41
Tabla 6. Número de quistes intactos y degenerados observado a la necropsia en órganos de porcinos infectados por vía oral con un proglótido de <i>T. solium</i> al 1º, 3º y 5º mes de edad	42
Tabla 7. Proporción de quistes intactos y degenerados observado a la necropsia en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de <i>T.</i>	43

solium al 1º, 3º y 5º mes de edad

Tabla 8. Resultados de la prueba de evaginación de cisticercos intactos de porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º mes de edad 44

Tabla 9. Resultados del análisis de agrupaciones para determinar grado de infección en quistes intactos y degenerados de porcinos infectados con un proglótido de *T. solium* al 1, 3 y 5 mes de edad 45

Tabla 10. Grado de infección a la necropsia en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º mes de edad 46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Niveles de antígeno circulante en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de <i>T. solium</i> al 1er mes de edad	38
Figura 2. Niveles de antígeno circulante en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de <i>T. solium</i> al 3er mes de edad	39
Figura 3. Niveles de antígeno circulante en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de <i>T. solium</i> al 5to mes de edad	40

LISTA DE APENDICES

Apéndice 1. Protocolo de la prueba de Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB)	67
Apéndice 2. Protocolo de la Prueba de ELISA – Ag	70

I. INTRODUCCIÓN

La cisticercosis es una enfermedad zoonótica que se encuentra muy difundida en nuestro país y afecta principalmente a los animales criados en forma artesanal o por pastoreo. En la práctica de crianza porcina, las pobres condiciones sanitarias y la falta de conocimiento de la enfermedad, deviene en una situación aparente para el mantenimiento del ciclo de vida de *Taenia solium*, cuya forma larvaria, el *Cysticercus cellulosae*, constituye un grave problema económico para los dueños de los animales afectados y un serio problema de salud pública para la población en general.

Se ha estudiado mucho a esta enfermedad, especialmente el aspecto de su distribución epidemiológica. Estudios serológicos realizados en las diferentes regiones del Perú muestran una seroprevalencia de cisticercosis porcina variable que van desde zonas endémicas de baja prevalencia como Monteredondo - Piura con 5.18% (Gavidia, 1993) hasta áreas hiperendémicas como Quilcas – Huancayo con 72% de porcinos seroreactores (Bernal, 1996).

La mayoría de los esfuerzos por controlar esta enfermedad han fracasado. La inspección de las canales de los porcinos y su confiscación en los camales (Matías *et al.*, 1983) no ha tenido éxito debido a las costumbres (beneficio a traspatio) y la alta prevalencia de la enfermedad (alto número de animales confiscados). Esto ha creado mecanismos de comercialización informales (González *et al.*, 1993),

favoreciendo el mantenimiento y difusión de la enfermedad. Respecto al control de la teniosis en el hombre, los programas se dedican a detectar y tratar a los portadores del parásito adulto o al tratamiento masivo de una población en regiones endémicas (Pawlovsky, 1987), los que no siempre llegan a coberturas suficientes como para evitar la renovación del ciclo biológico de la *Taenia solium*.

La difusión geográfica y la alta prevalencia de esta enfermedad, así como su repercusión económica y sobre la salud pública hace necesario investigar profundamente novedosos mecanismos de control y/o erradicación de esta enfermedad. La vacunación podría representar una alternativa, la cual estaría dirigida a proteger al hospedero intermediario para evitar la infección con huevos de *T. solium*.

El desarrollo de una vacuna necesita contar con un modelo animal experimental de infección con cisticercosis en el que se evalúe dicha alternativa. Los estudios de modelos de infección han pasado por determinar la mejor vía de infección, para lo cual se hicieron estudios evaluando la vía intraperitoneal, oral, intravenosa e intramuscular (Verástegui *et al.*, 2000), llegando a la conclusión posterior de que la mejor vía de infección es la natural, es decir la vía oral (González, datos por publicar). Posteriormente se estandarizó la dosis de infección y se determinó que la cantidad de un proglótido es la mejor, pues proporciona un elevado nivel de infección en los animales modelos (Silva, 2004).

En los experimentos no siempre se ha trabajado con animales de la misma edad. En los estudios anteriores (vías de infección y dosis de infección) se han observado la presencia de cisticercos en vías de degeneración en algunos animales. Estos resultados llevan a pensar que la edad de infección podría estar asociada a este evento, por lo que se hace necesario discriminar su efecto en los modelos de infección experimental.

La búsqueda de un modelo animal de infección eficiente y confiable para futuros estudios en cisticercosis motiva el presente estudio, el que tiene como objetivo determinar la influencia de la edad del modelo animal de cisticercosis sobre

la cantidad y calidad de los cisticercos en porcinos infectados experimentalmente por vía oral empleando un proglótido de *T. solium*.

II. ANTECEDENTES

2.1. GENERALIDADES

La cisticercosis porcina es una enfermedad zoonótica parasitaria producida por la forma larvaria de *T. solium*, denominada *Cysticercuss cellulosae*. El hospedador intermediario es el cerdo y el hombre el hospedador definitivo (García *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000). Es importante indicar que en la actualidad no se habla de cisticercosis y teniosis como entidades independientes, sino del complejo teniosis/cisticercosis (Schantz, 1999).

Los antecedentes de la cisticercosis como enfermedad en los porcinos se remontan a los tiempos antiguos. En el siglo IV AC, Aristófanes en su tratado “Historia de los animales” describe la presencia de la cisticercosis en la lengua y músculo de cerdos (Lasso, 1994) y posteriormente, Plinio (25-79 AC) le da el nombre de *Taenia* (del griego tainia que significa cinta o banda) a la forma adulta del parásito (Cordero del Campillo e Hidalgo, 1999).

El estudio científico y el conocimiento de la relación entre *C. cellulosae* del porcino y la *T. solium* del hombre se debe a Kuchenmeister y Leuckart. En 1895 y 1896, ellos demostraron experimentalmente el desarrollo de la *T. solium* del hombre al hacer ingerir cisticercos vivos a reclusos condenados a muerte, encontrando en el intestino de los ejecutados tenias mas o menos desarrolladas (Grove, 1990).

El complejo teniosis / cisticercosis es importante en salud pública debido a que el hombre, además de padecer la teniosis, también desarrolla la cisticercosis cuando accidentalmente consume huevos viables de *T. solium* (Acha y Szyfres, 1996). Estas larvas se alojan principalmente en el sistema nervioso central (SNC) y producen la llamada neurocisticercosis (NCC), la que puede causar graves discapacidades neurológicas que incluso podría llevar a la muerte (Del Brutto, 1999).

La cisticercosis ha sido identificada en todo el mundo y es mucho más frecuente en países en vías de desarrollo donde los factores socioeconómicos y culturales juegan un papel importante en su presentación (Acha y Szyfres, 1996). La infección por la larva de *T. solium* se ve favorecida principalmente por la crianza no tecnificada de porcinos que permite que estos animales deambulen sueltos en busca de alimento. A esto se suma la poca costumbre de usar letrinas, la ausencia de servicios y el fecalismo al aire libre permitiendo que los porcinos se pongan en contacto con excretas humanas, conteniendo proglótidos o huevos, de individuos con *T. solium* (Náquira, 1999; OPS/OMS, 1994)

2.2. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PARÁSITO

2.2.1. *Taenia solium*

T. solium es un cestodo que posee en el escólex (cabeza), a la altura del rostelo, una doble corona de ganchos chicos y grandes en número de 22 a 32 miden 110 a 140 y 160 a 180 micras, respectivamente. Además, posee cuatro ventosas hemisféricas de 0.4 mm de diámetro (Borchert, 1981). El escólex mide 1 mm de diámetro y todo el parásito completo de 2 a 3 m de longitud (Tagle, 1984). Después del escólex sigue el cuello que es corto de aproximadamente la mitad del grosor del escólex. En seguida del cuello están los proglótidos inmaduros, maduros y grávidos que en número de 800 a 1000 forman la cadena estrobilar. Los proglótidos grávidos miden 1 cm de largo por 0.7 de ancho (Náquira, 1999; Borchert, 1981).

Los huevecillos de esta tenia son de color café, de forma casi esférica (Lapage, 1986), miden entre 40 a 42 micras y están rodeados de una cáscara embrionaria delgada, cutícula y una membrana interna (30 a 36 micras de grosor). La membrana interna que es ligeramente parduzca y estriada radialmente, rodea a la oncósfera o embrión hexacanto que mide 20 micras de diámetro (Borchert, 1981) y está provisto de 6 ganchos (Náquira, 1999).

2.2.2. *Cysticercuss cellulosa*

C. cellulosa, la fase larvaria de la *T. solium*, se desarrolla como una vesícula esférica o alargada que se ubica entre las fibras del músculo afectado y cuyo contenido es un líquido de aspecto acuoso y transparente (Cordero del Campillo e Hidalgo, 1999). Su tamaño varía de acuerdo con el grado de desarrollo. A los 110 días, ya totalmente desarrollado llega a tener dimensiones de 20 por 10 mm. El escólex en el cisticercos posee cuatro ventosas y las dos hileras de ganchos característicos del adulto (Lapage, 1986) y externamente se encuentra revestido por una delicada membrana llamada *Tunicae cellulosa* (Cordero del Campillo e Hidalgo, 1999).

El *Cysticercus racemosus* es otra forma de presentación de la fase larvaria de la *T. solium* que se desarrolla en el cerebro y denominada “forma racemosa” (Del Brutto, 1999). Tiene aspecto de racimo de uvas, carece de membrana y de escólex; y se caracteriza por su gran longevidad estimada hasta en 15 años. Esta forma es exclusiva de la cisticercosis humana y frecuentemente se desarrolla en las cavidades internas del cerebro, llegando a medir 15 cm de longitud en promedio (Borchert, 1981).

2.3. CICLO DE VIDA DEL PARÁSITO

El ciclo de vida natural del complejo teniosis / cisticercosis involucra al hombre como único hospedero definitivo de *T. solium* y al cerdo, hospedero intermediario, como fuente de infección para el hombre al albergar al *C. cellulosa* (Quiroz, 1997). No obstante el hombre puede actuar como hospedero

“intermediario” accidental cuando se infecta con cisticercos por ingesta accidental de huevos de *T. solium* (Nash y Neva, 1984; Matías et al., 1983).

El hombre, parasitado con *T. solium*, elimina con las heces huevos o proglótidos grávidos. Los huevos y/o proglótidos al ser ingeridos por los cerdos llegan al tubo digestivo donde las oncósferas son liberadas por acción de los jugos digestivos. Una vez libres, las oncósferas se adhieren a la mucosa y luego penetran en la pared intestinal para alcanzar los vasos sanguíneos o linfáticos. Ya en esta vía, las oncósferas se dispersan por todo el organismo, siendo de mayor importancia para el ciclo evolutivo su localización en la musculatura del cerdo, donde se desarrollará la larva o cisticerco, al cabo de 8 a 10 semanas (Náquira, 1999; Nash y Neva, 1984; Quiroz, 1997; Matías et al., 1983).

El hombre adquiere la infección y desarrolla la tenia al ingerir carne porcina infectada, insuficientemente cocida y con cisticercos viables. El cisticerco llega al estómago y luego al intestino delgado, donde por acción de los jugos gástricos y biliares, el escólex evagina y se fija en la mucosa intestinal dando inicio al desarrollo de la tenia adulta que puede llegar a medir entre 2 a 5 metros y algunas veces hasta 8 (Matías et al., 1983; Faust, 1984; Tagle, 1984; Quiroz, 1997).

La cisticercosis en el hombre se produce al ingerir accidentalmente los huevos de *T. solium* al ingerir alimentos o aguas contaminadas con heces de personas infectadas o por vía fecal – oral por falta de higiene en las manos de portadores de la tenia adulta (Cordero del Campillo e Hidalgo, 1999; Quiroz, 1997). Al pasar por el tubo digestivo, las oncósferas son activadas, penetran en la pared intestinal y a través de los vasos sanguíneos o linfáticos llegan a diferentes órganos, en donde se transforman en cisticercos. Este proceso demora alrededor de dos o tres meses. Cuando los cisticercos se ubican en el SNC se desarrolla la NCC (Náquira, 1999; Reyes, 1996)

2.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA TENIOSIS Y CISTICERCOSIS

2.4.1. Epidemiología de la Teniosis

La infestación con *T. solium* es importante en países consumidores de cerdo y está restringido principalmente a regiones de bajo desarrollo socioeconómico. La enfermedad es endémica en Latinoamérica, África del Sur, el Sudeste asiático y el sub continente indio. La infestación es frecuente en zonas donde los pueblos no tienen instalaciones sanitarias adecuadas y los cerdos buscan alimento en lugares contaminados con heces humanas (Soulsby, 1987).

La teniosis se distribuye en variados niveles en las diferentes regiones de nuestro país. En estudios epidemiológicos de campo, la prevalencia varía entre el 1 al 8%. En la tabla 1 se resume los resultados encontrados en los últimos años en diferentes estudios realizados en nuestro país y reportes de hospitales.

Tabla 1. Resumen de estudios de prevalencia y casos de teniosis por *T. solium* realizados en diferentes ciudades del Perú.

Lugar de Estudio	Proporción	Referencia de la Publicación
Maceda - Churusapa	1% (¿?)	García et al., 1999
Jaén-Cajamarca	2% (13/587)-3% (7/230)	Pareja y Zamora, 2000 a, b
Bagua-Amazonas	5% (9/195)	Pareja y Zamora, 2000c
Caylloma-Arequipa	3% (10/333)	Alvarado et al., 2000
Cajamarca-Cajamarca	1% (2/354)	Villavicencio et al., 2000
Seis villas de Puno	2% (2/91)	Maco et al., 2000
Matapalo-Tumbes	3% (7/252)	Guezala, 2001
Queb. Seca-Tumbes	8% (8/99)	Guezala, 2001
Hospitales de Trujillo	17% (655/3854)	Escalante et al., 2000
Hosp. Hipólito Unanue	45 casos en 1999	Gonzáles et al., 2000

2.4.2. Epidemiología de la Cisticercosis Humana

La cisticercosis en el hombre tiene predilección por el SNC y se denomina comúnmente como NCC. Esta enfermedad representa un serio problema de salud

en la mayoría de países subdesarrollados, incluyendo el Perú, y representa la principal causa de epilepsia en adultos (García *et al.*, 1993).

La presentación de esta enfermedad alcanza niveles tales como 993 a 1136 de cada 100,000 necropsias en hospitales generales (aproximadamente el 1%) (Escalante 1977; Rojas 1983), cantidad que inclusive se considera por debajo del nivel real debido a las deficiencias logísticas que se cuentan para su registro. La NCC es reconocida como una causa común de enfermedad neurológica en países desarrollados como Estados Unidos y es causada por la inmigración de personas a partir de zonas endémicas (Clinton, 2000). Esta parasitosis representa un serio problema de salud pública y alcanza niveles hasta del 10% de los pacientes neurológicos agudos (Herrera, 1996; Herrera, 1999). En el Perú más del 12% de las camas hospitalarias de neurología están ocupadas por pacientes con NCC (Herrera, 1996; Herrera, 1999).

2.4.3. Epidemiología de la Cisticercosis Porcina

El problema de la cisticercosis porcina ha dejado de ser considerada, solamente como una patología parasitaria, para ser enfrentada como un problema de importancia social. En nuestro país la crianza porcina familiar es común, y por lo general se realiza en malas condiciones de higiene que permiten el acceso de los animales a todo tipo de desechos orgánicos e incluso a heces humanas. En zonas rurales donde hay ausencia de letrinas, el ambiente está contaminado con heces y en áreas donde se crían y comercializan porcinos, más del 1% de la población humana es portadora de *T. solium* o *Taenia saginata* y la cisticercosis porcina supera el 20% (Náquira, 1999).

La dependencia económica de los campesinos a la crianza de cerdos ha devenido en la creación de sistemas de crianza y comercialización que favorecen la dispersión de *T. solium*, debido principalmente a que los mataderos oficiales han dejado de ser utilizados para ser reemplazados por mataderos clandestinos o de traspatio, evitando de esta manera el decomiso de la carne infectada (González *et al.*, 1996b). Sin embargo aún se puede conseguir información de la presentación de

cisticercosis en camales donde existe inspección veterinaria en forma rutinaria, tal como se resume en la tabla 2.

Tabla 2. Reportes públicos (estudios) de cisticercosis porcina en diferentes camales del Perú.

Lugar de Estudio Camal	Proporción	Referencia de la Publicación
Trujillo (La Libertad)	10%	Mejía, 1995
Ayacucho	6%	Maraví, 1993
Municipal de Cajamarca	5%	Torres y Rimarachin, 1991
Municipal de Cajamarca	0.12%	Arévalo y Alva, 2001

En camales donde no existe la inspección veterinaria, los niveles de enfermedad suelen ser elevados, como lo demuestra un estudio realizado en Tarapoto donde se encontró una prevalencia del 30% (Llontop, 1980)

La distribución epidemiológica de la cisticercosis ha sido estudiada con profundidad en el Perú. Estudios serológicos realizados en diferentes regiones nos muestran una seroprevalencia de cisticercosis porcina variable que abarcan desde zonas endémicas de baja prevalencia hasta áreas hiperendémicas. La tabla 3 resume los estudios de seroprevalencia realizados por el Grupo de Cisticercosis del Perú en los últimos años.

Los estudios epidemiológicos han demostrado que los valores de prevalencia en cerdos se ven afectados por diversos factores, tales como: grado de contaminación ambiental, dispersión de los huevos, supervivencia de los huevos, edad del hospedador y respuesta inmune del hospedador (Schantz *et al.*, 1999), de allí que se observe rangos de infección amplios.

Tabla 3. Resumen de estudios de seroprevalencia de cisticercosis porcina en el Perú.

Año de Estudio	Lugar de Estudio	% (n/N)	Referencia de la Publicación
1989	Churusapa (San Martín)	49 (43/87)	García <i>et al.</i> , 1999
1990	Haparquilla (Cuzco)	46 (51/110)	García <i>et al.</i> , 1999
1991	Maceda (San Martín)	43 (57/133)	Castro, 1991
1993	Saylla (Cuzco)	43 (19/55)	Ramos, 1994
1993	Monte Redondo (Piura)	5 (3/59)	Gavidia, 1993
1996	Quillcas (Junín)	72 (412/584)	Bernal, 1996
1996	Canchayllo (Junín)	42 (73/173)	Morales, 1996
1999	Anaccma (Andahuaylas)	47 (48/105)	Ramos, 1999
1999	Occlo (Andahuaylas)	16 (19/118)	Ramos, 1999
2001	Isla Noblecilla (Tumbes)	41 (9/22)	Mena, 2002
2001	Nuevo Progreso (Tumbes)	36 (85/236)	Mena, 2002
2001	Quebrada Seca (Tumbes)	38 (18/47)	Mena, 2002
2001	Tutummo (Tumbes)	16 (45/276)	Mena, 2002
2001	Matapalo (Tumbes)	48 (88/185)	Mena, 2002
2002	Matapuquio (Andahuaylas)	54 (46/87)	Aybar, 2002
2002	Turpo (Andahuaylas)	72 (61/86)	Aybar, 2002
2002	Nueva Esperanza (Andahuaylas)	27 (34/131)	Aybar, 2002
2003	Ventanilla (Callao)	18 (55/299)	Turín, 2004

2.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD

2.5.1. Teniosis y Cisticercosis en el Hombre

La teniosis es una enfermedad exclusiva del hombre, el que generalmente es portador de una sola tenia por lo que comúnmente se le ha denominado tenia “solitaria” (Borchert, 1981) a pesar que algunos han observado casos de infecciones plurales. El potencial biótico de este parásito es muy elevado, pudiéndose encontrar alrededor de 40,000 huevos/proglótido (Cordero del Campillo e Hidalgo, 1999).

Los signos y síntomas debido a la parasitosis son comunes y poco específicos. La tenia adulta causa irritación en la mucosa del intestino delgado (Lapage, 1986) y las manifestaciones clínicas son variables. Es posible observar nerviosismo, insomnio, anorexia, pérdida de peso y dolores abdominales además de trastornos digestivos (Chin, 2001) como diarrea, estreñimiento y dolor epigástrico

(Schantz *et al.*, 1999). Incluso, se ha sugerido que la principal consecuencia de la teniosis en la salud podría ser la desnutrición, aunque no ha sido demostrada en forma concluyente (Sarti *et al.*, 1997).

La NCC es la consecuencia mas importante del consumo accidental de huevos de *T. solium* por el hombre. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad se encuentran asociadas al número, tamaño, localización y forma (quística o racemosa) de los cisticercos, además de la respuesta inmune del hospedero. La variedad de factores asociados a esta enfermedad, da lugar a una compleja gama de respuestas que abarca prácticamente todo el espectro de la sintomatología neurológica, desde formas asintomáticas hasta cuadros de muerte súbita por bloqueo del sistema ventricular (Martínez *et al.*, 2000).

El cisticerco en el SNC puede permanecer por décadas sin que se presente síntoma alguno ni respuesta inflamatoria. Sin embargo, en algunos casos el sistema inmune del hospedero inicia una reacción inflamatoria que produce cambios dentro del parásito y en el sistema nervioso adyacente (Del Bruto y Sotelo, 1988). La reacción inflamatoria lleva al cisticerco a un proceso degenerativo que terminará en su muerte y posterior calcificación (Del Bruto, 1999).

En el SNC se distingue dos tipos de cisticercosis: vesicular y racemosa. La forma vesicular presenta quistes o vesículas de forma redonda u oval con una pared translúcida y un diámetro que varía entre 0.5 a 1.5 cm y dentro presenta un fluido que contiene al escólex. El cisticerco es rodeado por una delgada capa de tejido fibroso que lo separa del tejido circundante. La cisticercosis racemosa es una variedad que se observa como una vesícula larga y lobulada similar a un racimo de uvas. Esta puede llegar a medir hasta 10 cm. y contener varios mililitros de fluido. Se observa generalmente en las cavidades ventriculares y las cisternas localizadas en la base del cráneo. El escólex puede ser demostrado sólo histológicamente (Náquira, 1999).

En los casos con moderada y severa infestación, además de crisis de tipo epiléptico se puede encontrar signos deficitarios. Muchos de los casos observados con infestación por cisticercosis masiva presentaron inicialmente signos de hipertensión intracraneal y un cuadro confuso alucinatorio; en alguno de ellos,

ocurrieron hemiparesia y crisis epilépticas focales. Cuando los quistes se ubican en el parénquima cerebral y/o los ventrículos, según su tamaño y el grado de lesión obstructiva que produzcan, pueden dar lugar a la llamada “hidrocefalia interna”, con síntomas intermitentes. Los quistes dentro de los espacios ventriculares se fijan en la tela endotelial o están libres flotando en el líquido cefalorraquídeo, pudiendo causar efecto de válvula que en muchas ocasiones producen crisis agudas y fatales de hipertensión intra-craniana y en otras crisis ondulantes y súbitas que ceden rápidamente al sacudir la cabeza (Lobato *et al.*, 1981). El III y IV ventrículo son los que frecuentemente alojan cisticercos, siendo probable por ello la solución quirúrgica. En los últimos años, se ha intentado tratamiento parasiticida (Proaño *et al.*, 1997).

2.5.2. Cisticercosis en el Cerdo

La cisticercosis porcina se localiza en músculos esqueléticos, cerebro, lengua y corazón. Cuando la infección es muy intensa es posible que se encuentren quistes en el globo ocular, hígado, riñón, pulmón, médula espinal, ganglios linfáticos y tejido conjuntivo subcutáneo (Quiroz, 1997; Lapage, 1986).

Los signos clínicos en porcinos son difíciles de observar salvo en casos en que la infección es muy intensa; en este caso se observa parálisis de la lengua y el maxilar inferior o dificultad en la marcha. Si el cerebro tiene un gran número de quistes se puede observar torpeza y encefalitis y finalmente la muerte. Debido a la utilidad que se les da a los cerdos en la crianza casera éste no vive lo suficiente para que los signos descritos sean observados (Borchert, 1981)

La condición corporal de los cerdos afectados con cisticercosis no se ve afectada. Los cerdos con niveles de infección elevada pueden presentar un buen estado de gordura mientras que otros libres de la enfermedad podrían presentar una pobre condición. Aunque la respuesta a la condición corporal se relaciona básicamente a la calidad de la alimentación y no a la infección con cisticercos, por lo general los animales con cisticercosis provienen de zonas con alta incidencia de otras parasitosis lo cual afecta el estado general del animal (Tagle, 1984)

2.6. IMPACTO ECONÓMICO DEL COMPLEJO TENIOSIS / CISTICERCOSIS

La cisticercosis es causante de la pérdida de entre 40 a 50 dólares por animal en el Perú. Los animales diagnosticados positivos a la prueba de lengua, son rechazados por los compradores y los dueños se ven en la necesidad de vender el animal hasta en un tercio de su valor original a fin de no perder su inversión (González *et al.*, 1993). Si se aplicase este estimado al conjunto de países que son afectados por esta parasitosis en América Latina, la pérdida económica anual correspondería aproximadamente a 164 millones de dólares americanos (Schantz *et al.*, 1999).

En un estudio de comercialización de cerdos realizado en el Perú en 1989 se demostró que de las 65 000 TM de carne porcina que se consumieron durante ese año, 29 250 TM (45%) provenían de la matanza clandestina y de estos últimos 11 700 TM (40%) estaban afectados por cisticercosis. Esto implica una pérdida calculada en más de 5 millones de dólares anuales (González *et al.*, 1993).

En el caso de cisticercosis humana, las pérdidas económicas son cuantiosas debido a la gravedad de los cuadros neurológicos, la larga evolución de la enfermedad, así como la incapacidad física y psíquica que produce. La NCC implica grandes pérdidas por tratamiento, intervenciones quirúrgicas y hospitalización (Acha y Szyfres, 1996; Flisser *et al.*, 1999; Velazco-Suárez *et al.*, 1982). En México, se ha calculado que la cisticercosis le cuesta a esta nación un total de 20 millones de dólares americanos anuales en hospitalización y tratamiento de los casos de NCC (Flisser, 1988).

2.7. DIAGNÓSTICO DE LA CISTICERCOSIS

2.7.1. Diagnóstico de Teniosis en el Hombre

Las técnicas clásicas de diagnóstico de la teniosis dependen de la detección de material del parásito (proglótidos o huevos) en las heces (Allan *et al.*, 2003). Las pruebas de diagnóstico como el análisis copro parasitológico son sencillas y

relativamente baratas, pero no son muy sensibles ni específicas (Schantz y Sarti, 1989). Además, los huevos de *T. solium* y *Taenia saginata* son idénticos bajo la luz del microscopio conllevando a problemas con el diagnóstico de la especie (Allan *et al.*, 2003).

Las pruebas de ELISA para detección de coproantígenos desarrolladas en base a anticuerpos de *T. solium* y *saginata*, han demostrado ser específicas, ya que no presentan reacciones cruzadas con otros parásitos gastrointestinales. El problema de esta prueba es que no discrimina entre ambas tenias (Allan, 1999).

Últimas investigaciones revelan la capacidad de diagnosticar teniosis basadas en detección de DNA. Estas pruebas han mostrado ser capaces de diferenciar estos parásitos con un alto grado de seguridad basados en la recuperación de pequeñas cantidades de material del parásito (Mayta *et al.*, 2000). El diagnóstico serológico de infección intestinal por *T. solium* también ha sido descrito y muestran que es posible detectar anticuerpos circulantes especie específicos mediante el EITB (Wilkins *et al.*, 1999)

2.7.2. Diagnóstico de Cisticercosis en el Hombre

2.7.2.1. Diagnóstico Clínico

- a. Oftalmocisticercosis- Haciendo uso de un oftalmoscopio, se realiza el examen de fondo de ojo el cual permite ver el levantamiento de la retina, el desgarro y las hemorragias, el proceso inflamatorio y, en ocasiones, al mismo cisticerco vivo, el cual se mueve libremente, evaginando el escólex ocasionalmente cuando se encuentra en el humor vítreo (OPS/OMS, 1993).
- b. Cisticercosis subcutánea y muscular.- El diagnóstico se confirma en base a parasitoscopia, mediante la extirpación quirúrgica de la tumoración y su examen por el método de compresión o por estudio histopatológico (OPS/OMS, 1993).

2.7.2.2. Diagnóstico por Imágenes

Los estudios de Tomografía Axial Computarizada (TAC) y de Resonancia Magnética (RM) del cerebro, han sido en años recientes los procedimientos más útiles para el diagnóstico de la NCC (OPS/OMS, 1993).

La TAC permite visualizar formas quísticas, generalmente diseminadas en el parénquima cerebral. Igualmente, se observara el grado de hidrocefalia y el edema cerebral reaccional. Los hallazgos que el escáner cerebral proporciona suelen ser distintos, según el momento de la etapa evolutiva en que se encuentra el parásito. Si bien es cierto que la TAC es un recurso valiosos para el diagnóstico de la NCC, es mejor usarla conjuntamente con alguna prueba serológica como la Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB), y correlacionar los resultados con el cuadro clínico general del paciente (Atías, 1994, García, 1994).

En los últimos tiempos, se ha comprobado que la RM presenta algunas ventajas sobre la TAC, entre ellas las siguientes: a) detección de etapas iniciales de la infección, cuando los embriones se están desarrollando en los tejidos, b) reconocimiento de quistes isointensos, no son fácilmente detectables mediante TAC, c) visualización de escólex y quistes intraventriculares en ocasiones e información sobre la viabilidad del quiste, según la intensidad de la imagen del contenido quístico (OPS/OMS, 1993). Sin embargo, debe señalarse que, lamentablemente, el alto costo de los equipos requeridos para la TAC y la RM, limita su disponibilidad, por lo que no todos los médicos y pacientes tienen acceso a estos, especialmente en los países en vías de desarrollo (Nash y Neva, 1984).

2.7.2.3. Diagnóstico Serológico

Las pruebas serológicas representan una ayuda al diagnóstico por imágenes de cisticercosis cerebral humana (Escalante, 1999). Son consideradas la herramienta principal de diagnóstico clínico en muchas regiones endémicas de países en desarrollo (Gutiérrez-Quiroz, 1989; Nash y Neva, 1984), ya que mediante ellas se puede realizar el diagnóstico diferencial entre una lesión por cisticercosis y otra de apariencia similar (Escalante, 1999). Entre las principales pruebas serológicas se encuentran:

- a. Ensayo Inmuno Enzimático Ligado a Enzimas (ELISA).- Es la técnica mas usada para el serodiagnóstico de cisticercosis. Esta prueba posee 70% de sensibilidad y 73% de especificidad, debido a que hace reacción cruzada con la forma larvaria del *Echinococcus granulosus* (Pathak *et al.*, 1994).
- b. Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB).- Esta prueba emplea un antígeno proteico purificado por su afinidad cromatográfica con lecitinas, en el que se consideran 7 bandas glicoproteicas comúnmente reconocidas por anticuerpos de pacientes con cisticercosis. Estas bandas glicoproteicas tienen pesos moleculares de 50, 42-39, 24, 21, 18, 14 y 13 kD. La reacción a una o todas las 7 bandas glicoproteicas es considerado indicativo de cisticercosis o al menos de exposición. Esta prueba tiene alta sensibilidad (98%) y especificidad (100%) para detectar anticuerpos de *T. solium* en suero y LCR (Tsang *et al.*, 1989a).
- c. ELISA para detección de antígenos circulantes.- numerosas pruebas se han desarrollado para detectar antígenos de *T. solium* pero sólo la que utiliza anticuerpos monoclonales puede asegurar especificidad (Harrison *et al.*, 1999). La detección de antígeno puede realizarse tanto en suero como en líquido céfalo raquídeo (García *et al.*, 1998, García *et al.*, 2000).

El problema que se puede encontrar a las pruebas serológicas que detectan anticuerpos es el hecho de que un resultado positivo puede estar indicando solo exposición a la infección, pero no necesariamente infección activa (Harrison *et al.*, 1989). Además, los anticuerpos pueden persistir por largo tiempo después que los parásitos han sido eliminados por mecanismos inmunes y/o terapia antiparasitaria (Harrison *et al.*, 1989; García *et al.*, 1997).

2.7.3. Diagnóstico de Cisticercosis en Cerdos

2.7.3.1. Examen de Lengua

Este examen se realiza comúnmente e zonas donde existe la enfermedad y se utiliza para discriminar la presencia de cisticercosis en los cerdos, previo a una transacción comercial. Este examen consiste en la palpación de los nódulos y/o identificación visual de los cisticercos. Para ello, se sujeta el animal, se le introduce

un palo en forma transversal en el hocico para mantenerlo abierto y se jala la lengua usando una tela. Los criterios utilizados para el diagnóstico son: a) la observación de los quistes en la superficie de la lengua, b) la palpación de la lengua y su base y c) la observación de los cisticercos o rasgos que sugieran que fueron extraídos (práctica muy común). Este método es relativamente sensible (87%) y altamente específico (99%) para detectar cisticercosis porcina. La ventaja de este examen es que es fácil de aprender y es de gran utilidad como método de evaluación grosera en países con cisticercosis porcina (González *et al.*, 1993).

2.7.3.2. Inspección de la canal

El diagnóstico en camales se realiza haciendo cortes en los músculos (serrato dorsal, psoas, gracilis, macetero, diafragma y corazón) y vísceras del cerdo (pulmón, hígado) en búsqueda de cisticercos. El problema es que si no se realiza el examen de manera cuidadosa, los cisticercos podrían pasar desapercibidos en la canal, principalmente cuando existen infecciones leves (González *et al.*, 1990).

Un problema adicional es el hecho que aquellos criadores que sufrieron decomiso de sus canales infectadas, no regresan a los camales y en el futuro benefician en forma artesanal o casera después de lo cual los animales, infectados o no, son comercializados en forma informal o clandestina. Por esta razón, se concluye que el diagnóstico de cisticercosis en la canal de cerdos es de utilidad epidemiológica limitada (González *et al.*, 1999).

2.7.3.3. Diagnóstico Serológico

Las pruebas serológicas como la de ELISA para el diagnóstico de cisticercosis porcina presenta reacciones cruzadas con otros parásitos (Flisser *et al.*, 1999), además de ofrecer valores de sensibilidad y especificidad bajos ($89 \pm 8\%$ y $61 \pm 10\%$) (González *et al.*, 1993). Por el contrario, la prueba de EITB no tiene reacciones cruzadas y es 100% específica y bastante sensible (98%) (Tsang *et al.*, 1989a; Tsang y García, 1999; Flisser *et al.*, 1999). Ambas pruebas diagnósticas permiten detectar básicamente exposición a huevos de *T. solium* mas que infección, de allí que las investigaciones se han dirigido a detectar antígeno de *C. cellulosae* a fin de comprobar el desarrollo de una infección viable o no en los cerdos.

El diagnóstico de cisticercosis porcina mediante la detección de antígenos circulantes ha logrado buenos resultados cuando se ha empleado anticuerpos monoclonales dirigidos contra el *Cysticercus bovis*, metacéstode de la *Taenia saginata* (Harrison *et al.*; 1989; Brandt *et al.*, 1992).

Los anticuerpos monoclonales fueron desarrollados contra los antígenos de secreción – excreción del *Cysticercus bovis*. Estos demostraron ser mas sensibles en la detección de la mayoría de los anticuerpos específicos en comparación con los antígenos somáticos y líquido quístico (Brandt *et al.*, 2001). Estos anticuerpos monoclonales no presentaron reacción cruzada cuando se enfrentaron a sueros de animales infectados con quiste hidatídico y *Cysticercus tenuicollis* (formas larvianas de *Echinococcus granulosus* y *Taenia hydatigena*, respectivamente) (Harrison *et al.*, 1989).

La prueba de ELISA – Ag hace uso de los anticuerpos monoclonales del isotipo IgG y tiene una sensibilidad y especificidad de 92.3% y 98.7% respectivamente para el diagnóstico de cisticercosis bovina (Van Kerekhoven *et al.*, 1998), valores que se mantuvieron al ser estandarizada para el diagnóstico de cisticercosis porcina en el Perú, lo que permite resaltar su alto poder discriminatorio entre exposición e infección con larvas de *T. solium*.

2.8. TRATAMIENTO DE LA CISTICERCOSIS

2.8.1. Tratamiento en Humanos

Durante mucho tiempo el tratamiento de la NCC estuvo dirigido solamente a controlar la sintomatología producida por la enfermedad, utilizando drogas anti-convulsivas, esteroides y derivaciones de líquido cefalorraquídeo o craneotomías descompresivas, curativas solamente en el caso de la cisticercosis del IV ventrículo. Desde inicios de la presente década se han ensayado diversos tratamientos específicos encaminados a la muerte del parásito. Las principales drogas cisticidas usadas en humanos en la actualidad son el praziquantel y el albendazole (Del Brutto *et al.*, 1993; García *et al.*, 1997).

Los primeros estudios confirmarían la utilidad del praziquantel en todas las NCC, sea como terapéutica única o sea asociada a cirugía. Las dosis promedio recomendadas son de 50mg diarios por kilogramo de peso corporal por 15 días. Para evitar la exacerbación de la sintomatología que suele producirse al comienzo del tratamiento, se recomienda que este se inicie en pacientes hospitalizados y que al praziquantel se asocie la administración de dexametasona en dosis diarias de 4 a 16mg (Martínez, 1984).

Posterior a los estudios con praziquantel se probó tratamientos con albendazole. Un estudio con 20 pacientes con diagnóstico de NCC quística parenquimatosa demostrada por TAC, se les trató con albendazole a dosis de 15mg / Kg. /día por 30 días, obteniéndose una desaparición en el número de quistes del 96%, con reacciones adversas secundarias a la destrucción del parásito que fueron fácilmente controlables con tratamiento sintomático (Ramos, 1991). Otros esquemas de tratamiento con praziquantel han sido probados encontrándose siempre resultados favorables a su uso.

En cualquier tratamiento que se realice contra la cisticercosis en el hombre, es recomendable la hospitalización del paciente bajo estrictas medidas de cuidado al menos durante la primera semana de tratamiento, cuando es frecuente que ocurran efectos secundarios. En estos casos está indicado el uso de esteroides; esto sobre todo cuando se presenta encefalitis cisticercótica y quistes sub-aracnoideos (Botero 1999). El esquema más utilizado en la actualidad es albendazole por 8 días, a dosis de 15mg / Kg. /día, en tres dosis, con administración simultánea de dexametasona (Del Brutto y Sotelo 1988).

2.8.2. Tratamiento en Porcinos

En la búsqueda de un tratamiento eficaz para la cisticercosis porcina, se han probado una serie de drogas parasitocidas. Una de las primeras drogas utilizadas fue el Flubendazol (Tellez-Giron *et al.*, 1981), que no llegó a mostrar un adecuado efecto cisticida. Posteriormente se utilizó el praziquantel (Flisser *et al.*, 1990) y albendazole (González *et al.*, 1995). Ambas drogas tienen el inconveniente de ser aplicado en múltiples dosis lo que los convierten en alternativas inadecuadas para

aplicarlas en el campo. Finalmente el oxfendazole alcanzó las características de la droga ideal para esta enfermedad. Con una dosis demostró ser eficaz y económico en el tratamiento de la cisticercosis muscular (González *et al.*, 1996a)

El oxfendazole, a dosis de 30mg / Kg., elimina el 100% de los quistes presentes en la musculatura a partir de la 4 semana post tratamiento y a las 12 semanas los quistes se han reabsorbido dejando una canal completamente higiénica (González *et al.*, 1998). Se ha demostrado también que los animales tratados con oxfendazole son resistentes a nuevas infecciones con cisticercosis (González *et al.*, 2001)

2.9. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CISTICERCOSIS PORCINA

La inspección de carnes en mataderos había resultado por años una forma efectiva de evitar la diseminación de la cisticercosis. Esta estrategia fue empleada para erradicar la enfermedad en varios países hace ya más de 100 años. Lamentablemente en nuestro país no ha alcanzado los mismos resultados y esto debido a la idiosincrasia y pobre desarrollo cultural y económico de los pobladores han hecho que aquellos criadores que llevaron sus animales al camal y sufrieron decomiso (perdiendo la totalidad del mismo por ausencia de compensación), desviarán su producción a camales clandestinos o lo realizarán en forma artesanal creando mercados paralelos para su venta y distribución (González, 1993).

El tratamiento con oxfendazole a dosis de 30mg / Kg. de peso vivo administrado en una sola dosis resultó en una alternativa novedosa y efectiva. El problema es que la droga que se ha de utilizar no se encuentra en el mercado nacional en la concentración y presentación que haga fácil su comercialización. Además, se requiere que el animal tratado deba de permanecer no menos de 2 meses al cuidado antes de ser beneficiado, lo que no siempre sucede en condiciones de campo, lo que dificulta su aplicabilidad inmediata.

Existen otras alternativas para bloquear el ciclo biológico de *T. solium*. Se puede lograr la inactivación del *C. cellulosae* de la carne porcina infectada, manteniéndola en refrigeración a -24° C durante un día, a -15° C durante 3 días o a -5° C durante 4 días y/o la cocción a punto de ebullición, antes de freír en trozos menores de 5cm. (Quiroz, 1997; Markel y Vogue, 1992; García y Ristol, 1991). La educación sanitaria constituye también un factor importante para la prevención y control, evitando que se cierre el ciclo humano – cerdo de la *T. solium* (Sarti *et al.*, 1997).

Actualmente se viene investigando la posibilidad de proteger a los cerdos mediante mecanismos de inmunización contra los huevos de *Taenia solium* y por ello, la vacuna se presenta como una alternativa eficiente para el control y/o erradicación del complejo teniosis/cisticercosis (Verástegui *et al.*, 2000; Lightowlers, 1999; González *et al.*, 2001; Evans *et al.*, 1997). Uno de los principales obstáculos que se presenta para su desarrollo es el hecho de no contar con suficiente cantidad de huevos y/o proglótidos de *T. solium* que permitan evaluar a los candidatos para inmunización, por lo cual, en forma paralela se hace necesario desarrollar modelos animales que repliquen la tenia a fin de proveerse de huevos y/o proglótidos que permitan seguir desarrollando estudios en este campo (Flisser y Lightowlers, 2001).

En el Perú, se han realizado una serie de estudio evaluando diferentes antígenos protectivos. Un estudio utilizó como animales experimentales cerdos de 3 meses (al inicio del estudio) que fueron inmunizados con antígeno crudo de oncósfera y antígeno del metacéstode. Los cerdos fueron desafiados posteriormente en forma experimental mediante la inoculación de oncósferas vía intramuscular en cantidades entre 200 y 2500 por punto de infección. El estudio demostró que los antígenos de oncósfera producen una protección total en comparación con los antígenos de metacéstode, donde se recuperó cisticercos degenerados y viables, aunque en menor proporción que el grupo control (Verástegui *et al.*, 2002). Queda por discutir si la vía de infección puede haber tenido un grado de influencia sobre los resultados.

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

No se ha hallado aún la vacuna para cisticercosis, pero a pesar de ello algunos de los candidatos han sido probados en condiciones de campo con la finalidad de controlar la enfermedad. En México se utilizó una vacuna elaborada de extracto crudo de *T. solium* y se ha reportado la disminución de la prevalencia de la enfermedad de 2.4% a 0.45% diagnosticado al examen de lengua (Molinari *et al.*, 1997). Otro estudio de campo evaluó una vacuna elaborada a partir de tres péptidos sintéticos obtenida de una proteína de *Taenia crassiceps*. Se reportó una disminución de la prevalencia de cisticercosis porcina desde un 14% a un nivel menor del 7% (Huerta *et al.*, 2001). Ambos estudios dejan suficiente información como para pensar que el uso de una vacuna permitiría proteger a los cerdos de la infección contra huevos de *T. solium* permitiendo cortar el ciclo de vida de este parásito y como consecuencia reduciría el nivel de infección, teniosis y cisticercosis, en el hombre.

2.10. APUNTES DE INMUNIDAD CONTRA CISTICERCOSIS PORCINA

La evaluación de la participación de las sub poblaciones de linfocitos T en la respuesta inmune protectora o permisiva en cisticercosis se ha llevado a cabo en diversos estudios en forma experimental. Los modelos experimentales empleados para el estudio de la cisticercosis son *Taenia Taeniaeformis* en rata y ratón, y *Taenia crassiceps* en ratón (Williams *et al.*, 1982).

El modelo de cisticercosis por *Taenia Taeniaeformis* asemeja en mucho a la infección natural. Este modelo permitió observar que la destrucción de la oncósfera

del parásito estaba mediada principalmente por anticuerpos del subtipo IgG2a y complemento (Williams *et al.*, 1982; Mitchell, 1982). En años posteriores se ha utilizado el modelo de cisticercosis por *Taenia crassiceps* en ratón para estudiar la participación de los linfocitos *Th* en esta parasitosis (Bojalil *et al.*, 1993; Villa y Kuhn, 1996).

La importancia aparente de la respuesta inmune timo-dependiente se puso en evidencia al infectar ratones BALB/c timentomizados con cisticercos de *Taenia crassiceps*, observándose un gran incremento en la carga parasitaria respecto de ratones testigo, sugiriendo la importancia de los linfocitos *Th* para limitar el desarrollo del cisticerco de *T. crassiceps* (Bojalil *et al.*, 1993).

Una serie de estudios posteriores han tratado de caracterizar el fenotipo de la respuesta inmune *Th1/Th2* en la infección experimental con cisticerco de *T. crassiceps*, en base a los perfiles de citocinas. Se ha encontrado que alrededor de la primera semana post infección, el tipo de respuesta inmune predominante es *Th1*, la cual se asocia con un desarrollo limitado del parásito (Robinson *et al.*, 1997; Terrazas *et al.*, 1998).

Estos estudios tratan de demostrar que conforme la infección progresa, la respuesta inmune se polariza hacia un fenotipo *Th2* con un incremento concomitante en la carga parasitaria (Terrazas *et al.*, 1998). Ningún estudio menciona algún mecanismo efector para esclarecer cómo este fenotipo podría combatir a estos parásitos ni se describe algún determinante antigénico para linfocitos *Th* de estos parásitos, que pudiera estar participando en la polarización de la respuesta hacia un fenotipo permisivo (*Th2*), o bien, hacia un fenotipo protector (*Th1*).

2.11. USO DE MODELOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

2.11.1. Historia de los Modelos Animales

El uso de animales en experimentación data de tiempos antiguos. Escritos médicos de fisiólogos y filósofos griegos que vivieron entre los siglos IV y III AC dan

fe de ello, como por ejemplo Almeon de Crona, quien disecó animales para describir los nervios ópticos, las trompas de Eustaquio y diferenció entre venas y arterias (Reyes, 1990). Otros como Hipócrates estudio la embriología con huevos de gallina y realizó disecciones en animales domésticos. Aristóteles realizo estudios en el estómago de rumiantes e hizo observaciones en muchas especies animales terrestres y cetáceas. Herofilo y Erasistrato por su parte realizaron necropsias en diferentes animales (Barquim, 1971; Kumate, 1987). En el siglo II AC, Galeno realizó investigaciones en el campo de la anatomía utilizando simios y cerdos, trasladando sus resultados a humanos (Arch, 1991; Salen, 1994).

En 1865, el fisiólogo francés Claude Bernard publicó Introducción al estudio de la Medicina Experimental, tratado donde señalaba las reglas y principios del estudio experimental. Otro investigador que usó animales en sus investigaciones fue Louis Pasteur, quien provocó la rabia experimentalmente en perros. Tanto Pasteur como Robert Koch son responsables de la teoría del “germen o agente de la enfermedad” (Salen, 1994).

2.11.2. Los Modelos Animales y su Clasificación

El Comité Nacional de Modelos Animales de investigación de los Estados Unidos, define el termino “modelo animal de laboratorio” como un modelo animal en el cual su biología normal y comportamiento pueden ser objeto de estudio, o a aquel en el cual los procesos patológicos espontáneos o inducidos pueden ser investigados, y en el cual el fenómeno es igual en uno o más aspectos que en humanos u otras especies (Salen, 1994).

La mayoría de los modelos animales de laboratorio se desarrollaron para estudiar la causa, naturaleza y/o cura de las enfermedades humanas. En este contexto, se distinguían 4 grupos de modelos animales:

- a. Modelos inducidos.- Son aquellos en los que la condición que se desea investigar se induce experimentalmente (ejemplo: inducción de Diabetes Mellitus utilizando el “Alloxane”) (Salen, 1994).
- b. Modelos espontáneos.- Son los animales mutantes génicos naturales. Cientos de líneas con enfermedades inherentes que modelan condiciones similares en humanos han sido caracterizadas y preservadas (ejemplo: el

ratón "nude" significó un giro en el estudio de los heterotransplantes tumorales y permitió la primera descripción de las células asesinas naturales) (Salen, 1994).

- c. Modelos experimentales.- Son opuestos a los espontáneos. En ellos las enfermedades en estudio no se logran reproducir (ejemplo: infección gonocócica en conejos). Su principal uso es en el estudio de los mecanismos de resistencia inmunológica (Salen, 1994).
- d. Modelo animal denominado "huérfano".- Describe una condición o enfermedad que se presenta de manera natural en especies no humanas pero que no ha sido descrita en humanos aún, y que posteriormente es adaptado cuando una dolencia similar es identificada (ejemplos: la enfermedad de Marek, la papilomatosis y la encefalopatía espongiiforme bovina (BSE) o "enfermedad de las vacas locas" (Salen, 1994).

2.11.3. Modelos Animales para Cisticercosis

Respecto a la cisticercosis, se han utilizado una serie de animales como modelos de experimentación. En ellos se ha tratado de reproducir la enfermedad con el objetivo de estudiar la biología de los parásitos y ensayar medidas tendientes a reducir la presentación de esta enfermedad.

En este contexto, en un experimento se ha utilizado animales controles de campo y programas de control en diferentes enfermedades parasitarias zoonóticas como la equinococosis ovina (*Echinococcus granulosus*) y la cisticercosis (*T. hydatigena* y *T. ovis*), en los cuales se demostró que estas parasitosis no presentan la misma estabilidad y no responden en forma similar al mismo control. Los hallazgos en este estudio han sido utilizados como modelos para cisticercosis porcina causada por *T. solium*. Además, se postula que el desarrollo de modelos matemáticos del ciclo de vida de este parásito y los mecanismos de diseminación de la enfermedad, determinarían las mejores estrategias de control y el menor costo de los mismos (Lawson, 1989).

Un experimento realizado en China empleó ratones como modelos animales con la finalidad de reproducir la cisticercosis por *T. solium*. Sesenta ratones fueron

inyectados vía endovenosa con 200 a 300 huevos de *T. solium* recolectados de proglótidos de una tenia adulta expulsados por un paciente que fue tratado por teniosis. Los ratones fueron sacrificados y diseccionados dos meses después de la inyección y se encontró que estaban infectados con *C. cellulosae*, los cuales se encontraban alojados en músculos y pulmones en posición elíptica, con diámetros de 0.3 a 0.6 cm. El escólex estaba equipado con dos hileras de ganchos y cuatro succionadores típicos. Cuando los cisticercos fueron colocados en jugo digestivo y bilis por 2 horas a una temperatura de 37°C los escólex evaginaron voluntariamente, sugiriendo que los ratones pueden ser utilizados como animales modelos para *C. cellulosae* (Yang, 1994).

En el año 2000 se propuso un modelo de infección experimental para cisticercosis utilizando cerdos provenientes de granjas comerciales. Se evaluaron tres rutas de infección: intraperitoneal, endovenosa e intraduodenal, utilizando oncósferas activadas. La infección se logró establecer en aquellos animales que fueron infectados por vía endovenosa e intraperitoneal, sin embargo en esta última vía se encontraron tanto quistes vivos como degenerados (Verástegui *et al.*, 2000).

Posteriormente, se reportó la infección experimental utilizando huevos de *Taenia solium* por vía oral, con dosis de 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 y 10^5 huevos. La infección se logró establecer en 19 de los 23 animales infectados, incluyendo 3 de los 4 animales infectados con tan solo 4 huevos (Santamaría *et al.*, 2002). Otro reporte de infección experimental oral da a conocer la presencia de quistes viables con dosis de 10^3 , 10^4 y 10^5 huevos y con un proglótido a los 182 días después de la infección. El mismo estudio reportó la presencia de antígeno circulante desde la segunda semana post infección en animales que recibieron las mayores dosis, en los demás, son detectables recién entre la cuarta a sexta semana (Nguekam *et al.*, 2003).

La búsqueda de modelos animales para el estudio de la cisticercosis porcina continúa en la actualidad. Ello es importante por que la obtención de un modelo útil para cisticercosis porcina permitiría comprender los factores biológicos involucrados

en esta enfermedad y permitiría, en un futuro previsible, encontrar soluciones para su tratamiento, control y/o erradicación.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El experimento se desarrolló en el Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva y el de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV – UNMSM), durante los meses de Noviembre del 2003 y Febrero del 2004.

3.2. ANIMALES

Se utilizaron porcinos provenientes de granjas comerciales de la ciudad de Lima, con 1, 3 y 5 meses de edad (los animales fueron comprados una semana antes de cumplir las edades correspondientes) y fueron trasladados a los ambientes de la FMV - UNMSM donde fueron identificados mediante aretes y tatuajes y fueron vacunados contra el cólera porcino. Posteriormente, se tomó una muestra de sangre para comprobar la seronegatividad a cisticercosis mediante la prueba de EITB. Los animales recibieron alimentación balanceada durante el periodo experimental.

3.3. TAMAÑO DE MUESTRA

Para el presente estudio se plantearon las siguientes hipótesis: los animales de menor edad (1 mes) se han de infectar en un 100%, los de 3 meses alcanzan a infectarse hasta un 75%, pero los porcinos de 5 meses ya no se infectarán con cisticercosis en forma experimental (para la fórmula se utilizará el valor de 1%). Por

ello, el cálculo del tamaño de muestra se realizó utilizando una fórmula de estimación de diferencias entre porcentaje.

De acuerdo con Snedecor & Cochran, la fórmula para hallar el tamaño de muestra necesario es:

$$n = \left(\frac{z(a) + z(b)}{p_1 - p_2} \right)^2 * (p_1 * q_1 + p_2 * q_2)$$

Donde:

$Z_{(a)}$ = valor tabular de Z para un nivel de confianza del 95%.

$Z_{(b)}$ = valor tabular de Z para una potencia de la prueba del 85%.

p_1 = 1% de animales que se infectarían en el grupo de 5 meses

q_1 = 100- p_1

p_2 = 75% de animales que se infectarían en el grupo de 3 meses

q_2 = 100- q_1

$n = 6$ animales por grupo

3.4. EXPERIMENTO

3.4.1. Infección Experimental

Los porcinos fueron separados de acuerdo a la edad (6 animales de 1, 3 y 5 meses de edad) y adiestrados para recibir alimento a partir de una bandeja en forma individual. Los porcinos se mantuvieron en ayunas un día antes del inicio del experimento para asegurar que consuman con avidez el inóculo que se administró vía oral debido al hambre. Cada animal recibió 1 proglótido grávido de *T. solium* proveniente de 5 tenias diferentes recolectadas de pacientes teniasicos (cedidos por el Laboratorio de Parasitología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Las dimensiones de los proglótidos fueron aproximadamente 1 cm de largo por 0.7 de ancho y un contenido aproximado promedio de 30 000 huevos.

3.4.2. Toma de Muestras para Serología

Las muestras de sangre se tomaron en forma semanal desde el inicio del experimento hasta la cuarta semana. Posteriormente, los animales se muestrearon

cada 15 días hasta los tres meses, fecha en que finalizó el estudio. La sangre se obtuvo por punción de la vena cava anterior izquierda, empleando tubos de sangrado al vacío de 9 ml y agujas Nº 22, extrayéndose en promedio 6 ml de sangre por animal. Los tubos fueron identificados con el número del animal y la fecha del muestreo.

Después de coagulada la sangre se procedió a la centrifugación (Centrifuga ICE. Universal Model UV) de la muestra a 1500 g durante 6 minutos. La cantidad de suero obtenido fue de 4ml por muestra, los cuales se distribuyeron en alícuotas y fueron almacenados a -20° C hasta el día de su procesamiento.

3.4.3. Procesamiento de las Muestras de Suero

3.4.3.1. Evaluación de la Seroconversión: Prueba de Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB)

El seguimiento de la seroconversión de los animales se realizó mediante la prueba de EITB, que detecta la presencia de anticuerpos contra formas larvarias de *T. solium* (Tsang *et al.*, 1989a; Tsang *et al.*, 1989b; González, 1990). Las pruebas de EITB fueron desarrolladas en el Instituto de ciencias Neurológicas en donde se cuenta con la tecnología para la elaboración de las mismas. El protocolo de la prueba se muestra en el Apéndice 1. Se considero a un animal positivo a cisticercosis cuando se observó al menos una de las siguientes bandas reactivas: GP 50 kD, GP 42-39 kD, GP 24 kD, GP 21 kD, GP 18 kD, GP 14 kD y GP 13 kD.

3.4.3.2. Determinación de Aqs Circulantes de *T. solium*. Prueba de ELISA – Ag

Para el desarrollo de esta prueba se utilizó el ELISA-Ag descrito por Van Kerekhoven et al. (1998). Los anticuerpos monoclonales utilizados en la prueba (B158C11A10 y B60H8A4 Biotinilado) fueron proporcionados por el Dr. Jeff Brandt (Prince Leopold Institute of Tropical Medicine, Bélgica). Esta prueba utiliza dos anticuerpos específicos que atrapan al antígeno circulante formando capas de anticuerpo – antígeno – anticuerpo. La cantidad de antígeno captado por los anticuerpos específicos está relacionado con la intensidad de reacción de color. El diagnóstico no considera un punto de corte definido y la lectura de interés es la

respuesta de la prueba a la presencia de los antígenos de cisticercos circulantes. El protocolo de la prueba se muestra en el Apéndice 2.

3.4.4. Determinación de Cisticercos en los Especímenes Infeccionados

Después de 3 meses de iniciado el experimento, se realizó la necropsia de los animales. En cada sesión se trabajó un animal de cada grupo y se trabajó en 6 sesiones. Durante la necropsia se realizó un examen minucioso de la canal y vísceras del animal, anotando todos los hallazgos en una ficha de necropsia individual.

Se evaluó la presencia de cisticercos en músculo esquelético, corazón y lengua. Se hizo disecciones finas de la totalidad del porcino con la finalidad de cuantificar la totalidad de cisticercos y la calidad de los cisticercos (aparentemente normales o degenerados). El quiste normal tiene una membrana traslúcida a través de la cual se observa un escólex como un nódulo pequeño de 2 a 3 mm. Cuando el quiste está degenerado el fluido vesicular se empieza opacar y se hace denso y los bordes del quiste empiezan a ser irregulares y se encogen (García *et al.*, 2003)

3.4.5. Prueba de Evaginación de Cisticercos

Se extrajeron quistes de los diversos órganos (en un número máximo de 30 o la totalidad en el caso de que hubiera menos) y se colocarán en una placa petri teniendo cuidado de identificar cada placa con el número del animal, el órgano correspondiente y el número de cisticercos que contiene.

Una vez extraídos los quistes se enjuagaron en buffer salino fosfato (PBS) de 0.15 M y pH 7.2 por un tiempo de 5 minutos. Posteriormente, se eliminó la solución PBS y se procedió a suspender los quistes en una solución estéril de bilis bovina (aproximadamente 40 - 50 ml) y se llevó a incubación a 37°C durante 2 horas. Finalizado el tiempo de incubación, las placas fueron retiradas de la incubadora y se realizó el conteo de los quistes que habían evaginado. Se utilizó como criterio diagnóstico de evaginación la presencia y movilidad del escólex.

3.5. ANÁLISIS DE DATOS

Los animales que resultaron con infección positiva fueron discriminados mediante la prueba de EITB y la prueba de ELISA – Ag y los resultados se presentan en tablas y figuras). Posteriormente, el número de cisticercos total por animal y el número de cisticercos total viables (aparentemente normales) se ingresó en una base de datos para proceder a la transformación de la variable número de cisticercos (total y normales) a una variable cualitativa ordinal denominada grado de infección.

El grado de infección de los animales se cuantificó de acuerdo a la cantidad de quistes observados en aquellos animales clasificados como infección positiva. Esta información fue ingresada a una base de datos y mediante análisis de agrupaciones, se distribuyeron en diversas categorías en forma matemática, de acuerdo a su distribución. El análisis de agrupaciones comprende cierto número de algoritmos que permite la clasificación de los datos observados de acuerdo a las semejanzas entre si. Esta técnica como tal no es una prueba estadística sino mas bien una colección de procedimientos capaz de agrupar objetos en grupos.

Una vez obtenido el grado de infección, esta información fue analizada mediante una prueba de Kruskal Wallis para determinar diferencia el efecto de la edad sobre el grado de infección con cisticercos en lechones. Adicionalmente, se determinó la fuerza y dirección de la asociación entre las variables edad de infección y proporción de quistes intactos por animal ($\text{total quistes intactos} / \text{total de quistes}$) mediante la prueba no paramétrica de Spearman.

IV. RESULTADOS

El estudio determinó que la infección de los lechones por vía oral con un proglótido ofrece resultados variables sobre la cantidad de cisticercos que se desarrollan en los músculos esquelético, lengua y corazón de los porcinos de diferentes edades (1, 3 y 5 meses de edad), utilizados como modelos animales para replicar la cisticercosis en forma experimental.

En un primer momento, la prueba de EITB mostró que todos los animales fueron expuestos a los huevos de *T. solium* y que la seroconversión se produjo entre la primera y cuarta semana post infección. El detalle del comportamiento de la respuesta serológica a la prueba de EITB se detalla en la Tabla 4, donde se muestra el número de bandas reactivas que presentaron los animales durante el monitoreo serológico.

La prueba de EITB mostró que los animales fueron expuestos a los huevos de *T. solium* pero no demostró necesariamente infección. Por ello, se desarrolló la prueba ELISA – Ag para la detección de antígeno, cuyos resultados fueron utilizados para determinar infección viable en los porcinos. El detalle de los resultados de esta prueba se aprecia en las figuras 1, 2 y 3.

El lugar de infección predilecto por los quistes fue el músculo. En él se encontró altas proporciones que alcanzaron niveles por encima del 85% del total de quistes encontrados en los animales que resultaron infectados. En tres animales no

se observó el desarrollo de ningún quiste intacto ni degenerado. Casualmente, estos tres animales fueron infectados con proglótidos de la misma tenia (tenia N° 4). Después de los músculos, se observa que el corazón presenta una proporción menor de infección y en último lugar la lengua. El detalle de la distribución de los quistes por órganos se muestra en la tabla 5. La distribución de los quistes intactos y degenerados según órgano de recolección se muestra en la tabla 6. En el se observa que conforme aumenta la edad de la infección de los animales, el número de quistes viables disminuye y viceversa. Este comportamiento se observa en todos los órganos estudiados.

La necropsia mostró rangos amplios para la presencia de cisticercos. El rango de quistes intactos encontrados fue de 0 a 6601. El de degenerados fue de 0 a 3022 y en total (intactos + degenerados) el rango fluctuó entre 0 y 6639. El detalle de los resultados de la necropsia y recuento de cisticercos (quistes) intactos, degenerados y el total, se muestra en la tabla 7.

La prueba de evaginación fue una prueba confirmatoria, que el criterio utilizado para determinar la condición de quiste intacto fue válida; y también permitió determinar el porcentaje de cisticercos, además de ser aparentemente intactos, tenían la capacidad de mantenerse viables y por tanto poseerían capacidad infectiva. A esta prueba solamente fueron sometidos 9 animales, toda vez que en 3 de ellos no hubo quistes y en 6 de ellos solamente se observó quistes clasificados como degenerados. El rango del porcentaje de evaginación estuvo entre el 89 y 100%. Los resultados en detalle se presentan en la tabla 8.

El análisis de agrupaciones permitió determinar los grados de infección en forma matemática y se obtuvo tablas para quistes intactos y para quistes totales que infectaron al porcino. Para ambos casos, se obtuvo cuatro niveles de clasificación (0=nulo, 1=moderado, 2=fuerte, 3=grave). Esto permite evaluar los resultados en grado de infección con cisticercosis y no con número de quistes (posee en mayor sentido biológico). El detalle del número de porcinos incluidos en cada grado de clasificación, para quistes intactos y quistes totales, se observa en las tablas 7. La tabla 8 muestra a los animales con su respectivo grado de infección.

La evaluación estadística del total de datos (incluyendo los tres porcinos que no alcanzaron infección por proglótidos de la tenia N° 4) muestra que la edad no ejerce un efecto estadísticamente significativo sobre el grado de infección con quistes intactos ($X^2=2.302$, $p = 0.3163$) ni sobre el total de quistes (intactos + degenerados) ($X^2=0.673$, $p =0.7142$). La prueba de correlación de Spearman determinó una fuerza de asociación de -0.53 entre las variables edad y proporción de quistes intactos por animal, llegando a ser una correlación significativa ($p=0.0250$).

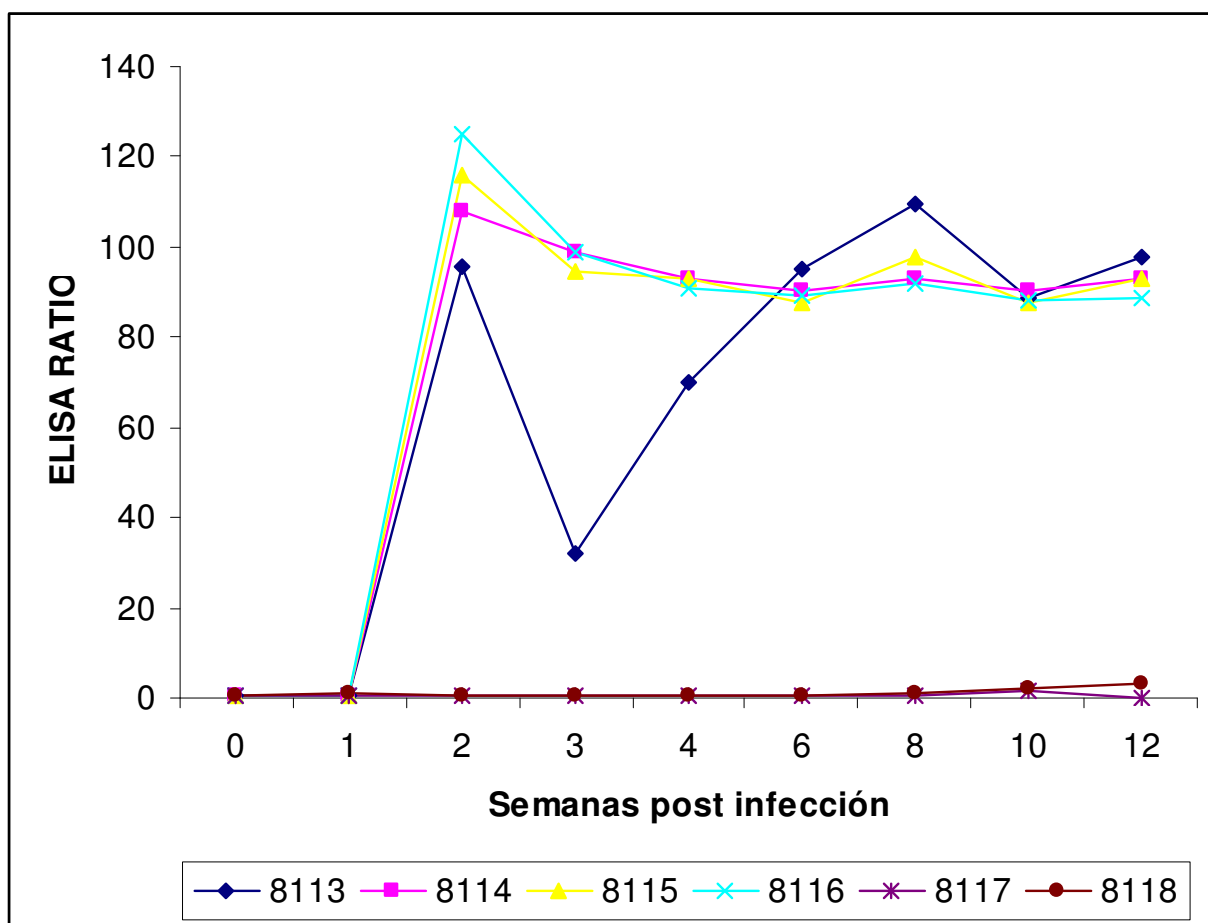
Los resultados que no incluyen a los porcinos infectados con la tenia N° 4 (por considerar que la misma no tenía una calidad adecuada y no reprodujo quistes a la infección) muestra que la edad de infección de los porcinos ejerce un efecto estadísticamente significativo sobre el grado de infección con quistes intactos ($X^2=9.678$, $p = 0.0079$). Cuando se evaluó el total de quistes (intactos + degenerados) no se halló diferencia entre las variables analizadas ($X^2=3.431$, $p =0.1799$). La fuerza de asociación fue de -0.83 entre las variables edad y proporción de quistes intactos por animal, resultando altamente significativa ($p=0.0001$).

Tabla 4. Resultados a la prueba de EITB en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º mes de edad.

Porcino Nº	Grupo Etéreo	Tenia* Nº	Número de bandas reactivas en cada semana post infección									
			0	1	2	3	4	6	8	10	12	
8113	1	TS-3	-	-	-	-	3	3	3	3	7	
8114	1	TS-2	-	-	-	1	2	3	3	3	3	
8115	1	TS-3	-	-	1	1	2	3	3	6	7	
8117	1	TS-4	-	-	-	1	-	1	1	1	3	
8118	1	TS-4	-	-	1	1	-	-	-	-	-	
8116	1	TS-1	-	-	1	1	2	3	3	3	3	
8111	3	TS-2	-	-	-	1	1	1	3	3	3	
8108	3	TS-3	-	-	-	1	1	2	1	3	3	
8107	3	TS-4	-	-	1	1	1	1	1	2	3	
8112	3	TS-6	-	-	-	1	1	3	4	5	5	
8109	3	TS-3	-	-	-	1	1	3	3	4	7	
8110	3	TS-6	-	-	-	1	1	2	4	7	7	
8103	5	TS-2	-	-	-	3	3	3	3	3	---	
8102	5	TS-1	-	3	3	3	5	4	4	7	7	
8106	5	TS-1	-	-	1	1	1	2	4	7	7	
8104	5	TS5	-	-	1	1	2	3	1	2	3	
8101	5	TS-2	-	-	-	1	2	4	4	7	6	
8105	5	TS5	-	2	1	3	3	4	4	4	4	

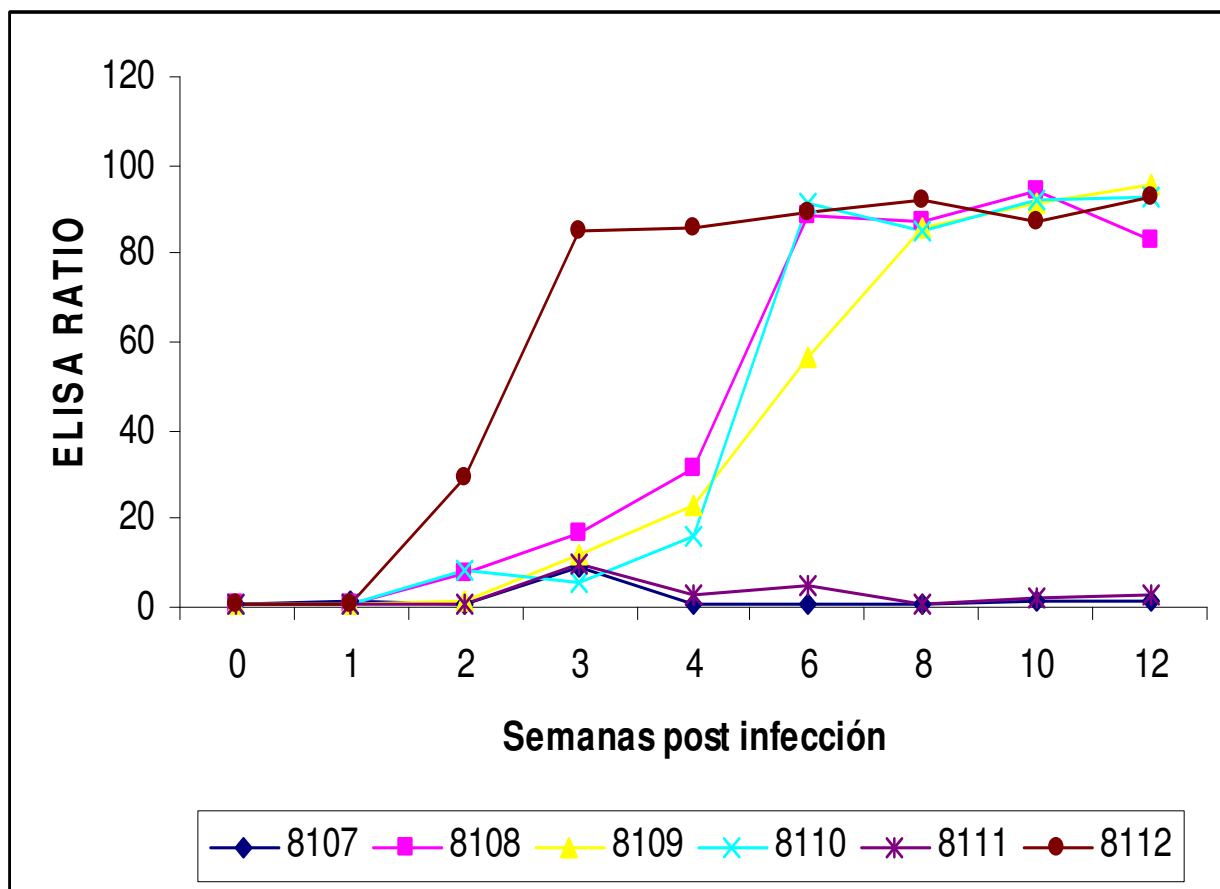
* Identificación de la tenia de donde se originó el proglótido para infección.

Figura 1. Niveles de antígeno circulante en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1er mes de edad.



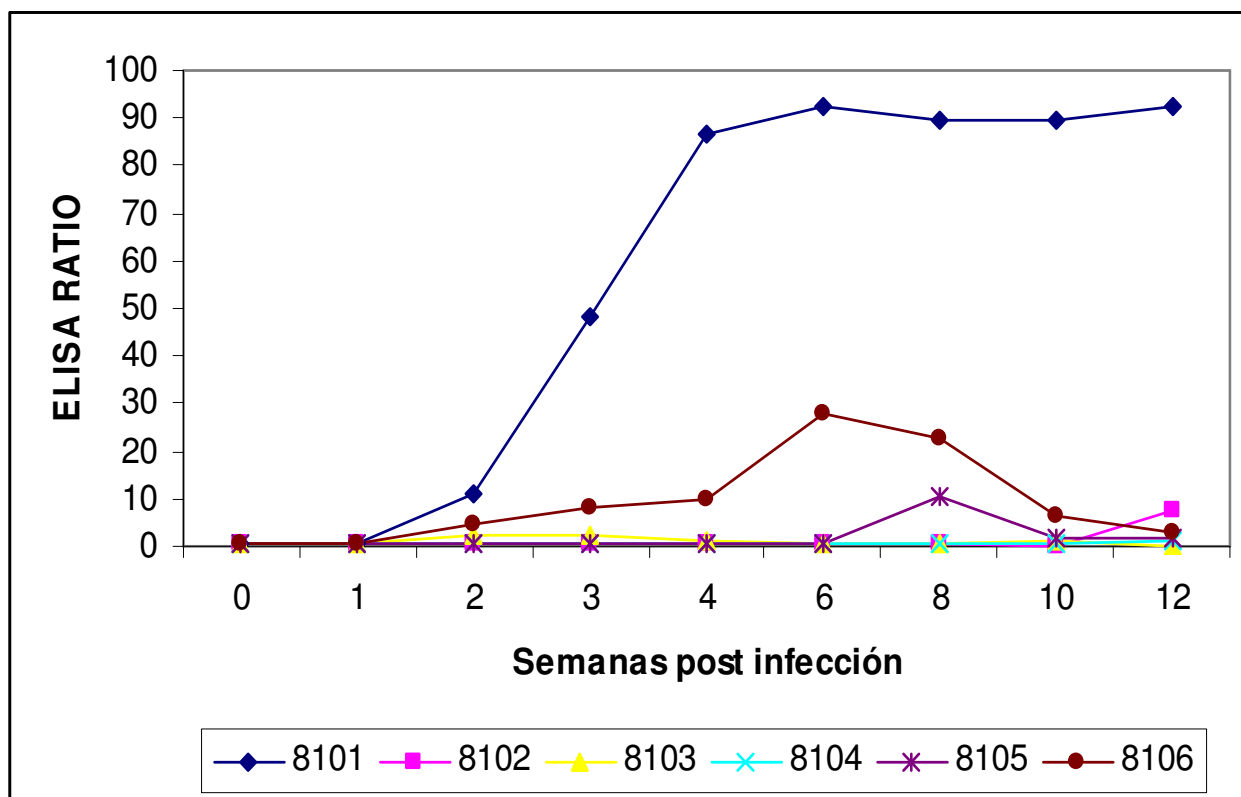
Niveles de Antígeno Circulante									
Porcino	Semanas Post Infección								
	0	1	2	3	4	6	8	10	12
8113	0.4	0.6	95.6	32.2	70.2	95.3	109.3	88.6	97.7
8114	0.5	0.6	108.1	99.1	93	90.3	93	90.5	93.2
8115	0.5	0.3	115.9	94.7	93.1	87.6	98	87.8	92.9
8116	0.6	0.5	125	98.6	90.8	89	91.9	88.2	88.6
8117	0.3	0.5	0.8	0.5	0.6	0.5	0.8	1.8	0
8118	0.5	1	0.6	0.6	0.6	0.6	1.1	1.9	3

Figura 2. Niveles de antígeno circulante en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 3er mes de edad.



Porcino Nº	Niveles de Antígeno Circulante									
	Semanas Post Infección									
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	
8107	0.5	1.6	0.5	9	0.6	0.5	0.6	1.2	1.1	
8108	0.6	0.6	7.9	16.9	31.4	88.5	86.9	94.1	82.8	
8109	0.5	0.6	1.5	11.7	23.2	56.8	85.8	91.1	95.4	
8110	0.6	0.6	8.5	5.6	15.9	91.3	84.8	92.4	92.9	
8111	0.6	0.7	0.5	9.6	2.6	4.9	0.7	2.4	2.5	
8112	0.6	0.8	29.4	85.2	85.9	89	92.4	87.1	92.9	

Figura 3. Niveles de antígeno circulante en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 5to mes de edad.



Porcino Nº	Niveles de Antígeno Circulante								
	Semanas Post Infección								
	0	1	2	3	4	6	8	10	12
8101	0.7	0.6	10.8	48.4	86.5	92.4	89.3	89.8	92.3
8102	0.6	0.6	0.7	0.7	0.6	0.6	0.5	0	7.3
8103	0.6	0.6	2.2	2.4	1	0.7	0.7	1.2	0
8104	0.6	0.6	0.6	0.8	0.5	0.5	0.6	0.6	1
8105	0.7	0.6	0.8	0.6	0.8	0.5	10.6	1.6	1.7
8106	0.6	0.6	4.7	8.3	10	27.9	22.4	6.4	3.1

Tabla 5. Distribución de quistes observado a la necropsia en diferentes órganos de porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º meses de edad

Porcino N°	Grupo (meses)	Tenia N°	Quistes en Músculos		Quistes en Corazón		Quistes en Lengua		Quistes Total	
			N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
8113	1	TS-3	2038	92	127	5.7	51	2.3	2216	100
8114	1	TS-2	302	90.4	20	6	12	3.6	334	100
8115	1	TS-3	6246	94.1	329	5	64	1	6639	100
8117	1	TS-4	0	0	0	0	0	0	0	0
8118	1	TS-4	0	0	0	0	0	0	0	0
8116	1	TS-1	3199	88.4	359	9.9	59	1.6	3617	100
8111	2	TS-2	7	100	0	0	0	0	7	100
8108	2	TS-3	581	93.7	33	5.3	6	1	620	100
8107	2	TS-4	0	0	0	0	0	0	0	0
8112	2	TS-6	1364	85.9	211	13.3	12	0.8	1587	100
8109	2	TS-3	314	97.5	5	1.6	3	0.9	322	100
8110	2	TS-6	367	90.8	32	7.9	5	1.2	404	100
8103	3	TS-2	597	88.4	76	11.3	2	0.3	675	100
8102	3	TS-1	831	94.9	41	4.7	4	0.5	876	100
8106	3	TS-1	582	88	78	11.8	1	0.2	661	100
8104	3	TS5	136	98.6	2	1.4	0	0	138	100
8101	3	TS-2	2913	93.1	184	5.9	33	1.1	3130	100
8105	3	TS5	1724	93.9	103	5.6	9	0.5	1836	100

Tabla 6. Número de quistes intactos y degenerados observado a la necropsia en órganos de porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º mes de edad

Porcino Nº	Grupo Etéreo (meses)	Tenia Nº	Músculo		Corazón		Lengua	
			Quistes Intactos	Quistes Deg.	Quistes Intactos	Quistes Deg.	Quistes Intactos	Quistes Deg.
8113	1	TS-3	1946	92	123	4	51	0
8114	1	TS-2	112	190	6	14	9	3
8115	1	TS-3	6210	36	327	2	64	0
8117	1	TS-4	0	0	0	0	0	0
8118	1	TS-4	0	0	0	0	0	0
8116	1	TS-1	3195	4	357	2	59	0
8111	2	TS-2	0	7	0	0	0	0
8108	2	TS-3	556	25	32	1	6	0
8107	2	TS-4	0	0	0	0	0	0
8112	2	TS-6	167	1197	0	211	0	12
8109	2	TS-3	231	83	1	4	0	3
8110	2	TS-6	228	139	12	20	3	2
8103	3	TS-2	0	597	0	76	0	2
8102	3	TS-1	0	831	0	41	0	4
8106	3	TS-1	0	582	0	78	0	1
8104	3	TS5	0	136	0	2	0	0
8101	3	TS-2	105	2808	2	182	1	32
8105	3	TS5	0	1724	0	103	0	9

Tabla 7. Proporción de quistes intactos y degenerados observado a la necropsia en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º mes de edad

Porcino Nº	Grupo (meses)	Tenia Nº	Quistes Intactos		Quistes Degenerados		Quistes Total	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
8113	1	TS-3	2120	95.7	96	4.3	2216	100
8114	1	TS-2	127	38.0	207	62.0	334	100
8115	1	TS-3	6601	99.4	38	0.6	6639	100
8117	1	TS-4	0	0	0	0	0	0
8118	1	TS-4	0	0	0	0	0	0
8116	1	TS-1	3611	99.8	6	0.2	3617	100
8111	2	TS-2	0	0	7	100	7	100
8108	2	TS-3	594	95.8	26	4.2	620	100
8107	2	TS-4	0	0	0	0	0	0
8112	2	TS-6	167	10.5	1420	89.5	1587	100
8109	2	TS-3	232	72.0	90	28.0	322	100
8110	2	TS-6	243	60.1	161	39.9	404	100
8103	3	TS-2	0	0	675	100	675	100
8102	3	TS-1	0	0	876	100	876	100
8106	3	TS-1	0	0	661	100	661	100
8104	3	TS5	0	0	138	100	138	100
8101	3	TS-2	108	3.5	3022	96.5	3130	100
8105	3	TS5	0	0	1836	100	1836	100

Tabla 8. Resultados de la prueba de evaginación de cisticercos intactos extraídos de porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º mes de edad.

Porcino Nº	Grupo Etéreo	Tenia Nº	Cisticercos Evaluados	Cisticercos Evaginados	Porcentaje de Evaginación
8113	1	TS-3	40	40	100
8114	1	TS-2	35	35	100
8115	1	TS-3	31	31	100
8117	1	TS-4	0	0	0
8118	1	TS-4	0	0	0
8116	1	TS-1	34	34	100
8111	3	TS-2	0	0	0
8108	3	TS-3	40	39	98
8107	3	TS-4	0	0	0
8112	3	TS-6	48	43	90
8109	3	TS-3	64	63	98
8110	3	TS-6	31	29	94
8103	5	TS-2	0	0	0
8102	5	TS-1	0	0	0
8106	5	TS-1	0	0	0
8104	5	TS-5	0	0	0
8101	5	TS-2	47	42	89
8105	5	TS-5	0	0	0

Tabla 9. Resultados del Análisis de agrupaciones para determinar grado de infección para quistes intactos y degenerados de porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º mes de edad

Tipo de Cisticercos	Grados de infección*	Frecuencia Nº	Nº Cisticercos Promedio	Valores extremos	
				Menor	Mayor
Intactos	0	9	0	---	---
	1	6	245.2	108	594
	2	2	2865.5	2120	3611
	3	1	6601	---	---
Degenerados	0	3	0	---	---
	1	9	280.9	7	876
	2	5	2477.2	1587	3617
	3	1	6639	---	---

* 0=nulo, 1=moderado, 2=fuerte, 3=grave, clasificación según análisis de agrupaciones

Tabla 10. Grado de infección a la necropsia en porcinos infectados por vía oral con un proglótido de *T. solium* al 1º, 3º y 5º mes de edad.

Porcino Nº	Grupo Etéreo (meses)	Tenia Nº	Grado de Infección*	
			Cisticercos Intactos	Cisticercos Total
8113	1	TS-3	2	2
8114	1	TS-2	1	1
8115	1	TS-3	3	3
8117	1	TS-4	0	0
8118	1	TS-4	0	0
8116	1	TS-1	2	2
8111	3	TS-2	0	1
8108	3	TS-3	1	1
8107	3	TS-4	0	0
8112	3	TS-6	1	2
8109	3	TS-3	1	1
8110	3	TS-6	1	1
8103	5	TS-2	0	1
8102	5	TS-1	0	1
8106	5	TS-1	0	1
8104	5	TS-5	0	1
8101	5	TS-2	1	2
8105	5	TS-5	0	2

* 0=nulo, 1=moderado, 2=fuerte, 3=grave, clasificación según análisis de agrupaciones

V. DISCUSIÓN

El presente estudio demostró que la edad de los porcinos utilizados como modelos animales para replicar la infección con huevos de *T. solium* en forma experimental ejerce un efecto negativo sobre el número cisticercos y la carga parasitaria, observándose que a mayor edad el número de cisticercos viables y el grado de infección disminuían.

En el estudio se utilizaron las pruebas de EITB y la prueba de ELISA – Ag para discernir tempranamente si un animal infectado por vía oral con un proglótido llega a desarrollar la infección. Las pruebas diagnósticas cumplen funciones diferentes. Mientras la prueba de EITB detecta si un animal ha sido expuesto a huevos de *T. solium*, la prueba de ELISA-Ag detecta la presencia de infecciones viables.

La prueba de EITB cumplió la función al demostrar que todos los animales estuvieron expuestos a los huevos de *T. solium*, comprobando que todos los animales consumieron el inóculo ofrecido desarrollaron una respuesta serológica contra la infección, y a la vez demostrando que la modalidad utilizada para la infección experimental fue adecuada.

La prueba de ELISA – Ag permitió determinar la presencia de una infección viable en los animales. En los lechones infectados al mes de edad se evidencia esta

infección tempranamente. A partir de las 2 semanas post infección se encontró que 4 de 6 animales resultaron positivos a la prueba. La detección de la eliminación de productos de secreción/excreción propios del proceso metabólico del cisticerco demuestra que estos porcinos habían alcanzado a desarrollar la enfermedad y por tanto se encontraba asentada en su organismo una infección viable. Esto sucede también con los animales infectados a las 3 meses, pero en forma más tardía. En ellos, la prueba detecta los antígenos metabólicos entre la semana 3 y 6 post infección. En este grupo, 4 de 6 porcinos también llegaron a desarrollar una infección viable. En el grupo de animales infectados a los 5 meses, se observa el mismo comportamiento a la prueba de ELISA-Ag en solamente un animal. Del resto de animales de esta edad, en 2 la respuesta es en forma ligera y en tres de ellos no hubo respuesta a la prueba.

Esto demuestra que la prueba de ELISA – Ag determina fehaciente y tempranamente la presencia de una infección viable en los porcinos y comprueba la hipótesis de que la edad influye sobre el modelo de infección. Esto último también se comprueba a la necropsia, donde solo aquellos animales que fueron detectados con infección viable a la prueba de ELISA – Ag mostraron también cisticercos considerados como aparentemente intactos.

La prueba de evaginación tuvo dos objetivos. El primero fue comprobar que el criterio para definir un quiste intacto era correcto y el segundo, determinar la viabilidad de los quistes diagnosticados como tal (intactos). En ambos casos se alcanzó respuestas satisfactorias. Se demostró que los criterios definidos para quistes intactos mencionados por García *et al.*, (2003) son repetibles y que la cantidad de cisticercos que tienen capacidad infectiva es alta. En el estudio de viabilidad a la prueba de evaginación *In Vitro*, se alcanzaron porcentajes de cisticercos viables entre el 89% y 100%.

En términos generales, la distribución de los cisticercos en el organismo de los animales infectados siguió el patrón teórico esperado, tal como se menciona en la literatura (Naquira, 1999; Nash y Neva, 1984; Quiroz, 1997; Matías *et al.*, 1983). Se observó que los músculos esqueléticos de los porcinos fue el lugar de

predilección para la infección, encontrándose en ellos la mayor proporción de quistes (incluyendo intactos y degenerados). En menor proporción se encontraron cisticercos en musculatura cardiaca y lengua.

En tres animales no se encontraron quistes, ni intactos ni degenerados. Los tres animales fueron infectados con la misma tenia. Este hallazgo indicaría que la "calidad" de la tenia, de la cual se obtienen los proglótidos o huevos que han de ser utilizados en la infección oral de porcinos influye sobre la capacidad de producir una infección viable. De las 5 tenias utilizadas, la tenia signada con el número 4 no produjo infección en los porcinos en los que se utilizaron (2 del grupo de 1 mes y 1 del grupo de 3 meses). Las otras tenias si llegaron a desarrollar infección, observándose respuestas variadas (infección con quistes viables, degenerados o mixta) de acuerdo a la edad en el cual los porcinos que fueron infectados con la misma.

El porcentaje de cisticercos viables o intactos presentan una correlación inversamente proporcional a la edad. Así los animales infectados al mes de edad, con excepción de los infectados con proglótidos de la tenia 4, presentan cisticercos intactos en un número que fluctúa entre 127 y 6210, lo que representaban proporciones altas en referencia al total de quistes. En los animales infectados a los tres meses, el rango de quistes intactos esta entre 0 a 594 (sin incluir al porcino infectado con la tenia 4) y la proporción de intactos respecto al total es mas variable. Finalmente, en los animales infectados a los 5 meses se encontraron quistes degenerados entre 138 y 3022 y solamente uno de ellos tuvo quistes viables en una baja proporción ($108/3022=3.5\%$). Estos hallazgos demuestran que el estado de degeneración de los cisticercos se acentuaba conforme la edad de los porcinos iba en aumento. Es claro que los cisticercos llegaron a instalarse en los animales infectados a los 5 meses, pero ella termino siendo fue rechazada por el sistema inmune del animal.

Los hallazgos encontrados en el presente estudio pueden ser correlacionados con los encontrados en estudios de inmunidad en cisticercosis. De ellos, los estudios realizados en forma experimental en ratones donde se utilizó los huevos

de *Taenia crassiceps* (Bojalil *et al.*, 1993) son los que han alcanzado los mejores resultados y permiten comparar algunas observaciones con la presente investigación.

Ante la invasión de un agente extraño en el organismo, se presenta la primera barrera de protección y son los sistemas de defensa inespecíficos los que actúan ante esta primera infección. Cuando la exposición se produce muy temprano, el sistema inmune se encuentra aun inmaduro por tanto, la actividad de estos sistemas inespecíficos son insuficientes como para rechazar una infección. Por ejemplo, la actividad de las células asesinas naturales no alcanzan su desarrollo sino hasta varias semanas después del nacimiento. Estos eventos probablemente se encuentren asociados a una infección viable en los animales que fueron infectados al mes de edad vía oral con un proglótido, por que independiente de aquellos que no desarrollaron infección (asociado a la presencia de una tenia “no viable”), el resto de animales alcanzaron niveles de infección importantes y se encontró una alta proporción de cisticercos viables. Esto a su vez se ve reflejado en los niveles de antígenos circulantes detectados a la prueba de ELISA – Ag.

Cuando la inmadurez del sistema inmune no es un obstáculo para la presencia de los sistemas convencionales de defensa, en este caso los animales infectados a los 3 y 5 meses, la presencia de las oncosferas representarían un estímulo para el sistema inmune del animal. En los estudios experimentales se ha reportado que en una fase inicial de la infección con cisticercosis, las células Th1 son la primera sub población de células T derivadas de las células T CD4+ que entran en acción, esto alrededor de la primera semana post infección. La actividad de estas células hacen que el desarrollo de la infección se vea limitado, actuando de forma protectora (Robinson, 1997; Terrazas, 1998). Si este comportamiento se mantuviera en el caso de los porcinos, esto explicaría la presencia de quistes degenerados en los animales infectados a los 3 y 5 meses. Es evidente que a mayor edad la respuesta contra estímulos externos es mayor asociado a un sistema inmune cada vez más especializado y/o competente.

Se especula que la gradiente y calidad de antígenos estarían asociados a la presencia de una infección viable. Al menos en los ratones, el tiempo es un factor vital para que los cisticercos se desarrollen. Conforme la infección progresa, la respuesta inmune a la infección se polariza hacia la presencia activa del fenotipo Th2 de las células CD4+, que lejos de ser un efecto positivo, favorece el desarrollo de una infección viable y un incremento concomitante en la carga parasitaria (Terrazas, 1998). Nuevamente, si la respuesta de los porcinos es homóloga a la de los ratones del experimento en discusión, este fenómeno se vería reflejado en el hecho de encontrar infección viable en los porcinos infectados a los tres meses, pero el número de cisticercos intactos fue menor en comparación con el grupo infectado al mes. También se observó una mayor cantidad de cisticercos degenerados. En el grupo de porcinos infectados a los 5 meses, solo un animal presentó infección viable. La proporción de cisticercos intactos en comparación con el total fue muy baja. Los otros 5 animales presentaron grados de infección moderado y fuerte, pero todos ellos fueron quistes degenerados.

El análisis estadístico corrobora las observaciones discutidas con anterioridad. Se encuentra diferencias significativas entre el efecto de la edad y la respuesta a la infección con cisticercos viables (no se considera a los porcinos infectados con la tenia N° 4). La prueba de correlación de Spearman muestra que a mayor edad, la capacidad de desarrollar una infección viable es menor.

La presencia de porcinos que no desarrollaron infecciones parece estar asociado a una tenia aparentemente no viable. Aunque los protocolos de obtención de las tenias no es parte del presente estudio, la obtención de las tenias que fueron utilizados siguieron un protocolo ya establecido (Jeri *et al.*, 2004), y estos pueden ser discutidos para evaluar una probable interferencia de los mismos sobre la viabilidad de la tenia. Para la obtención del parásito adulto se administra a los pacientes 2 gr de niclosamida vía oral en una sola toma. Para evitar la destrucción del parásito y permitir su expulsión, los pacientes son purgados 2 horas antes y después de recibir la droga. No se puede descartar que la exposición del parásito a la droga hubiera sido mayor al esperado, debido a un efecto retrazado del laxante y este se halla visto afectado en su viabilidad. El manejo de la tenia expulsada no

debería de afectar la viabilidad de la misma dado que todas siguen el mismo protocolo.

Los resultados del estudio abren una ventana de discusión acerca de los modelos animales empleados actualmente en investigación. Es evidente que la prueba de EITB no puede ser la única que discrimine infección, por tanto el seguimiento de animales modelos debe ser hecho con una prueba más y esta debería de detectar metabolitos (antígenos) de cisticercos lo que probaría la instalación de una infección viable.

Es importante también reconocer que cuando se realiza un trabajo de investigación con vacunas, no se puede asegurar previamente si la tenia a utilizar para el desafío posee huevos suficientemente “capacitados” para producir infección viable. Una forma de superar este inconveniente es utilizar huevos o proglótidos de la misma tenia tanto para los grupos experimentales como para el grupo control. Esto permitiría evaluar los resultados en forma confiable y cuantificar en su justa medida el efecto de la edad del modelo, la calidad de la tenia y las bondades del candidato de vacuna utilizado.

VI. CONCLUSIONES

El presente estudio evaluó el efecto de la edad sobre el modelo de infección experimental de cisticercosis porcina, en animales infectados con un proglótido vía oral. Se llegó a las siguientes conclusiones:

- a. El número de cisticercos viables y el grado de infección que alcanzan los porcinos infectados se ve influenciado por la edad de infección de los porcinos. Se observó una correlación inversamente proporcional entre estas variables.
- b. La prueba de EITB solamente define si un animal se ha expuesto a huevos de *T. solium* y se hace necesario utilizar una prueba de detección de antígenos para aseverar que se ha alcanzado un modelo de infección experimental con cisticercosis viable.
- c. La prueba de evaginación fue una excelente herramienta para comprobar los criterios utilizados para definir la condición de quiste intacto e infectivo. El porcentaje de evaginación alcanzado estuvo entre el 89 y 100%.

VII. RECOMENDACIONES

Los resultados del presente estudio permite proponer las siguientes recomendaciones:

- a. Se debe considerar mas de un criterio para definir la presencia de un modelo de infección experimental con cisticercosis viable y esta debe incluir a una prueba de detección de antígeno en el monitoreo de la infección.
- b. Debido a que no se puede asegurar previamente si una tenia a utilizar para el desafío en trabajos de vacunas posee huevos infectantes capaces de producir una infección viable, se debe utilizar huevos o proglótidos de la misma tenia tanto para los grupos experimentales como para el grupo control, a fin de discriminar efecto de edad del modelo, la calidad de la tenia y los efectos propios de la(s) vacuna(s) a utilizar.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Acha, P. y B. Szyfres. 1992. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da. ed. p763-773. Publicación Científica N° 503. OPS.
2. Allan, J.; P. Wilkins; V.C Tsang; P. y Craig. 2003. Immunodiagnostic tools for *Taeniasis*. *Acta Tropica*. 87: 87 – 93 pp.
3. Allan J. 1999. Detection of *Taenia solium* antigens in feces. En *Taenia solium Taeniasis/Cisticercosis*. 2^{da} ed. p 59-68. Ed. por H.H. García, S.M. Martínez M.:59-68.
4. Alvarado, E.; N. León y L. Ramos. 2000. Enteroparasitosis en escolares. C.E. Santa Rosa de Lima 40381. Caylloma-Arequipa. En: Libro de resúmenes del IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. 76 pp.
5. Arch, E. 1991. Comunicación Animal, Información Científica y Tecnológica. 13(175):7-10.
6. Arévalo, W. y R. Alva. 2001. Prevalencia de cisticercosis, distomatosis e hidatidosis en porcinos sacrificados en el camal municipal de Lambayeque durante los meses de enero a diciembre del 2000. *Rev Inv Vet Perú: Supl 1*: 413-416.
7. Atías, A. 1994. Parasitología clínica. 3^a ed. p 355-359. Stgo. de Chile, Pub. Tec. Mediterráneo.
8. Aybar, V. 2002. Seroprevalencia de la cisticercosis porcina en las villas de Nueva Esperanza, Matapuquio y Turpo en la provincia de Andahuaylas

- departamento de Apurimac. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 43 pp.
9. Barquim, M. 1971. Historia de la Medicina. p 118-328. Impresiones Modernas S.A. México.
 10. Bernal, T. 1996. Evaluación de la cisticercosis porcina en el Distrito de Quilcas, Huancayo. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 45p.
 11. Bojalil R, L. Terrazas, T. Govezensky, E. Sciutto, C. Larralde. 1993. Thymus-related cellular immune mechanisms in sex-associated resistance to experimental murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*). J Parasitol. 79:384-389.
 12. Borchert, A. 1981. Parasitología Veterinaria. 3^{ra} edición. p 162-166. Editorial Acribia. Zaragoza.
 13. Botero, D. 1999. Therapeutic experiences with praziquantel and albendazol in Colombia. En: Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. 2^{da} ed. p 179-182. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
 14. Brandt, J.; S. Geerts; R. de Deken; Kumar; F. Ceulemans; L. Brijs And N. Falla. 1992. A monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating excretory-secretory antigens in *Taenia saginata* cysticercosis. Int J Parasitol; 22(4): 471-7.
 15. Brandt, J.; S. Geerts; P. Dorny. 2001. Desarrollo de la prueba ELISA para la detección de antígenos en circulación de la cisticercosis en base a dos anticuerpos monoclonales. En Cuadernos del ISIP, Rev Fac. Med Vet y Zoot. Univ Central del Ecuador. Benitez W. Vol II (1). p. 19-21. Memorias del International Work Shop: El complejo Teniasis – Cisticercosis.
 16. Castro, V. 1991. Prevalencia de Cisticercosis Porcina: Comparación de examen de lengua y EITB en Maceda Tarapoto, Departamento de San Martín. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 32p.
 17. Chin, J. 2001. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 17^{va} ed. p 595-598. Pub. Cient. No 581 (OPS) Washington DC.
 18. Clinton, W. 2000. Neurocysticercosis: Updates on Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Management. Annual Review of Medicine, February 2000, 51:187-206.

19. Cordero del Campillo, M. y A. Hidalgo. 1999. Cisticercosis (*C. cellulosa*). En: Parasitología Veterinaria. Editado por M. Cordero del Campillo y F. A. Rojo V. p.493-495. Editorial Mc Graw Hill-Interamericana, Madrid.
20. Del Brutto O., J. Sotelo. 1988. Neurocysticercosis: an update. Reviews of Infectious Diseases 10: 1075-87.
21. Del Brutto O.; J. Sotelo; G. Roman. 1993. Therapy for neurocysticercosis: a reappraisal. Clin Infec Dis 17: 730-4.
22. Del Brutto, O. 1999. Neurocysticercosis. Rev Neurol. Sep 1-15; 29(5):456-66.
23. Escalante, S. 1977. Epidemiología de la Cisticercosis en el Perú. Rev. Neuropsiquiatr. 40: 29-39.
24. Escalante, H. 1999. Western Blot with *Taenia solium* vesicular fluid antigens for the diagnosis of cysticercosis. En: Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. 2^{da} ed. p 53-58. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
25. Escalante, H.; F. Pereda; M. Sánchez; H. Schultz; P. Torres y K. Davelois. 2000. Frecuencia de pacientes neurológicos del norte del Perú con serología positiva a la larva de *Taenia solium* por la técnica de Western Blot. En: Libro de resúmenes del IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. 126pp.
26. Evans, C.; H.H. Garcia and R.H. Gilman. 2000. Cysticercosis. In Hunter's Tropical medicine and emerging infectious diseases. Eighth edition, Ed W.B. Sandeus company, Philadelphia.
27. Evans, C.; A.E. González; R.H. Gilman; M. Verastegui; H.H. Garcia, *et al.* 1997. Immunotherapy for porcine cysticercosis: implications for prevention of human disease. Am J Trop Med Hyg 56:33 – 37.
28. Faust E.C. P.F. Rusell y Jung. 1984. Parasitología Clínica. Salvat. Barcelona.
29. Flisser, A. 1988. Neurocysticercosis in México. Parasitol Today. 4:131-136.
30. Flisser, A.; D. Gonzalez; M. Shkurovich; I. Madrazo; D. Correa. *at al.* 1990. Praziquantel treatment of porcine brain and muscle *Taenia solium* cysticercosis. 1. Radiological, physiological and hystopatological studies. Parasitol. Res. 76(3):263-9
31. Flisser, A.; A Plancarte; G. Avila. 1999. Application of diagnostic methods for cysticercosis and taeniosis to epidemiological studies. En: Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. 2^{da} ed. p 40-52. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.

32. Flisser A and M.W. Lightowlers. 2001. Vaccination against *Taenia solium* cysticercosis. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*. 96(3): 353-356.
33. Garcia, H.H., R.H. Gilman; S.M. Martinez, V.C. Tsang, J.B. Pilcher, G Herrera, *et al.* 1993. Cysticercosis as a major cause of epilepsy in Peru. *Lancet* 341: 197-200.
34. García H.H. G. Herrera, R.H. Gilman, V.C. Tsang, J.B. Pilcher, J.F. Diaz, *et al.* 1994. Discrepancies between cerebral computed tomography and western blot in the diagnosis of neurocysticercosis. The Cysticercosis Working Group in Peru (Clinical Studies Coordination Board). *Am J Trop Med Hyg.* Feb;50(2):152-7.
35. Garcia, H.H.; R.H. Gilman; V.C. Tsang; A.E. Gonzalez AND The Cysticercosis Working Group in Peru. 1997. Clinical Significance of Neurocysticercosis in endemic villages. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 91:176-178.
36. Garcia, H.H.; L.J. Harrinson; R.M. Parkhouse; T.R. Montenegro; S.M. Martinez; V.C. Tsang; R.H. Gilman and The Cysticercosis Working Group in Peru. 1998. A specific antigen detection ELISA for the diagnosis of human cysticercosis. *Trans R Soc Trop Med and Hyg.* 92:411-414.
37. García, H.H.; R.H. Gilman; A.E. Gonzalez; V.C. Tsang y M. Verastegui. 1999. Epidemiology of *Taenia solium* infection in Peru. En: *Teniasis/Cysticercosis by Taenia solium*. 2^{da} ed. p 297-305. H.H. García y S.M. Martinez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
38. Garcia, H.H.; R.M. Parkhouse; R.H. Gilman; T.R. Montenegro; T. Bernal, *et al.* 2000. Serum antigen detection in the diagnosis, treatment and follow up of neurocysticercosis patients. *Trans R Soc Trop Med and Hyg.* 94:673-676.
39. Garcia H.H. A.E. Gonzalez; E. Carton, R.H. Gilman and The Cysticercosis Working Group in Perú. 2003. *The Lancet*. 361: 547-555.
40. García, E. y A. RISTOL. 1991. Cisticercosis cerebral. Aportaciones al conocimiento de una enfermedad endémica en España e Hispanoamérica. p. 23-54. Aran S.A. Madrid - España.
41. Gavidia C. 1993. Prevalencia de Cisticercosis porcina en un pueblo de la Costa Norte: Monte Redondo (Piura). Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 38p.

42. Gonzales, S.; R. Ramírez; B. Osorio; M. Vargas; M.E. Recavarren y C. Manrique. 2000. Neurocisticercosis en el hospital Hipólito Hunánue, su incidencia, cuadro clínico y tratamiento durante el año 1999. En: Libro de resúmenes del IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. Pág. 125.
43. Gonzalez, A.E.; V. Cama; R.H. Gilman; V.C. Tsang; J.B. Pilcher; A. Chavera.; M. Castro; T.R. Montenegro; M. Verastegui; E. Miranda; *et al.* 1990. Prevalence and comparison of serologic assay, necropsy and tongue examination for the diagnosis of porcine cysticercosis in Peru *Am J Trop Med Hyg* ; 43:194 -199.
44. Gonzalez, A.E.; M. Castro; R.H. Gilman *et al.* 1993. The Marketing of Cisticercotic Pigs in the Sierra of Peru. *Bull Word Health Organ.* 71: 223-228.
45. Gonzalez, A.E.; H.H. Garcia; R.H. Gilman; M.T. Lopez; C. Gavidia; L. McDonald; *et al.* 1995 Treatment of porcine cysticercosis with Albendazole. *Am J Trop Med Hyg* 51:847-850.
46. Gonzalez, A.E.; C. Gavidia; R.H. Gilman; H.H. Garcia; N. Falcon; T. Bernal. 1996a Tratamiento de la cisticercosis porcina. En: *Teniasis/Cysticercosis by Taenia solium.* p 109-120. H.H. García y S.M. Martinez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
47. Gonzalez, A.E.; H.H. Garcia; R.H. Gilman; M. Verastegui; C. Gavidia; N. Falcon; T. Bernal; T. Talavera; M.T. Lopez. 1996b. Epidemiology of swine cysticercosis in peruvian central higland communities. *Parassitologia* 38:291.
48. Gonzalez A.E.; N. Falcon; C. Gavidia; H.H Garcia; V.C. Tsang; T. Bernal; *et al.* 1998. Time response curve of oxfendazole in the treatment of swine cysticercosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 59: 832-836.
49. Gonzalez A.E.; C. Gavidia; N. Falcon; C. Evans; T. Bernal; M.T. Lopez; H.H. Garcia; R.H. Gilman. 1999. Porcine cysticercosis: epidemiology, diagnosis and treatment. En: *Teniasis/Cysticercosis by Taenia solium.* 2^{da} ed. p 97-119. H.H. García y S.M. Martinez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
50. Gonzalez, A.E.; C. Gavidia; N. Falcon; T. Bernal; M. Verastegui; H.H. Garcia; R.H. Gilman; V.C. Tsang and The Cysticercosis Working Group in Peru. 2001 Protection of pigs with cysticercosis from further infections after treatment with oxfendazole. *Am J Trop Med Hyg* 65:15 –18.
51. Grove, D.I. 1990. History of human helminthology. Oxon: CAB Internacional.

52. Guezala, C. 2001. Estudio de la distribución geográfica de la Teniasis/Cisticercosis y su relación con la dinámica de infección de la enfermedad. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 89 p.
53. Harrison, L.J.; G. Joshua; R.M. Parkhouse. 1989. Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *T. saginata* cysticercosis. *Parasitic immunology*, 11:351-370.
54. Harrinson, L.J.; J.A. Onyango-Abuje; E. Sciutto; R.M. Parkhouse; 1999. Application of an antigen detection ELISA in the seroepidemiology of cysticercosis. En: Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. 2^{da} ed. p 255-262. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
55. Herrera, G. 1996. Diagnóstico por Tomografía axial computarizada en neurocisticercosis. En: Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. p 79-84. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
56. Herrera, G. 1999. Diagnosis of Neurocysticercosis by computed axial tomography. En: Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. 2^{da} ed. p 79-84. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
57. Huerta, M.; E. Sciutto; G. Garcia; N. Villalobos; M. Hernandez; G. Fragoso; J. Diaz, *et al.* 2000 Vaccination against *Taenia solium* cysticercosis in underfed rustic pigs of Mexico: roles of age, genetic background and antibody response. *Vet Parasitol.* Jun 27;90(3):209-19.
58. Huerta, M. A.S. De Aluja; G. Fragoso; A. Toledo, N. Villalobos; M. Hernandez; G. Gevorkian; *et al.* 2001. Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in a controlled field trial in rural Mexico. *Vaccine.* Oct 12;20(1-2):262-6
59. Kumate, J. 1987. Investigación Científica, Cenicienta y Ave Fénix. p 9-263. Universidad Autónoma de México. México.
60. Lapage, G. 1986. Parasitología veterinaria. p 293-294. Editorial Continental, S.A. México.
61. Lasso, J. 1994. Contribución a la historia de la cisticercosis cerebral. En: Cuadernos de Neurología. Editado por Jaime Courti L. y Patricio Tagle M. Vol XXI.

62. Lawson, J.R.; M.A. Gemmell. 1989. The Ovine Cysticercosis as Models for Research into the Epidemiology and Control of the Human and Porcine Cysticercosis *Taenia solium*. Acta Leiden 57(2): 173-180.
63. Lighttowers, M.W. 1999. Eradication of *Taenia solium* cysticercosis: a role for vaccination of pigs. International journal for Parasitology. 29:811-817.
64. LLontop, R.; C. NOLTE; R. Urbina ; *et al.* 1980. Cisticercosis en cerdos beneficiados en el camal frigorífico N° 37 de Tarapoto. Pub. Ministerio de Agricultura y Alimentación RA XI, Laboratorio de Sanidad Animal y Zoonosis – Tarapoto.
65. Lobato, R.; E. Lamas, J. Portillo; R. Roger; J. Esparza, J. Rivas; M. Muñoz. 1981. Hydrocephalus in cerebral cysticercosis. Pathogenic and therapeutic considerations. J Neurosurg 55: 786-93.
66. Maco, V.; L. Marcos y A. Terashima. 2000. Parasitosis intestinal en seis comunidades rurales de las provincias de Puno-Acora-Ilave. Departamento de Puno-Perú, julio – agosto, 2000. En: Libro de resúmenes del IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. Pág. 90.
67. Maravi, A. ; R. Ango; E. Cabrera. 1993. Grado de cisticercosis en cerdos y su relación con la salud pública. Anales del II Congreso Peruano de Parasitología. Julio 1995. Trujillo – Perú.
68. Markell, E. y M. Vogue. 1992. Medical Parasitology. 7a edition. p232 – 242. W.B. Saunders company. México.
69. Matias, Z.; Z. Pawlowski; E.J. Soulsby; *et al.* 1983. Guidelines for surveillance, prevention and control of Cysticercosis/Taeniasis. World Health Organization. 71-72 (WHO/VPH 83.49).
70. Martínez, C. 1984. Praziquantel. Bol. Hosp. San Juan de Dios; 31(3): 199-201.
71. Martínez, S.M.; S. Rodríguez; H.H. García. 2000. Cisticercosis Humana. En: Teniasis/Cisticercosis por *Taenia solium* , Un serio problema de salud pública en el Perú. García HH.; Gonzalez AE.; Martínez SM.; Gilman RH. Oficina general de Epidemiología. Ministerio de salud. Lima-Perú
72. Mayta, H.; A. Talley; R.H. Gilman; J. Jimenez; M. Verastegui; M. Ruiz; H.H. Garcia; A.E. Gonzalez. 2000. Differentiating *Taenia solium* and *Taenia saginata* infections by simple hematoxylin – eosin staining and PCR – restriction enzyme analysis. Journal of Clin. Microbiol. 38: 133 – 137 pp.

73. Mejia, E.; E. Ñasco; M. Arce; M. Ayala. 1995. Prevalencia de cisticercosis porcina en camales de Trujillo. Anales del II Congreso Peruano de Parasitología. Julio 1995. Trujillo – Perú.
74. Mena C. 2002. Incidencia de cisticercosis porcina en el distrito de Matapalo departamento de Tumbes. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 42 pp.
75. Mitchell G. Genetic variation in resistance of mice to *Taenia taeniaeformis*: Analysis of host-protective immunity and immune evasion. En: Flisser A, Willms K, Lacleste J, ed. Cysticercosis: Present state of knowledge and perspectives. Nueva York (NY): Academic Press, 1982:575-584
76. Molinari, J.L.; D. Rodríguez; P. Tato; R. Soto; F. Arechavaleta; S. Solano. 1997. Field trial for reducing porcine *Taenia solium* cysticercosis in Mexico by systematic vaccination of pigs. Vet Parasitol. 1997 Apr;69(1-2):55-63.
77. Morales, L. 1996. Seroprevalencia de cisticercosis porcina en la sierra central Canchayllo “Junín. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 38 p.
78. Naquira, C. 1999. *Taenia solium*: biological cycle and characteristics. En: Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. 2^{da} ed. p 7-15. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Peru.
79. Nascimento, E; J.O. COSTA; M.P. Guimaraes; C.A. Tavares. 1995. Effective immune protection of pigs against cysticercosis. Vet Immunol Immunopathol. 45: 127-137.
80. Nash T.E.; F.A. NEVA. 1984. Recent advances in the diagnosis and treatment of cerebral cysticercosis. New England Journal of Medicine 311:1492-6
81. Nguekam, A.; A.P. Zoli; L. Vondou; S.M. Pouedet; E. Assana; P. Dorny; J. Brandt; B. Losson; S. Geerts. 2003. Kinetics of circulating antigens in pigs experimentally infected with *Taenia solium* eggs. Vet. Parasitol. 111: 323-332.
82. Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud. 1993. Desarrollo y fortalecimiento de los Sistemas Locales de Salud: La Salud Pública Veterinaria. Serie: Sistemas Locales de Salud (SILOS) No 23, Organización Panamericana de la Salud. p. 13.

83. Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud. 1994. Epidemiología y control de la teniasis/cisticercosis en América Latina. Versión 3.0.. REF:PNSP/91- 28.
84. Pareja, M. y P. Zamora. 2000a. Parasitosis en escolares del distrito de Bellavista, Provincia de Jaén, mayo 1997-abril 1998. En Libro de Resúmenes del IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. Pág. 68.
85. Pareja, M. y P. Zamora. 2000b. Parasitosis en niños de 2 a 13 años de la ciudad de Jaén, enero 1997-diciembre 1998. En Libro de Resúmenes del IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. Pág. 70.
86. Pareja, M. y P. Zamora. 2000c. Parasitosis en pobladores de la ciudad de Bagua, enero 1999-diciembre 1999. En Libro de Resúmenes del IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. Pág. 69.
87. Pathak, K.M.; J.C. Allan; K. Ersfeld; P.S. Craig. 1994. A western blot and ELISA assay for the diagnosis of *Taenia solium* infection in pigs. Vet. Parasitol, 53: 209-217.
88. Pawlousky, Z.S. 1987. Large-scale use of chemotherapy of teniasis as a control measure for *Taenia solium* infections. Curr. Trop. Vet. Med. Anim. Sci. 43 pp. 100-105.
89. Plancarte, A.; A. Flisser, C.G. Gauci, M.W. Lightowers. 1999. Vaccination against *Taenia solium* cysticercosis in pigs using native and recombinant oncosphere antigens. Int J Parasitol. Apr;29(4):643-7
90. Proaño J.V.; I. Madrazo; L. Garcia; E. Garcia-Torres; D. Correa. 1997. Albendazole and praziquantel treatment in neurocysticercosis of the fourth ventricle. Journal of Neurosurgery 87: 29-33.
91. Quiroz, H. 1997. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. p286 – 348. Editorial; Limusa. México, D.F.
92. Ramos J.M.. 1991. Informe de 20 casos de neurocisticercosis parenquimatosa tratados con albendazol. Rev. Med. IMSS; 29(1):29-32, ene.-feb.
93. Ramos, U.1994. Estudio de la prevalencia de cisticercosis porcina en Saylla-Cuzco. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 36p.
94. Ramos, D. 1999. Seroprevalencia de cisticercosis porcina en las villas de Occollo y Anaccma - Provincia de Andahuaylas - Departamento de Apurímac.

- Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 51p.
95. Reyes, A. 1990. La Experimentación en animales y su repercusión en la salud humana. Gaceta Médica de México. 126(2): 116-120.
 96. Reyes, H. 1996. Teniasis. En Parasitología Clínica. Cap. 23. 3ra. Edición. de Antonio Atías . Publicación Técnica Mediterraneo. Santiago de Chile.
 97. Robinson, P.; R. Atmar; D. Lewis; C. White. 1997. Granuloma cytokines in murine cysticercosis. Infect Immun. 65:2925-2931.
 98. Rojas, M. 1983. Cisticercosis, Una Imponderada Zoonosis en el Perú. Boletín Informativo del Colegio Médico-Veterinario del Perú 18: 19-23.
 99. Salen, J.C. 1994. Animal Models – Principles and Problems. In: Handbook of Laboratory Animal Science. pp 1 - 4.. Edited by Per Svendsen and Jann Hau. Vol II. Washington D.C.
 100. Santamaria, E.; A. Plancarte; A.S. De Aluja. 2002. The experimental infection of pigs with different numbers of *Taenia solium* eggs: immune response and efficiency of establishment. J. Parasitol. 88: 69-73.
 101. Sarti, E. 1997. Fisiología de la teniasis y la cisticercosis. Salud pública de México; 39(3): 225-230.
 102. Schantz, P.M. 1999. *Taenia solium*: Cysticercosis / Taeniosis Is A Potentially Eradicable Disease: Developing a Strategy For Action And Obstacle To Overcome. En: Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. 2^{da} ed. H.H. García y S.M. Martinez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
 103. Schantz, P.M.; E. Sarti. 1989. Diagnostic Methods and epidemiological surveillance of *Taenia solium* infection. Acta Leidensia; 57:153-63.
 104. Silva, M. 2004. Modelo de infección experimental oral para la cisticercosis porcina por *Taenia solium*. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 67p
 105. Snedecor, G.W. and W.G. Cochran. 1986. Statistical Methods, 7^a ed. p-1560-6 Edita: The Iowa State University Press ISBN: 8138.
 106. Soulsby, E., 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos, 7ma edición, p 106-113. Nueva Editorial Interamericana, México DF.

107. Tagle, V. I. 1984. Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. p 790. Ed. Continental Mexico.
108. Tellez-Giron E.; M.C. Ramos; M. Montante. 1981. Effect of flubendazole on *Cysticercus cellulosae* in pigs. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 30:135-8.
109. Terrazas, L.; R. Bojalil; T. Govezensky; C. Larralde. 1998. Shift from an early protective Th1-type immune response to a late permissive Th2-type response in murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*). J Parasitol. 84:74-81
110. Torres, B. y J.L. Rimarachin. 1991. Problemática de la cisticercosis como enfermedad zoonótica en Cajamarca. En: Resúmenes del I Congreso de Estudiantes de Ciencias Veterinarias del 22-28 de septiembre. Lima. p14.
111. Tsang, V.C.; J.A. Brand; A.E. Boyer. 1989a. An enzyme linked Immuno electrotransfer blot assay and glycoproteins antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). J Inf. Dis; 159: 50-9.
112. Tsang, V.C.; J.A. Brand; W. Zhou. *et al.* 1989b. Modulated expression of distinct IgM and IgG activities to *Taenia solium* antigens in experimentally infected pigs: A possible model for human cysticercosis. Vet Immunol; 69:70-79.
113. Tsang, V.C. H.H. Garcia. 1999. Immunoblot diagnostic test (EITB) for *Taenia solium* cysticercosis and its contribution to the definition of this under-recognized but serious public health problem. Teniasis/Cysticercosis by *Taenia solium*. Section I. 2^{da} ed. H.H. García y S.M. Martínez (eds). Ed. Universo, Lima. Perú.
114. Turín, R.S. 2004. Prevalencia de cisticercosis porcina en la ampliación del parque porcino de Ventanilla "PAMPAS DE LOS PERROS", Distrito de Ventanilla, Provincia Constitucional del Callao. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 81p.
115. Van Kerekhoven, I.; M. Vanteenkiste; Claes, M.; S. Geerts; J. Brandt. 1998. Improved detection of circulating antigen in cattle infected with *Taenia saginata* metacestodes. Vet. Parasitol. 76: 269-274.
116. Velasco-Suarez, M.; M.A. Bravo-Becherelle; F. Quirasco. 1982. Human cysticercosis: medical-social implications and economic impact. En: Cysticercosis: Present state of Knowledge and Perspectives. p. 47-51. Ed. Por

- Flisser, A.; Willms, K.; Laclette, J.P.; Larralde, C.; Ridaura, C.; Beltrán, F. New York Academic Press Inc.
117. Verastegui, M.; A.E. Gonzalez; R.H. Gilman; C. Gavidia; N. Falcon; T. Bernal; H.H. Garcia and the Cysticercosis working group in Perú. 2000. Experimental infection model for *Taenia solium* cysticercosis in swine. *Veterinary Parasitology*. 94: 33 – 44.
118. Verastegui, M.; R.H. Gilman; A.E. Gonzalez; H.H. Garcia; C. Gavidia; N. Falcon; T. Bernal; Y. Arana and C.W. Tsang. 2002. *Taenia solium* oncosphere antigens induce immunity in pigs against experimental cysticercosis. *Vet. Parasitol.* 108: 49-62.
119. Villa, O.; R. Kuhn. 1996. Mice infected with the larvae of *Taenia crassiceps* exhibit a Th2-like immune response with concomitant energy and down regulation of Th1-associated phenomena. *Parasitology*. 112:561-570.
120. Villavicencio, Z.; F. Bornay; E. Delgado y I. Mesenger. 2000. Prevalencia de parasitosis intestinal en la provincia de Cajamarca. Perú. En: Libro de Resúmenes del IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. Pág. 29
121. Williams, J.; P. Engelkirk, M. Lindsay. 1982. Mechanisms of immunity in rodent cysticercosis. En: Flisser A, Willms K, Laclette J, ed. *Cysticercosis: Present state of knowledge and perspectives*. Nueva York (NY): Academic Press, 621-632.
122. Wilkins, .P.P.; J. Allan; M. Verastegui; M. Acosta; A.G. Eason; H.H. Garcia; A.E. Gonzalez; R.H. Gilman; V.C. Tsang. 1999. Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* *Taeniasis*. *Am J Trop Med Hyg.* Feb;60(2):199-204.
123. Yang, X.; H. XU; Z. Cao; W. Wang. 1994. Establishment of Mouse Model for *Cysticercus cellulosae*. *Chinese Journal of Parasitology & parasitic disease*. 12(4): 297-299.

APÉNDICE 1. Protocolo de la prueba de Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB).

- Preparación del antígeno de EITB

Para la elaboración de la glicoproteína específica de EITB se obtuvieron cisticercos de cerdos infectados naturalmente, los cuales fueron disecados cuidadosamente. Se suspendieron en 5 volúmenes (1/5 p/v) de tampón de sacarosa/HEPES (N-[2-acido etanosulfónico] N-[2 hidroxietil] (0.05M HEPES-NaO, 0.25M sacarosa, 2 mM EDTA, 5 M PMSF; pH 7.2) a 4 C, secados y guardados a -70 C hasta el momento del uso. Los cisticercos fueron homogenizados en PBS 0.15M a 4 C y sonicados a 70 Hz (Sonic-Dismembrator modelo 300; Fisher Scientific) por espacio de 1 minuto en hielo tres veces a intervalos de 1 minuto. Posteriormente se añadió Freón (IMMUNETICS) en proporción 1:1 del volumen total de la muestra y agitarla haciendo uso de una pastilla magnética por un lapso de 30 minutos a 4°C. Pasado este tiempo, la muestra fue centrifugada a 500 g por 20 minutos, el sobrenadante es recuperado y el pellet se eliminó. La parte recuperada se centrifugó nuevamente a 13 000 g. durante 2 horas. Posteriormente el sobrenadante se pasó a través de una columna de cromatografía G25 equilibrada con buffer tris (0.05M, NaCl 0.1M, pH 8.0). La muestra que eluyó de la columna se recuperó y precipitó con sulfato de amonio al 20%. Esta se mantuvo en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente, se centrifugó a 21,000 rpm en un rotor SS34 durante 20 minutos a 4°C. Finalmente, el sobrenadante se pasó a través de una columna de cromatografía de afinidad con Lectin lenteil. Las proteínas se eluyeron ligadas al buffer (-methyl-mannoside 0.2M) . Se determinó la concentración proteica

por el método de Bradford (Bradford 1976) y se guardó a - 70 °C hasta su uso en el EITB.

- Electroforesis y electrotransferencia

El antígeno se separo empleando la electroforesis en gel de polyacrylamida con (SDS – PAGE) en un gradiente de concentración que va del 5 al 22.5% con una concentración de antígeno de 0.1 µg / mm de gel. El antígeno es calentado a 56 C durante 15 minutos. La corrida electroforética se inicio con 5 mA/gel durante 5 minutos para alinear el antígeno en el gel de concentración. Luego el amperaje se aumento a 25 mA / gel. La electroforesis demoro 50 minutos aproximadamente. Una vez finalizada la electroforesis se extrajo el gel y las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa en una cámara de transferencia de Bio-Rad con 100 mA durante una hora a 4° C. Finalizada la transferencia, la membrana de nitrocelulosa se lavo 4 veces con PBS – Tween 20 (Sigma) 0.3% durante 5 minutos por 3 veces en agitación, en cantidad suficiente para cubrir la membrana, y una vez con PBS solo. Las membranas de nitrocelulosa se incubaron hasta el día siguiente en PBS – Tween20 0.3% - leche descremada 5% protegidas de la luz para el bloqueo de la reacciones inespecíficas.

- Revelado

Las tiras de nitrocelulosa obtenidas (3 mm cada una) se incubaron en sueros diluidos 1:20 en solución de bloqueo durante tres horas a 37 C en movimiento (el volumen colocado por canaleta es 500 µl); luego se lavaron 5 veces con PBS-Tween 20 al 0.3% a 56 C durante 5 minutos cada uno en agitacion; se agregó el conjugado anti Ig G porcino de peroxidasa (CDC) en una dilución 1/8000 en solución de lavado y se dejo incubando durante una hora a 37 C en movimiento, se lavó 5 veces tres con solución de lavado y dos con PBS solo. Finalmente se añadió el sustrato de peroxidasa, DAB (Sigma) y peroxido de hidrogeno (Bio-Rad) y se incubo a temperatura ambiente y en oscuridad durante 10 minutos. La reacción se detuvo lavando con agua destilada 10 veces. Se dejan secar las tiras. Por cada prueba se coloco marcador de peso molecular, suero control positivo y suero control negativo.

APENDICE 2. Protocolo de la prueba de ELISA – Ag

1. Sueros Controles

- Controles Positivos.- Obtenidos de cerdos adquiridos en Huancayo (zona endémica) positivos a la prueba de lengua, positivos al EITB y necropsia positivos.
- Controles Negativos.- Obtenidos de porcinos adquiridos en granjas de crianza tecnificada en Lima (zona no endémica), negativos al EITB y negativos a la necropsia.

2. Anticuerpos monoclonales

Obtenidos del Departamento de Medicina Veterinaria, Prince Leopold Institute of Tropical Medicine, Bélgica. Estos fueron elaborados “*In Vitro*” contra los productos de secreción - excreción de *Cysticercus bovis* (metacéstodo de *T. saginata*) (Van Kerekhoven *et al.*, 1998). Éstos son:

- B158C11A10. .- Primer AcMo utilizado en la solución Tampón carbonato de Sodio /bicarbonato de sodio pH 9.6 (60mM) en una concentración de 5 µg/ ml.
- B60H8A4 Biotinilado.- Segundo AcMo en concentración de 1.25 µg/ ml en PBS – Tween 20 – NBCS 1%

3. Soluciones utilizadas

- Tampón carbonato de sodio /bicarbonato de sodio pH 9.6 (60mM)
 - Solución A: Na₂CO₃ 0.159 g/ 25ml

- Solución B: NaHCO₃ 0.504 g/100ml

Se mezcló 10 ml de la solución A más 50 ml de la solución B, más 175 ml de agua destilada, se ajustó a pH 9.6 para luego ser completado el volumen a 250 ml con agua destilada. Esta solución se usó en la impregnación del primer AcMo.

- Solución buffer salino fosfatado, pH 7,2

Se utilizó tabletas comerciales Oxoid BR14 (Dulbecco A). 10 tabletas por litro de agua destilada.

- PBS – Tween 20 (Solución de lavado)

PBS , 1000 ml Tween, 20 0.555 ml

- PBS – Tween 20 – NBCS 1% (Solución de Bloqueo)

PBS – Tween 20, 99 ml NBCS , 1 ml

- Streptavidina - HRP

Se usó en una dilución de 1:10 000 en PBS – Tween 20 – NBCS 1%.

- Sustrato

- OPD (Tabletas de 2mg) 2 tabletas

- H₂O destilada, 12 ml

- H₂O₂, 5 µl

Solución que se preparó justo antes de ser utilizada en recipiente de plástico oscuro con tapa.

- Solución de detenido H₂SO₄ 4N

- H₂SO₄, 10.87 ml

- H₂O, 89.13 ml

4. Preparación de los sueros

Los sueros fueron diluidos en una placa de polietileno. Se utilizó 150 µl en una dilución de 1:30. 5 µl de suero homogeneizado en el mezclador y 145 µl de PBS.

Estas diluciones fueron hechas por duplicado incluyendo los sueros controles.

5. ELISA – Ag.

El ELISA –Ag fue realizado de la siguiente manera (Van Kerekhoven *et al.*, 1998):

- Las placas de poliestreno (DYNEX Immulon ® 2HB) fueron impregnadas con 100 µl del primer AcMo B158C11A10 (5 µg/ml en 10ml de tampón carbonato, 0.06M pH 9.6) y dejadas en incubación durante 30 minutos en el incubador – agitador a 37° C (movimientos rápidos).
- Se lavó tres veces con PBS – Tween 20 (0.5%) con la finalidad de eliminar el exceso de reactivo y luego se añadieron 100 µl de PBS – Tween 20 – NBCS 1% (Solución de Bloqueo) en todas los pocillos, se cubrió la placa y se colocó en el incubador – agitador a 37°C con movimientos rápidos durante 15 minutos. Posteriormente se eliminó la solución de bloqueo, secándola bien.
- Se adicionó 150 µl de los sueros diluidos por duplicado, se tapó con plástico autoadhesivo y se incubó a 37°C durante 15 minutos en el incubador – agitador. Luego se desechó esta solución y se lavó 5 veces.
- Posteriormente se colocó en cada pocillo 100 µl del segundo anticuerpo monoclonal (B60H8A4 Biotinilado), la placa fue cubierta con un nuevo papel plástico autoadhesivo y puesta a incubar a 37°C en el agitador durante 15 minutos. Finalizado el tiempo se desechó la solución y se lavó 3 veces.
- Se añadieron 100 µl de Streptavidina - HRP a cada pocillo, se tapó la placa y se puso a incubar a 37°C durante 15 minutos en el Incubador – agitador, concluido este paso la placa se lavó 3 veces.
- Luego cada pocillo recibió 100 µl del sustrato, se tapó la placa y se incubo a 37°C durante 15 minutos en el incubador sin agitación y en oscuridad.
- La reacción de color fue detenida con la solución de Detenido (50µl por pocillo).
- Por último, las placas fueron leídas a una longitud de onda de 492 nm.

INDICE

A		<i>Impacto Económico del Complejo Teniosis / Cisticercosis</i>	21
<i>Aristófanes</i>	12	<i>Inmunidad contra Cisticercosis Porcina</i>	30
C		M	
<i>Cisticercosis en el Cerdo</i>	20	<i>Modelos Animales de Experimentación</i>	31
<i>Complejo teniosis / cisticercosis</i>	12	<i>Modelos Animales para Cisticercosis</i>	32
<i>Cysticercus racemosus</i>	14	N	
<i>Cysticercuss cellulosa</i>	14	<i>Necropsia</i>	36
D		<i>Neurocisticercosis</i>	19
<i>Diagnóstico de Cisticercosis en Cerdos</i>	24	O	
<i>Diagnóstico de Cisticercosis en el Hombre</i>	22	<i>Oncósfera</i>	13
<i>Diagnóstico de Teniosis en el Hombre</i>	22	P	
E		<i>Prueba de evaginación</i>	37
<i>Electro Inmuno Transferencia Blot (EITB)</i>	36	T	
<i>ELISA – Ag</i>	36	<i>Taenia solium</i>	13
<i>Embrión hexacanto</i>	13	<i>Tunicae cellulosa</i>	14
<i>Epidemiología de la Cisticercosis Humana</i>	16		
<i>Epidemiología de la Cisticercosis Porcina</i>	17		
<i>Epidemiología de la Teniosis</i>	15		
I			