



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**“Respuesta de anticuerpos séricos en cerdos frente a
una vacuna recombinante contra *Taenia solium*”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Ana Lucía MARTÍNEZ VELA

ASESOR

Armando GONZALES ZARIQUIEY

Lima, Perú

2018

A Dios y al universo por permitirme la existencia, Hoy, con mucho amor y satisfacción, inicio mi camino y por eso dedico esta tesis a:

Mi madre, Mirian V.; por sus enseñanzas, su profundo amor a todo lo que hace, por su entrega día a día durante toda mi vida, por sus palabras de aliento constante y su gran dedicación..

A mi padre, José M. que con su inigualable ejemplo de superación, su dedicación, sus dulces palabras para corregir errores y disciplina transmitida durante todos estos años, su apoyo incondicional y por ser uno de mis mayores mentores en mi carrera y mi vida.

A mi hermano, José Antonio, que es mi mayor ejemplo de puntualidad, carisma, disciplina, amistad, por sus acciones y sus palabras que son de gran ayuda.

A mis amigos, que me acompañaron durante toda la carrera gracias a ellos he crecido personalmente. Con sus palabras, su apoyo incondicional y por todos esos días en los que nos permitimos vivir nuestros ideales. Le agradezco especialmente a Gerald Moreno, Gustavo Murga y Richard Torres; ellos saben porque.

Al Dr. Luis Gómez P., por su infinita paciencia, gran apoyo y colaboración en cada momento de consulta, por toda la pasión y dedicación a la parasitología y la ciencia, es lo más inspirador que hay en un mentor. Gracias especialmente por su amistad.

A la Dra. Ana Vargas, por su ayuda en aquellos momentos estadísticos, es una excelente profesional y un gran ejemplo.

A la Dra. Teresa López, por su carisma, por su trato tan familiar y amable, por sus enseñanzas con cariño y su paciencia. Gracias por permitirme formar parte del equipo.

Al Dr. Armando González Z., por permitirme iniciar este trabajo de investigación y mostrarme que la ciencia es hermosa, necesita mucha dedicación, compromiso e ideas novedosas. Gracias por sus palabras, por sus experiencias transmitidas. Al terminar la tesis, comprendí que debes aprender de los días malos para disfrutar de los buenos.

En memoria de mi abuelito Dr. Félix A. Bullón, por acompañarme en mis años de infancia.

A todos los maestros que nos transmitieron sus conocimientos durante nuestra carrera, por sus consejos. Muchas gracias a todos aquellos que transmiten sentimientos al trabajar en un laboratorio, dar una clase o hacer medicina clínica. Porque muchos de ellos crean un lazo de amistad, se alegran de vernos, nos brindan palabras alentadoras y nos recuerdan. Ellos dejan huellas en nosotros.

Finalmente, dedico este manuscrito a todas aquellas personas que se dan un tiempo al leer algunas de estas páginas en busca de datos o por curiosidad; porque sin conocerlos recopilé información para poder contribuir a su formación profesional y personal.

Muchas gracias por tomar estas páginas en tus manos y leerlas, he aquí numerosas horas invertidas leyendo, resumiendo, pensando y demás.

Y recuerda que está hecho con mucho cariño, dedicación y pasión que le añado a cada uno de mis proyectos. Un abrazo y bienvenido.

Agradecimientos

A todo el equipo que me brindo su ayuda para la realización de esta tesis. A Elton, que con su gran experiencia con cerdos, alegraba mis días de toma de muestras con una nueva historia de cerditos. Gracias por su amabilidad y respeto a la vida.

A Katy, Cesar y Dr. Gianfranco A., con sus palabras y ayuda pude reflexionar durante la elaboración de mi tesis.

A todo el equipo la Unidad de Inmunología Parasitaria perteneciente a los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID-UPCH), por su gran ayuda, amabilidad, respeto, amistad y sinceridad. Especialmente a la Dra. Yesenia Castillo.

A todas aquellas personas que alguna vez me preguntaron: ¿Cómo va la tesis?

ÍNDICE

	Pág.
Resumen	vii
Abstract	viii
Lista de abreviaturas	ix
Lista de figuras	x
Lista de cuadros	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1. Historia	3
2. Taxonomía y Morfología	6
3. Biología de <i>Taenia solium</i>	13
4. Patofisiología	19
a. Humanos y Neurocisticercosis	19
b. Convulsiones y Epilepsia asociado a NCC	21
c. Inmunología	22
d. Inmunidad en los porcinos	24
e. Genética	24
5. Epidemiología	25
a. África	26
b. América	28
c. Asia	31
d. Europa	32
6. Diagnóstico	33
a. Teniasis	33
b. Cisticercosis en Humanos	33
i. Criterios para diagnosticar NCC	34
c. Cerdos y cisticercosis	36
7. Tratamiento	37
<i>i.</i> Tratamiento en humanos: Teniasis y Cisticercosis	37
<i>ii.</i> Tratamiento en cerdos: Cisticercosis	38
8. Control y Prevención	39
<i>i.</i> Educación Sanitaria	39
<i>ii.</i> Vacunas	40

iii. ¿Es posible eliminar el complejo teniasis-cisticercosis de un área geográfica?	43
9. Sobre el vector: Vacunas recombinantes y Virus de Newcastle	46
III. MATERIALES Y MÉTODOS	48
1. Materiales	48
1.1 Lugar de estudio	48
1.2 Animales	48
1.3 Tamaño muestral	49
1.4 Vacuna	49
2. Metodología	49
2.1. Inmunización de los porcinos	49
2.2. Recolección de muestras	50
2.3. Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación	52
2.3.1. Protocolo Pre Inhibición de la Hemaglutinación	52
2.3.2. Inhibición de la Hemaglutinación	52
2.4. ELISA Indirecta	53
2.4.1. Protocolo de ELISA Tsol18	53
I. Sensibilización de la placa ELISA con antígeno Tsol18	53
II. ELISA Tsol18	53
2.5. Análisis estadístico	54
IV. RESULTADOS	55
a. Resultados para la titulación de anticuerpos contra VNC	55
b. Resultados para la titulación de anticuerpos Tsol18	56
V. DISCUSIÓN	59
VI. CONCLUSIONES	62
VII. RECOMENDACIONES	63
VIII. LITERATURA CITADA	64
IX. APÉNDICE	79
Apéndice 1. Extracción de sangre en cerdos	79
Apéndice 2. Tamaño muestral, resultados de PASS 14 (NCSS)	80

RESUMEN

El complejo teniasis-cisticercosis ocasionado por *Taenia solium*, involucra un gran problema socio-económico, el cual genera pérdidas económicas en los productores de cerdos, al devaluar la carne infectada con cisticercosis. Por otro lado, el parásito puede infectar a humanos, produciendo la teniasis y la neurocisticercosis, siendo esta última la forma más grave que genera cuantiosas pérdidas humanas. Actualmente se han desarrollado diversos programas de tratamiento, control y prevención de la enfermedad. Una de ellas es el uso de vacunas en cerdos. Se ha comprobado que las vacunas generan buena protección en los animales, siendo la vacuna Tso18 la que produce una protección del animal de hasta 100%. Actualmente se busca desarrollar una vacuna de fácil aplicación, eficaz y económica. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la respuesta inmune en cerdos, tras la administración de la vacuna recombinante desarrollada con el antígeno Tso18 expresado en el virus de Newcastle (VNC). Para lo cual se usó 15 cerdos, divididos en 3 grupos de vacunación con 5 individuos cada uno: el grupo I por vía ocular, el grupo II por vía nasal y el grupo III (control), solo recibió suero fisiológico. Los tres grupos fueron vacunados en la semana 0, 1, 5 y 6. Los cerdos fueron sangrados cada semana por 8 semanas, para la obtención del suero. Los anticuerpos contra el Virus de Newcastle, fueron obtenidos mediante la prueba de inhibición de la hemaglutinación (HI). El ELISA indirecto estandarizado con el antígeno Tso18, permitió monitorear la presencia de anticuerpos circulantes contra la proteína Tso18 en cerdos inmunizados por vía oral y nasal. Todas las muestras resultaron positivas a HI para VNC. Se concluye que no hubo diferencia estadística entre la vía de inoculación y los títulos de anticuerpos producidos en los grupos de estudio.

Palabras claves: *Taenia solium*, Tso18, vacuna, ELISA.

ABSTRACT

The Taeniasis-cysticercosis complex caused by *Taenia solium*, involves a major socioeconomic problem in pig producing countries, by devaluing meat infected with cysticercosis. On the other hand, the parasite can infect humans, causing taeniasis and neurocysticercosis, the latter being the most serious form that generates huge human losses. Currently, several treatment, control and prevention programs for the disease have been developed. One of them is the use of vaccines in pigs. It is proven that vaccines generate good protection in animals, being the Tsol 18 vaccine, which produces a protection of up to 100% in pigs. Currently, it is sought to develop a vaccine that is easy to apply, effective and economical. The objective of this study was to evaluate the immune response in pigs after administration of the recombinant vaccine developed with the Tsol18 antigen expressed in Newcastle virus (VNC). A total of 15 pigs were randomly divided into three vaccination groups, with 5 individuals each: the first group by ocular route (lower eyelid), the second group by nasal route (nostril) and the third non-vaccinated group received only solution saline. The three groups were vaccinated at week 0, 1, 5 and 6. The pigs were bled every week for 8 weeks, to obtain the serum. The antibodies against the Newcastle Virus were obtained by the haemagglutination inhibition (HI) test. All samples tested positive for HI for VNC. Antibodies Tsol18, were evaluated by indirect ELISA standardized with the Tsol18 antigen. There is no statistical difference between the route of inoculation and antibody titers in the study groups.

Key words: *Taenia solium*, Tsol18, vaccine, ELISA.

LISTA DE ABREVIATURAS

AED: Fármacos anticonvulsivantes

AINES: Antiinflamatorio NO Esteroideo

CD: Clúster de diferenciación

CSF/LCR: Líquido Cefalorraquídeo

CT: Tomografía Computarizada

EITB/WB: Prueba de Electro Inmunotransferencia o Western Blot

EITB-LLGP: WB ligado a enzimas

ELISA: (Enzyme linked Immunosorbent Assay) Ensayo por Inmunoabsorción ligado a Enzimas.

ETM: Esclerosis Temporal Mesial

HCAM: Molécula de adhesión

HI: Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación

IFN: Interferón

IL: Interleucina

LFA: Ensayo de Flujo Lateral

LID: Laboratorios de Investigación y Desarrollo

LMVP: Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva

MMP: Metaloproteinasa de matriz sérica

MRI: Imagen por Resonancia Magnética

NCC: Neurocisticercosis

OD: Densidad Óptica

OMS/WHO: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

PP: Porcentaje de Positividad

SSC: Cisticercosis Subcutánea

TGTP: Transportador de glucosa

UPCH: Universidad Peruana Cayetano Heredia

VEGF: Factor de crecimiento endotelial

VNC: Virus de Newcastle

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	<i>Taenia solium</i> adulta.	7
Figura 2.	Microscopia electrónica de barrido: Escólex de <i>T. solium</i> adulta.	8
Figura 3.	Tejidos de los Cestodos.	8
Figura 4.	Ilustración de proglotis maduro	9
Figura 5.	Huevos de <i>T. solium</i> .	10
Figura 6.	Metacéstodos de <i>T. solium</i> .	10
Figura 7.	Cisticercos evaginados de <i>T. solium</i>	11
Figura 8.	Cisticercos	11
Figura 9.	Características morfológicas de <i>T. solium</i> .	11
Figura 10.	Microscopia de luz. Protoescoclex	12
Figura 11.	Ciclo de vida de <i>T. solium</i> .	13
Figura 12.	Cisticerco evaginado.	14
Figura 13.	Microscopia electrónica de barrido: Oncósferas.	15
Figura 14.	Micrografías electrónicas de barrido: Protuberancias.	16
Figura 15.	Microscopia electrónica de barrido de cisticerco.	17
Figura 16.	Diagrama de evaginación de <i>T. solium</i> desde el cisticerco.	18
Figura 17.	Resumen de las principales interacciones entre el sistema nervioso central y periférico.	23
Figura 18.	Endemicidad de <i>T. solium</i> .	25
Figura 19.	Prevalencia de epilepsia asociado a pacientes NCC en Latinoamérica.	28
Figura 20.	Inspección de la carne de cerdo.	36
Figura 21.	Representación del genoma del virus de Newcastle.	46
Figura 22.	Inserción de genes foráneos en el VNC.	47
Figura 23.	Vía de aplicación de las inmunizaciones	50
Figura 24.	Métodos de extracción de sangre.	51
Figura 25.	Extracción de sangre en el cerdo de pie.	51
Figura 26.	Título de anticuerpos mediante la prueba de Inhibición de la Hemaglutinación, de la octava semana de estudio.	

Figura 27.	Grafico boxplot del título de anticuerpos contra el virus de Newcastle, en la octava semana de estudio.	55
Figura 28.	Gráfico boxplot para el grupo control del porcentaje de positividad (%pp) del título de anticuerpos contra Tsol18, grupo control.	56
Figura 29.	Gráfico boxplot para el grupo control del porcentaje de positividad (%pp) del título de anticuerpos contra Tsol18, grupo nasal.	57
Figura 30.	Gráfico boxplot para el grupo control del porcentaje de positividad (%pp) del título de anticuerpos contra Tsol18, grupo ocular.	58
		58

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Diferencias morfológicas de <i>T. solium</i> y <i>T. saginata</i> .	12
Cuadro 2. Evolución de los estadios parasitarios de NCC.	20
Cuadro 3. Prevalencia de cisticercosis humana y porcina en Africa Sub-Sahariana.	27
Cuadro 4. Seroprevalencia de cisticercosis porcina en el Perú (1988-2011).	30
Cuadro 5. Criterios diagnósticos de NCC	35
Cuadro 6. Resumen de las vacunas/antígenos usados contra Cisticercosis Porcina.	44
Cuadro 7. Medianas de los porcentajes de positividad (pp) en los 3 grupos de estudio, para el ELISA- Tsol18.	57

I. INTRODUCCION

Taenia solium es un parásito clasificado en la clase Cestoda y pertenece a la familia Taeniinae. Tanto el adulto como el estadio larval de este parásito es de gran importancia en el área de salud pública por producir el complejo teniasis-cisticercosis en los humanos. Este complejo es una enfermedad zoonótica muy importante en países en desarrollo. África, Latinoamérica y Asia son considerados zonas altamente endémicas a esta enfermedad por sus condiciones sanitarias, clima, las costumbres religiosas, económicas, sociales y culturales. La cisticercosis se encuentra en la lista de Enfermedades Tropicales Olvidadas identificadas por la Organización Mundial de la Salud (Yanagida *et al.*, 2014; Garcia *et al.*, 2016a; Wu *et al.*, 2017) .

La tenia adulta se ubica en el intestino delgado del hombre, único hospedero definitivo natural. Los huevos son expulsados en las heces al medio ambiente. Los cerdos al ingerir los huevos de *T. solium*, desarrollan la cisticercosis en diversos tejidos y órganos, resultando así, como el hospedero intermediario. Por lo tanto, cuando un ser humano ingiere carne de cerdo poco cocida y contaminada con cisticercos, desarrolla la teniasis, completando de esta forma el ciclo biológico de *T. solium*. Además, el ser humano puede actuar como hospedero intermediario del parásito, al ingerir huevos de tenia en alimentos contaminados o por auto-infección (Nash *et al.*, 2004).

El estadio larval de *T. solium* es conocido como *Cysticercus cellulosae*, y genera la cisticercosis en animales y humanos. Cuando la cisticercosis se aloja en el sistema nervioso central se denomina neurocisticercosis. De esta forma, *T. solium* al ser el eje del complejo

teniasis-cisticercosis, se asocia como la principal causa parasitaria en casos de convulsiones y epilepsia a nivel mundial. En Latinoamérica, la prevalencia de cisticercosis humana está entre 3.7 a 12.2% y en el Perú el rango es de 5 a 24% (García *et al.*, 2016a; Tellez-Zenteno y Hernandez-Ronquillo, 2017).

Existen numerosas estrategias para el control de cisticercosis como la inspección animal, terapia antihelmíntica masiva en humanos y cerdos, educación sanitaria y la vacunación porcina para bloquear la transmisión de la *T. solium* en su ciclo de vida (Lightowlers y Donadeu, 2017). En la actualidad el uso de vacunas, ha demostrado que previene la infección en el cerdo efectivamente. La vacuna que contiene el antígeno Tsol18, genera mayor inmunidad, se ha validado en América, Asia y África (Lightowlers y Donadeu, 2017). En el presente estudio, el objetivo fue evaluar la respuesta inmune en cerdos de 3 meses de edad, tras la administración de una vacuna desarrollada contra *T. solium*. Para ello, se utilizó una vacuna recombinante usando como vector al virus de Newcastle, la cual contiene Tsol18. La inoculación fue realizada en gotas, en la mucosa nasal y ocular. Los niveles de anticuerpos fueron medidos mediante la prueba de ELISA indirecta (Ag Tsol18). Los resultados permitirán el desarrollo de vacunas de fácil aplicación en campo y que generen buenos niveles de protección inmunológica.

II. REVISION BIBLIOGRÁFICA

1. HISTORIA

Todo inicia con una historia y este patógeno, *T. solium*, tiene registro de antigüedad, tan basto que los primeros hallazgos se evidencian entre los años 3 000 a 1 500 a.C. Por diversas razones, como prevención de enfermedades por ejemplo; muchas culturas, prohibían el consumo de carne de “animal impuro” o cerdo. Así, el libro de los hebreos, “la Biblia”, que data de 600 - 500 a.C., cita a Levítico 11: 7-8: “También el cerdo, porque tiene pezuñas, y es de pezuñas hendidas pero no rumia, lo tendréis por inmundo”. A este libro, se le suma el Corán y la Sunna, pertenecientes a los musulmanes que también incurren en la prohibición de consumo de carne de cerdo (Del Brutto y Garcia, 2015).

Incluso los egipcios se incluyen en esta prohibición dado que conocían la existencia de las tenias, huevos y cisticercos de *T. solium* que son descritas en “Los Papiros de Eber”, 1 500 a.C. Sin embargo, la crianza de cerdos fue practicada en el Egipto Helenista, dado que se considera al cerdo como “sagrado”, por ser la representación viva del tótem de Osiris. En diversos jeroglíficos de la época se muestra que el consumo se daba en el día dedicado el dios Osiris (Bruschi, 2011). Por otro lado los árabes como Ibn Sina o Avicena, creían que los proglotis eran parásitos totalmente distintos a las tenias, y los conocían como *cucurbitini*, por ser similares a las semillas de la Calabaza (*Cucurbita sp.*) y además se usaban estas semillas como tratamiento contra los parásitos (Grove, 1990).

En el año de 1974, fue encontrada una momia que vivió hace más de 3200 años, conocido como Nakht “astrónomo de Amón” y fue el sacerdote del Rey Tutmosis IV. Durante la autopsia de rutina se le encontró lesiones de parásitos y estructuras como quistes de *Trichinella spiralis*, huevos calcificados de *Schistosoma sp.* en hígado y riñón. Siendo de importancia en autopsia la evidencia de huevos de *Taenia spp.* en el intestino delgado (Iles, 1980). Por otro lado, se conoce el caso de una momia perteneciente al periodo Ptolomeico de la cultura egipcia, una joven de 20 años, dada la costumbre del embalsamamiento de cuerpo, en la autopsia para evaluar los órganos, se encontró en la pared del estómago una lesión quística de 6 x 4 mm de diámetro. La inmunofluorescencia indirecta (IFI) confirmó que dicha estructura quística era un cisticerco de *T. solium* (Bruschi *et al.*, 2006). Incluso los huevos de tenia han sido encontrados en los restos de un hombre chino perteneciente a la Dinastía Han en 167 a. C. (Gonçalves *et al.*, 2003).

Los antiguos griegos, también prohibían el consumo de carne de cerdo, dado que conocían la existencia de la cisticercosis, la cual se encuentra registrada en diversos escritos de Heródoto, Hipócrates, Teofrasto y Aristóteles. Este último, escribió el libro *Historia animalium*, de 486 a.C., y detalló la presencia de quistes en los músculos de los cerdos. Incluso en la obra “Los caballeros” de Aristophanes, se hace referencia al examen que le hacían a los cerdos, para ver quistes bajo la lengua (Grove, 1990; Todman, 2008). La cultura greco-romana, creía en la epilepsia como una enfermedad de origen divino, la cual se relata en libro “*Corpus Hippocraticum- La enfermedad Sagrada*” de Hipócrates. Los médicos romanos Celso, Plinio “El Viejo” y Galeno reconocieron a las tenias y las denominaron “*lumbricus latus*” (Todman, 2008).

En 1558, Rumler encontró vesículas conteniendo líquido en las meninges en una autopsia de un paciente epiléptico, sumado a este caso, Panaeolus en 1652, registro vesículas similares en el cuerpo calloso de la autopsia de un sacerdote que sufría de convulsiones. Hasta ese momento nadie registró el origen de las vesículas halladas en ambos casos. En 1697, fue Malpighi que reveló el hallazgo del escólex de *T. solium* dentro de las vesículas, antes descritas (Grove, 1990).

El primer caso en el Perú, fue reportado en 1792, por Hipólito Unanue bajo el pseudónimo de Aristio en El Mercurio Peruano (Del Brutto y Garcia, 2015). Relata el caso del soldado Ventura Medez, internado el 8 de febrero de ese mismo año, en el hospital San Andrés. El paciente tenía síntomas, que se interpretan, como convulsiones y expulsó una “tenia” de 6 metros de longitud, se considera que fue *T. solium*. El deceso del interno fue 3 días después de la expulsión, por lo que se considera que presentaba epilepsias de la categoría Grand Mal (Deza, 1987).

En Alemania, en el siglo XIX, un grupo de patólogos, observaron una gran similitud entre la morfología de la cabeza de la *T. solium* y el escólex contenido en el cisticerco. A inicios de 1853, F. Küchenmeister realizó estudios en prisioneros condenados a muerte. En un primer momento, seleccionó a un convicto y al no tener *Cysticercus cellulosae*, administró *C. pisiformis* (conejo) y *C. tenuicollis* (cerdo) en una sopa de fideos. Por suerte para la ciencia, tres días antes de la muerte del reo, Küchenmeister obtuvo carne de cerdo con *C. cellulosae* de un restaurante cercano; el cerdo fue sacrificado 60 horas antes de su preparación. A la mañana siguiente, para el desayuno, se administró al convicto, los cisticercos dentro de salchichas. La condena a muerte se extendió por dos años y medio más, y luego de 48 horas de su ejecución, se encontró en los intestinos *T. solium* con su escólex adherido a la pared mucosa (Grove, 1990). Es así como Küchenmeister comprendió que el escólex de *C. cellulosae* es el mismo de *T. solium*, el modo de infección es el mismo que de otras tenias oral y por ingerir cisticercos en alimentos crudos o mal cocidos. Estas conclusiones fueron confirmadas por Yoshino, cuando se autoinfectó con *C. cellulosae*, para analizar el ciclo de vida del cestodo (Mendlovic *et al.*, 2014).

A finales del siglo XIX y las dos primeras décadas del siglo XX, se registraron numerosos casos de personas con epilepsia en Hospitales de la Armada Británica. Al asociar a todos los casos, se encontró que pertenecían a militares que colonizaron África sub-sahariana e India; áreas en las que la cisticercosis ya había sido reportada en 1888, en la autopsia de un paciente del Hospital de Madras (Del Brutto y Garcia, 2015). En 1930, en el Hospital Militar Reina Alejandra, se registraron 450 casos de cisticercosis humana, pertenecientes a militares que sirvieron en la India muchos años atrás. Así se obtuvo la incidencia de cisticercosis sintomática en 1.2 a 2 por cada 1000 personas de las tropas en India entre los años 1921 y 1937 (Del Brutto y Garcia, 2015).

A partir de 1970, los movimientos de migración de países latinos hacia Estados Unidos, empezaron a ser más frecuentes. Consecuentemente años después, los casos de neurocisticercosis empezaron a aparecer en grupos religiosos y culturales, que no consumían carne de cerdo, sin embargo sus empleados provenían de áreas endémicas. Los casos se produjeron por contaminación fecal-oral de trabajadores “latinos” a empleadores que tenían al cerdo fuera de su dieta habitual (Schantz *et al.*, 1992; Del Brutto, 2013).

2. TAXONOMÍA y MORFOLOGÍA

Las especies del género *Taenia* infectan carnívoros y humanos como hospederos definitivos; la familia *Taeniidae* requiere de 2 mamíferos obligatoriamente para su transmisión, dependiendo de la especificidad del parásito. La filogenética expulso que la asociación del ciclo biológico de las tenias se deben a eventos de la colonización, en un 50 a 60 % entre los hospedadores carnívoros y en un 20 a 30% en hospederos herbívoros (Hoberg, 2006; Yuan *et al.*, 2016). Las tenias siguen un patrón en el ciclo biológico, basados en la relación presa-predador sumado a la asociación de hospedero definitivo e intermediario. Para esto fue de mucha ayuda la ecología del medio ambiente y los hábitos alimenticios de los animales en proceso de especiación. Diversos estudios nos muestran que en los orígenes de las especies parasitas, dos hechos jugaron un rol muy importante estos son: la historia de la asociación de los hospedadores y la distribución geográfica para los ciclos complejos (Orr *et al.*, 2004; Criscione *et al.*, 2005).

Durante la diversificación de la tenia se busca evolutivamente un nuevo hospedero definitivo y un cambio de hospedero intermediario, alternativo, basados en el crecimiento del cuerpo del animal sumado al tropismo de asociación de grupos de animales y ecosistema que facilitan la predictibilidad de la dinámica de transmisión. Por ejemplo en especies originadas en África se asocia una gran lista paleontológica de carnívoros y felinos sobre antílopes y bovinos como presa (Ito *et al.*, 2003).

La colonización y migración de especies es aplicado a la historia de las asociaciones entre estas especies. Por lo tanto el origen de la *Taenia sp.*, en humanos se asocia a la domesticación de especies como ganado para *T. saginata* o porcinos para *T. solium* con la adaptación del ciclo sinantrópico del *Homo sapiens* por más de 10 000 años (Hoberg, 2006). Bajo un régimen de cambios climáticos y ecológicos cerca de la transición del Plioceno – Pleistoceno. Son dos eventos de cambio de hospedador desde félidos (*T. saginata* + *T. asiatica*) y hienas (*T. solium*) para humanos, mucho antes de la domesticación de animales (Hoberg *et al.*, 2001; Hoberg, 2006).

Según C. Linnaeus 1758, realizó una clasificación taxonómica, de mayor a menor muy detallada de *T. solium*, ubicándola dentro de los organismos celulares, Dominio Eucariota, clado Opistoconto, clado Holozoa, clado Filozoa, clado Apoikozoa, Reino Animalia o Metazoa, Subreino Eumetazoa, rama Bilateria, Filo Platyhelminthes, Clase Cestoda, Subclase Eucestoda, Orden Cyclophyllidea, Familia Taeniidae, Subfamilia Taeniinae, Género *Taenia* y Especie *solium* (Pawlowski, 2002). La clase Cestoda, abarca más de 5000 especies, siendo estos helmintos

hermafroditas, endoparásitos, los cuales presentan un cuerpo en forma de cinta (Gripper y Welburn, 2017). La familia Taeniidae, comprende una extensa cantidad de individuos distribuidos en 2 géneros, 45 especies validadas y 3 subespecies (Loos-Frank, 2000; Bobes *et al.*, 2014).



Figura 1. *Taenia solium* adulta. A. Detalle de la cabeza, escólex, cuello o estróbilo, proglotis inmaduros, maduros y grávidos. B. Microscopía del escólex (Mahanty *et al.*, 2010).

La *T. solium* adulta (Figura 1) mide entre 2 a 7 metros, es de color blanco amarillento y se divide en tres porciones, las cuales son: 1) **Cabeza o escólex**, globular de 0.6 a 1 mm, que posee 4 ventosas redondas de 0.4 a 0.5 mm y un ápice llamado róstelo, en este se ubican dos filas o coronas de 22 a 32 ganchos grandes de 0.14 – 0.18 mm y pequeños de 0.11 a 0.14 mm (Figura 2); 2) **el cuello**, constituido en su mayoría por tejido embrionario, es por esta razón que durante toda su vida seguirá formando el cuerpo del cestodo. En la región distal del cuello ocurre el proceso de estrobilación o producción de proglotis; y 3) **el cuerpo o estróbilo**, puede desarrollarse de 2 a 3 m (se han reportado casos de más de 7 m), conformado por un gran número de segmentos o proglotis, entre 800 a 1000, los cuales se dividen en inmaduros (llenos de tejido embrionario y más cercanos al cuello); maduros (poseen un aparato genital masculino y femenino desarrollados, conocido como genitalium) y finalmente grávidos, que poseen 7- 12 ramificaciones uterinas a cada lado, llenas de huevos (Figura 4). Los huevecillos en un proglotis grávido, se encuentran en distintos grados de maduración, y aproximadamente el 50% contienen oncósferas infectivas desarrolladas (Soulsby, 1987; Sciutto *et al.*, 2000; Barriga, 2002; Quiroz, 2005).

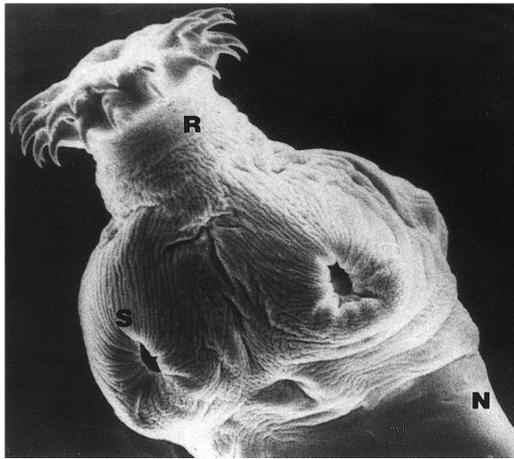


Figura 2. Microscopia electrónica de barrido: Escólex de *T. solium* adulta.

El escólex es de forma globular y tiene 4 ventosas. El róstelo presenta dos filas de 11- 14 ganchos de 100-160 μm . Ventosas y róstelo permite la adhesión de la tenia a la pared intestinal. R (rostelo), S (ventosa), N (cuello o estróbilo) (Sciutto *et al.*, 2000).

La nutrición de *T. solium*, se da gracias al tegumento (Figura 3) que consiste en una capa citoplasmática con numerosas microvesículas y mitocondrias cubiertas por una membrana externa organizada en pliegues llamados microtricos y rodeados por el glicocálix. La membrana interna del tegumento esta sobre la membrana fibrosa basal, debajo de ella se sitúa los citons tegumentarios conectándose con el tegumento por las extensiones citoplasmáticas o procesos internunciales. Los citons tegumentarios sintetizan proteínas y otros componentes superficiales que se exportan al tegumento en forma de vesículas que alcanzan el citoplasma distal a través de los procesos internunciales (Sciutto *et al.*, 2000).

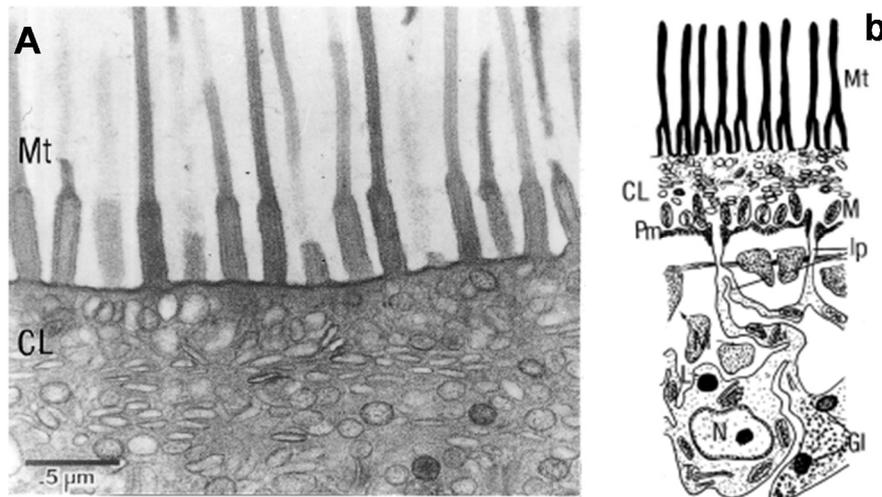


Figura 3. Tejidos de los Cestodos. La mayoría son sincitiales, de esta forma presenta numerosas conexiones entre sus estructuras especializadas. El tegumento es la superficie del parásito que contacta con el hospedador. **A.** Micrografía del tegumento de la *T. solium*. **B.** Esquema del tegumento: **CL** (Membrana citoplasmática), **M** (mitocondria), **Mt** (microtricos), **Tc** (citon tegumental), **Ip** (Proceso internuncial), **Ms** (tejido muscular), **N** (núcleo), **L** (depósito de lípidos), **Gl** (depósito de glicógeno), **Pm** (membrana plasmática) (Sciutto *et al.*, 2000).

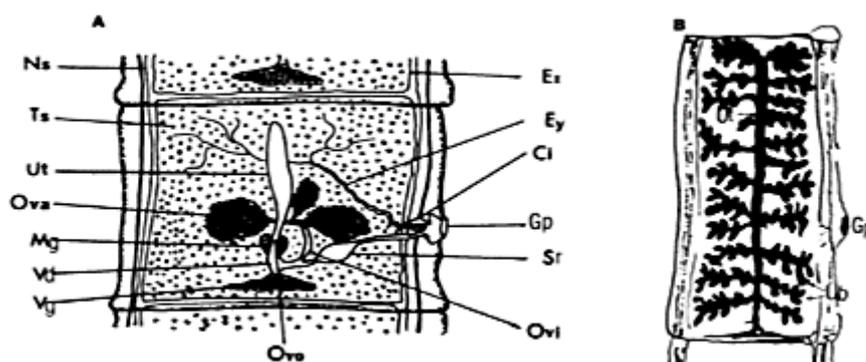


Figura 4. Ilustración de proglotis maduro. **A)** Sistema reproductivo: Sistema masculino está formado por un (Ey) ducto eyaculador, (Ts) testículos, (Ci) cirrus, (Gp) Poro genital. Sistema femenino: (Sr) receptáculo seminal, (Ovi) oviducto, (Ova) ovario, (Vg) glándulas vitelinas, (Vd) ducto vitelino, (Mg) glándulas de Mehlis, (Ovo) ovotipo, (Ut) utero, (Ex) canal excretorio, (Ns) rama nerviosa. **B)** Proglótido grávido: Ub (testículos y ovarios) (Sciutto *et al.*, 2000).

El sistema reproductor masculino (Figura 4) está formado por un ducto eyaculador con numerosos testículos conectado a un ducto espermático, que se acopla a una estructura copulatoria denominada cirrus, y otra parte es conectada a la vagina mediante el poro genital. El sistema reproductor femenino, contiene a la vagina que termina en el receptáculo seminal, la cual conecta al oviducto. Los oocitos maduros abandonan el ovario a través de un solo oviducto, donde se da la fertilización. Las células de las glándulas vitelinas migran a través del ducto vitelino para asociarse al cigoto, además las glándulas unicelulares, denominadas glándulas de Mehlis, rodean al ovotipo, y tienen la función de cubrir al cigoto con una secreción seromucosa, que sirve de sustrato para la formación del embrióforo. En el útero, se desarrollan los embriones, completando así la embrionación. Los huevos infectivos se almacenan en los proglotis grávidos, ubicados al final del cestodo, son liberados por apólisis, y son transportados intactos fuera del hospedador junto a las heces o se desintegran, cumpliendo la función de liberar los huevos al medio ambiente (Sciutto *et al.*, 2000; Pawlowski, 2002).

Los huevos (Figura 5) se caracterizan por tener apariencia estriada, miden 30-45 μm y contienen una oncósfera, también conocida como embrión hexacanto dado que tiene contiene 6 ganchos, rodeado por numerosas capas de proteínas, que la protegen contra agresiones externas. Su tiempo de vida es de 7 días a 38 °C + 92% de humedad y hasta los 300 días en ambiente húmedo a 7°C; al estar expuesto al medio ambiente van perdiendo viabilidad, por ende su capacidad de infección (Lawson y Gemmell, 1983; Sciutto *et al.*, 2000). Actualmente se conoce que los escarabajos del género *Amophorus* ayudan a la dispersión de estos huevos (Gonzales, 2008).

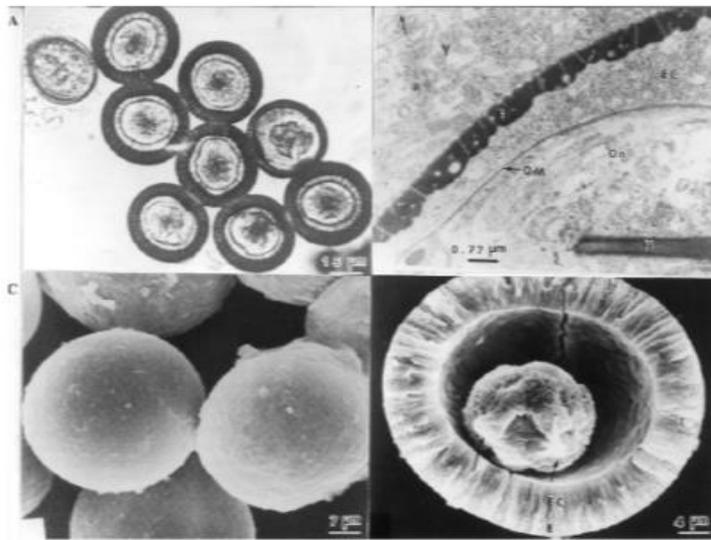


Figura 5. Huevos de *T. solium*. A. Microfotografía de luz de huevos aislados. B. Microscopía electrónica de transmisión, de un huevo inmaduro, flecha señalando a la capsula, Y (yema), E (embrióforo), EC (células del embrióforo), OM (membrana de la oncósferas), On (Oncósferas), H (gancho). C. Microscopía electrónica de barrido, de un huevo con la medida de 35-45 μm x 30-40 μm . D. Microscopía electrónica de barrido de un huevo roto, la flecha indica un par de ganchos de la oncósferas, se muestra digestión de las paredes protéicas por enzimas proteolíticas (Sciutto *et al.*, 2000).

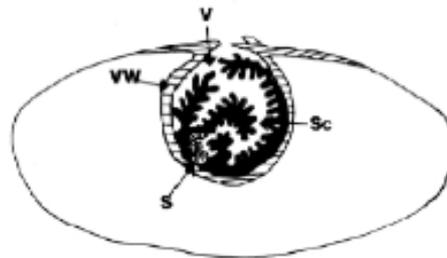
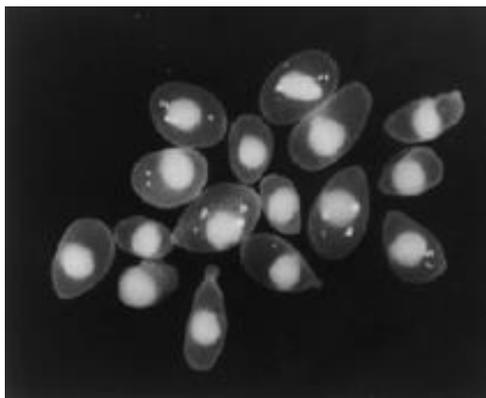


Figura 6. Metacéstodos de *T. solium*: (cisticercos) son vesículas translúcidas conteniendo un fluido (0.5 – 2cm diámetro), internamente tiene un escólex invaginado. El escólex presenta 4 ganchos y un róstelo armado, como los parásitos adultos. A la izquierda, cisticercos extraídos de la musculatura de un cerdo infectado. A la derecha. Ilustración de cisticercos: Sc (canal espiral), S (escólex), V (vestíbulo), VW(pared vestibular) (Sciutto *et al.*, 2000).

Cisticercus cellulosae, es la forma larvaria de *T. solium*; se basa en una vesícula ovoide (Figura 6, 7 y 8), posee una pared delgada transparente, conteniendo líquido translúcido. Dentro de ella hay un punto blanco que es el escólex desarrollado e invaginado. Verster (1967) reportó la longitud de los ganchos pequeños y grandes en 110 -140 μm y 160-170 μm y Soulsby (1982) reportó estas medidas en 110-140 μm y 140-180 μm respectivamente. Boa (1995), examinó 83 carcasas de cerdos y reportó 27 ganchos y sus medidas en ganchos pequeños y grandes fue de 105-130 μm y 168-174 μm (Verster, 1967; Chawhan *et al.*, 2016).



Figura 7. Cisticercos evaginados de *T. solium* (Ito, 2015).

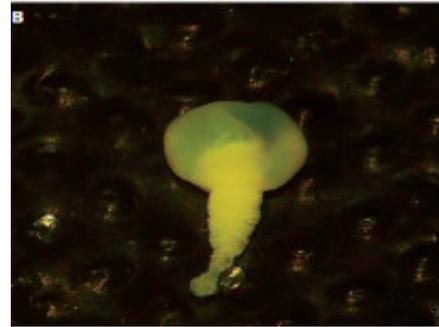
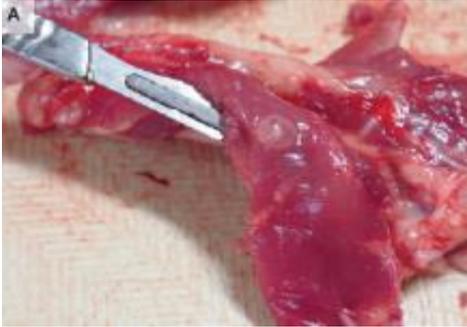


Figura 8. Cisticercos. A. Muestra un cisticercos no degenerado, vivo con fluido limpio, contiene un escólex central. B. Muestra de cisticercos de *T. solium* evaginado luego de ser colocada en un medio viable (García *et al.*, 2016)

Actualmente la *T. solium* y *T. saginata*, producen parasitosis a nivel intestinal en el humano. Entre ambas existen diferencias morfológicas; por ejemplo el escólex de *T. solium* presenta 22 a 32 ganchos en el róstelo del escólex (Figuras 9 y 10), mientras que *T. saginata* no tiene ganchos ni róstelo. En su forma adulta la *T. solium*, es más pequeña; su proglotis mide 1.5 a 8 mm, formando 700 a 1000 proglotis; por otro lado *T. saginata*, tiene proglotis de 4 a 12 mm, y forma alrededor de 200 proglotis; contiene un ovario bilobulado ,con esfínter vaginal (Fan, 1988; Eom y Rim, 1993; Loos-Frank, 2000; Pawlowski, 2002).

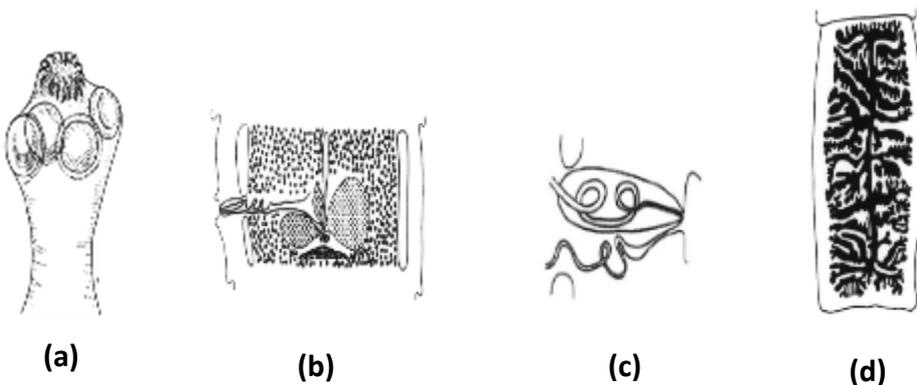


Figura 09. Características morfológicas de *T. solium*. (a) Escólex con presencia de ganchos, (b) Ovario trilobulado en un proglotis maduro, (c) No hay esfínter vaginal en el atrio genital, y (d) Patrón de ramificación del útero en un proglotis maduro (Pawlowski, 2002).

Cuadro 1. Diferencias morfológicas de *T. solium* y *T. saginata* (Pawlowski, 2002).

Características	<i>T. saginata</i>	<i>T. solium</i>
Hospederos intermediarios	Ganado vacuno y caribú.	Cerdos , jabalíes y caninos.
Metacestodos		
<ul style="list-style-type: none"> • Ubicación • Medida (mm) • Escólex • Superficie quiste 	Vísceras y músculos. 7-10 x 4-6 No tiene róstelo Rugoso (similar estomago)	Musculos,piel(subcutáneo) y cerebro. 5.6- 8.5 x 3.1- 6.5 Róstelo y ganchos Verrugoso
Tenia Adulta		
Escólex		
<ul style="list-style-type: none"> • Diámetro (m) • Numero de Ventosas • Diámetro de ventosas (mm) • Róstelo • Numero de ganchos 	1.5- 2.0 4 0.7-0.8 Ausente Ausente	0.6-1.0 4 0.4-0.5 Presente 22-32
Proglotis		
<ul style="list-style-type: none"> • Longitud (mm) • Ancho (mm) • Numero de proglotis 	4-12 12-14 c. 2000	1.5-8 7-10 700-1000
Proglotis Maduros		
<ul style="list-style-type: none"> • Numero de testículos • Ovario • Esfínter vaginal 	800-1200 Bilobulado Presente	375-575 Trilobulado Ausente
Proglotis Grávidos		
<ul style="list-style-type: none"> • Numero de ramas uterinas • Patrón de ramificación • Expulsión desde el hospedero. 	18-32 Dicótomo Individual, Espontaneo	7-12 Dendrítico Grupal, Espontaneo.

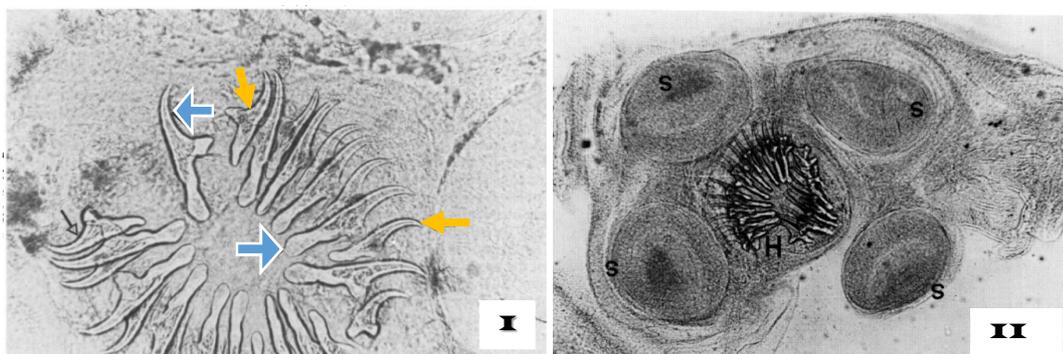


Figura 10. Mediante microscopía de luz m,100x. Muestra el protoescolex de *T. solium* I. Indicando los ganchos pequeños (amarillo) y ganchos largos (azul). II. Muestra las 4 ventosas (S) y los ganchos rostellares (H) (Bao *et al.*, 1995).

3. BIOLOGÍA DE *Taenia solium*

El ciclo de vida del parásito (Figura 11) inicia dentro del proglotis maduro, los oocitos salen del ovario en profase de meiosis I, se dirigen al oviducto donde la penetración por los espermias estimula la división meiótica completa. Numerosas células de las glándulas vitelógenas se unen al cigoto y se dirigen al ootipo, un área del oviducto, aquí las glándulas de Mehlis secretan membranas que rodean al cigoto. Dentro del huevo ocurre la embriogénesis, lo cual da paso a la oncosfera, al ser ingerida por el hospedero intermediario (cerdo, canino o humano) se dirige a un sinnúmero de ubicaciones extraintestinales, desarrollándose así el *C. cellulosae* y por lo tanto la cisticercosis (Bobes *et al.*, 2014; Gonzales *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2017).

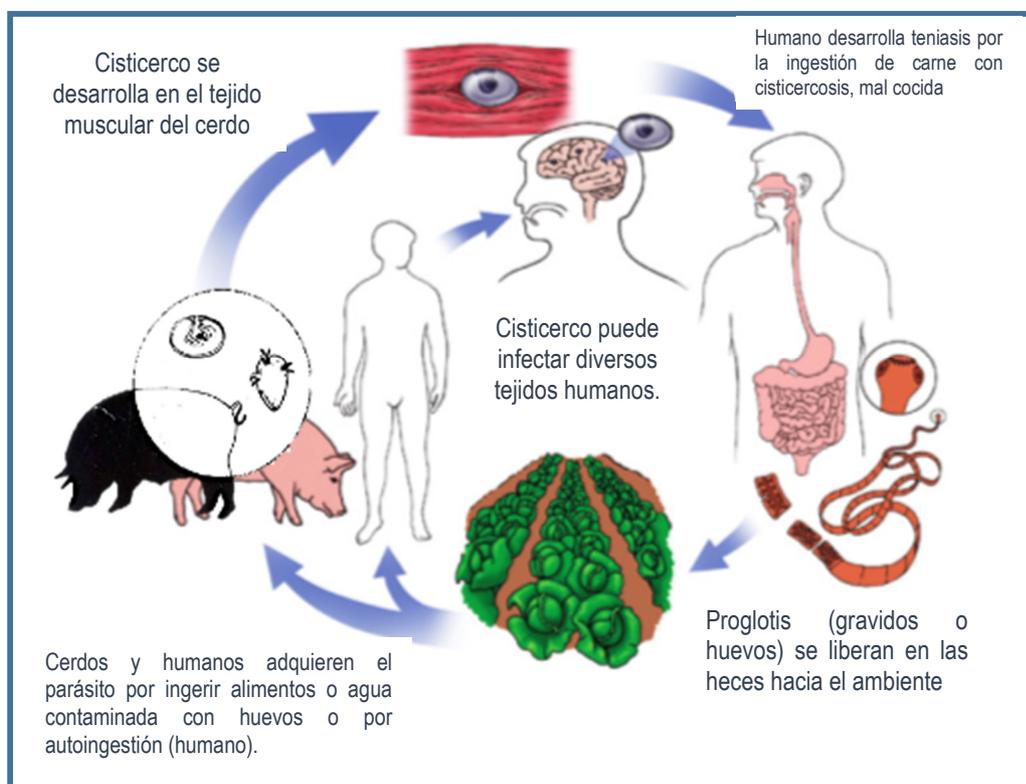


Figura 11. Ciclo de vida de *T. solium* (Ito *et al.*, 2016; Kraft, 2007).

Para desarrollar **Teniasis**, se debe desarrollar el estadio adulto en el hospedero definitivo (ser humano), dado por la ingestión de carne de cerdo contaminada con cisticercos (Bobes *et al.*, 2014). Cuando el ser humano ingiere el cisticerco, este contacta con el intestino, pierde la capa protectora, evagina (Figuras 12-16) y se adhiere a la pared intestinal. Inicia su crecimiento a partir de la adhesión del escólex con la pared intestinal, luego de 8 semanas es producida la tenia adulta, donde los proglotis desarrollados están maduros y son reproductivamente competentes. *T. solium* libera de 3 a 6 proglotis por día, conteniendo de 30

000 a 70 000 huevos por proglotis en el intestino y cerca de 250 000 de ellos pasan diariamente en las heces humanas al medio ambiente y de esta forma continua el ciclo (Gripper y Welburn, 2017).

La **cisticercosis humana** ocurre cuando los humanos actúan como hospedero accidental, consumiendo los huevos por recursos externos a través de auto-infección o por vía fecal-oral al ingerir alimentos manipulados por teniásicos con malas prácticas de higiene (Wu *et al.*, 2017). La oncosfera es ingerida, cruza la mucosa intestinal y por vía sanguínea se dirige a una ubicación extraintestinal. Tenemos así a la cisticercosis subcutánea, por la acumulación de cisticercos bajo la piel. La forma más grave de cisticercosis es desarrollada al situarse en el cerebro, en la mayoría de casos se ancla en la interfase materia gris-materia blanca como neurocisticercosis (NCC). Aquí el embrión empieza a crecer, se convierte en quiste y desarrolla un polo (escólex), en esta fase el parásito tiene la capacidad de regular la inmunidad para prolongar su existencia en el hospedador (Gonzales *et al.*, 2016; Malik *et al.*, 2017).

Durante el desarrollo del quiste la sobrevivencia y crecimiento del parásito depende de la vascularización y angiogénesis, sumado a una incrementada producción de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Promoviendo así, el desarrollo de la capsula, la cual aísla al parásito y le brinda protección contra daños externos (Bueno, 2012; Chekhonin *et al.*, 2013).

La nutrición de los cisticercos se basa en rutas metabólicas aerobias y/o anaeróbicas, lo cual dependerá de la disponibilidad de oxígeno en el medio y sus nutrientes son obtenidos por difusión facilitada mediante la pared vesicular. Además, dos transportadores de glucosa (TGTP1 y TGTP2) se ubican en la superficie tegumentaria y en la pared vesicular respectivamente (Rodríguez-Contreras *et al.*, 1998).

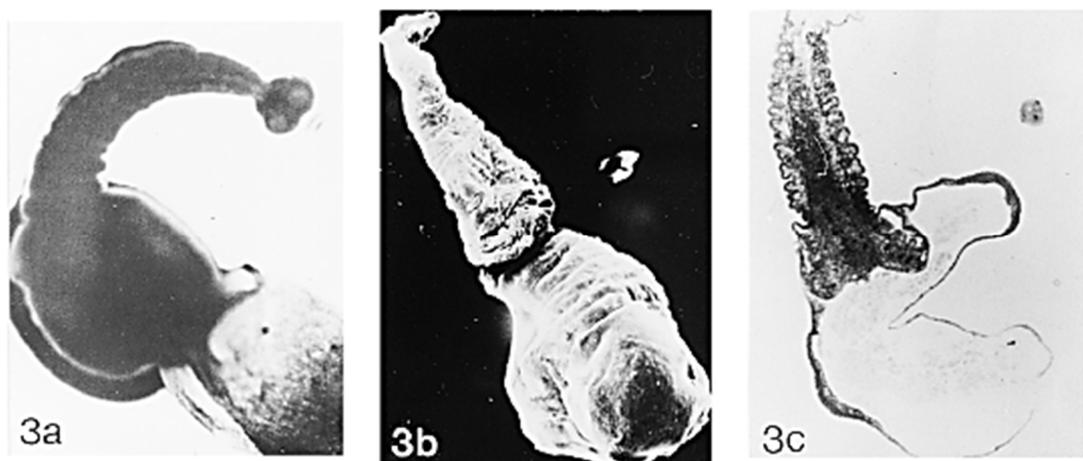


Figura 12. **Cisticercos evaginados** 3a. Bajo la disección microscópica. 3b. Bajo microscopía electrónica de barrido. 3c. El escólex y cuello, seguidos de la cámara remanente del quiste (Rabiela *et al.*, 2000).

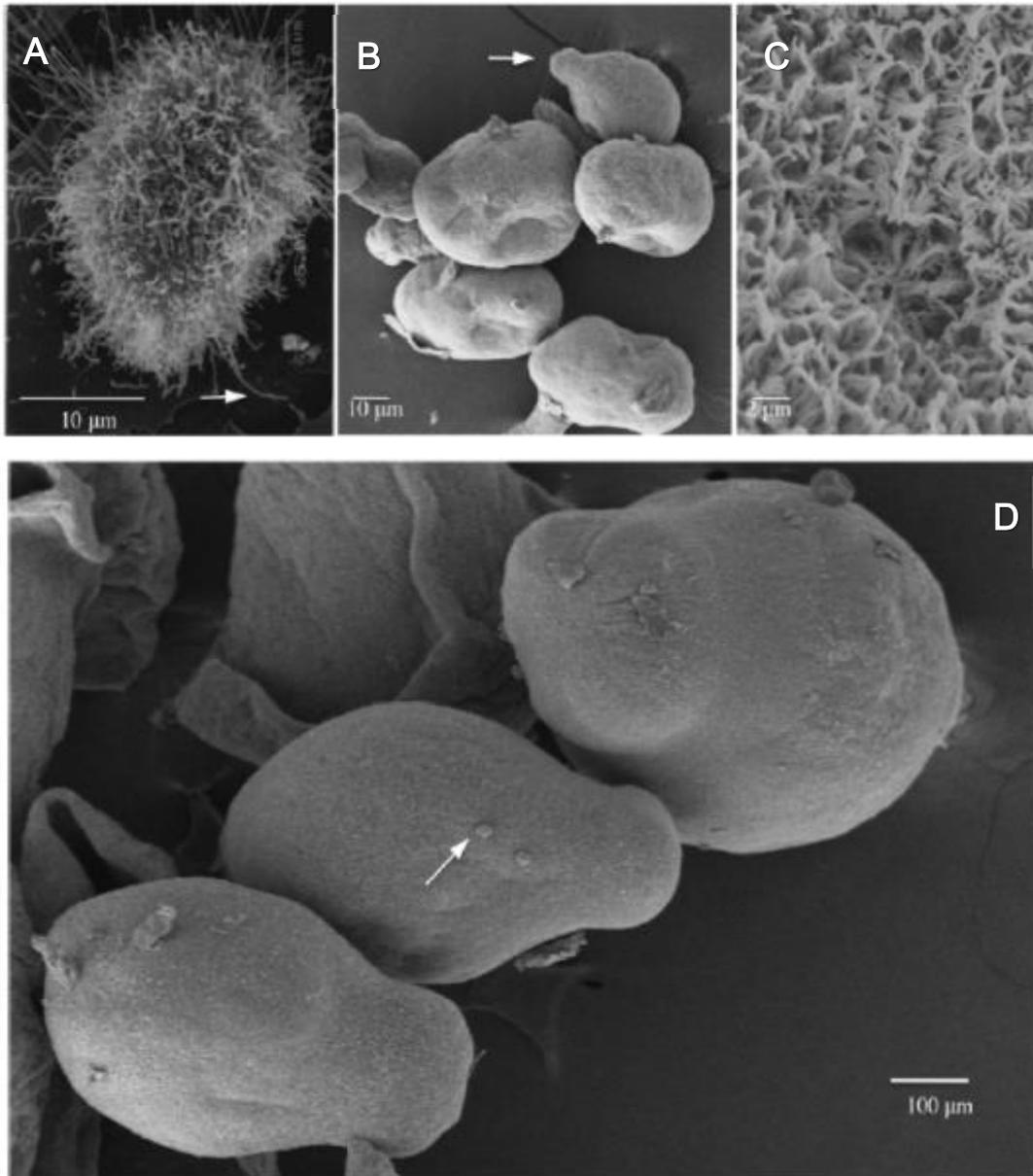


Figura 13. Microscopía electrónica de barrido, muestra formas postoncosferales de *T. solium*. A. Oncósferas activada con microvili elongado. B. Oncósfera de 15 días, se observa una protuberancia. C. Toma de los microtricos del tegumento de oncósfera de 30 días. D. Oncósferas de 30 días mostrando vesículas (Chile *et al.*, 2016).

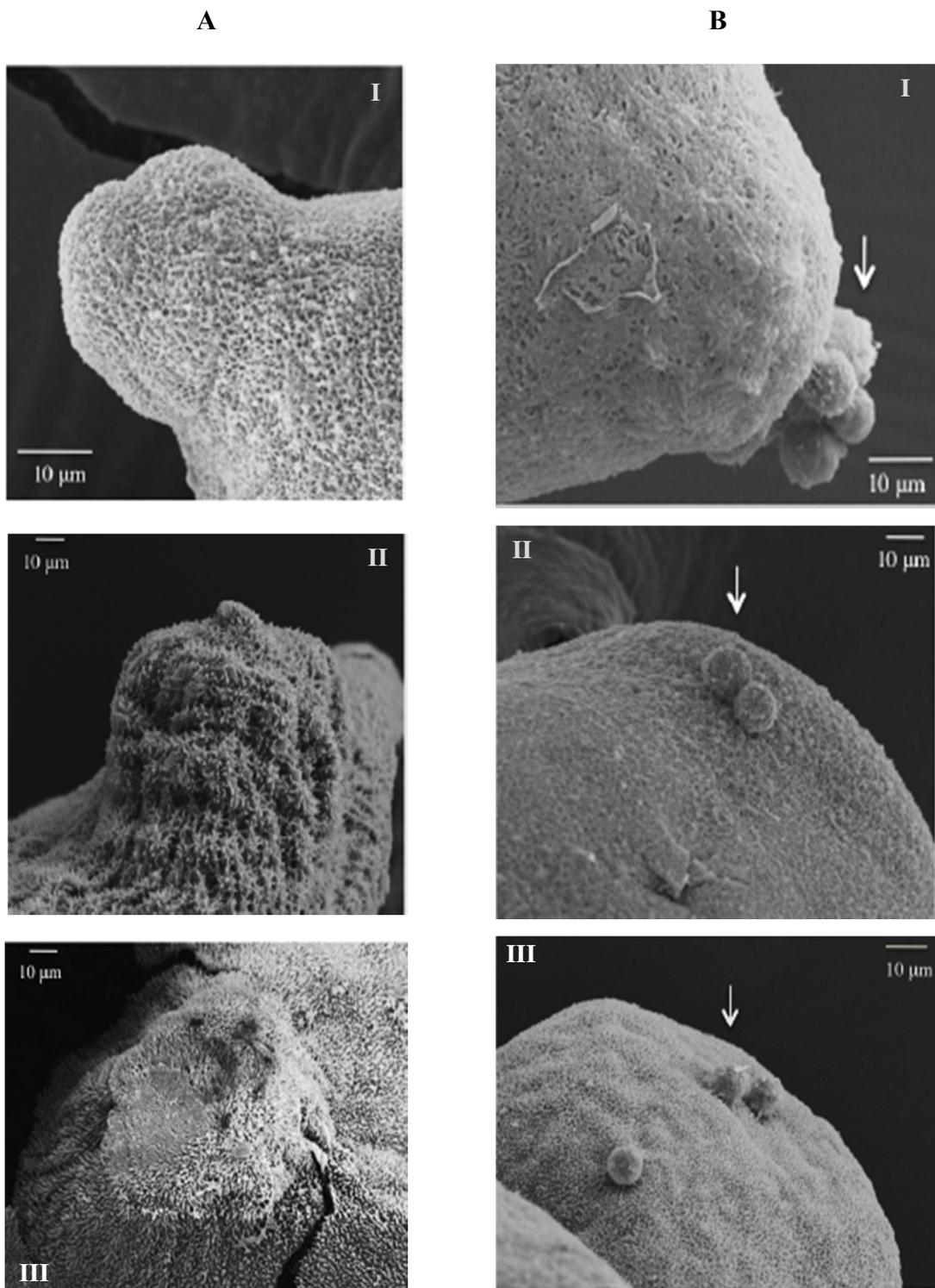


Figura 14. Micrografías electrónicas de barrido de las protuberancias desarrolladas en las formas postconcofericas (PO) de *T. solium* en tres puntos de crecimiento. Fila A. Microtricos y Fila B. Vesículas (flechas) observadas sobre la superficie de la protuberancia de las PO de 15 (I), 30 (II) y 60 (III) días (Chile *et al.*, 2016).

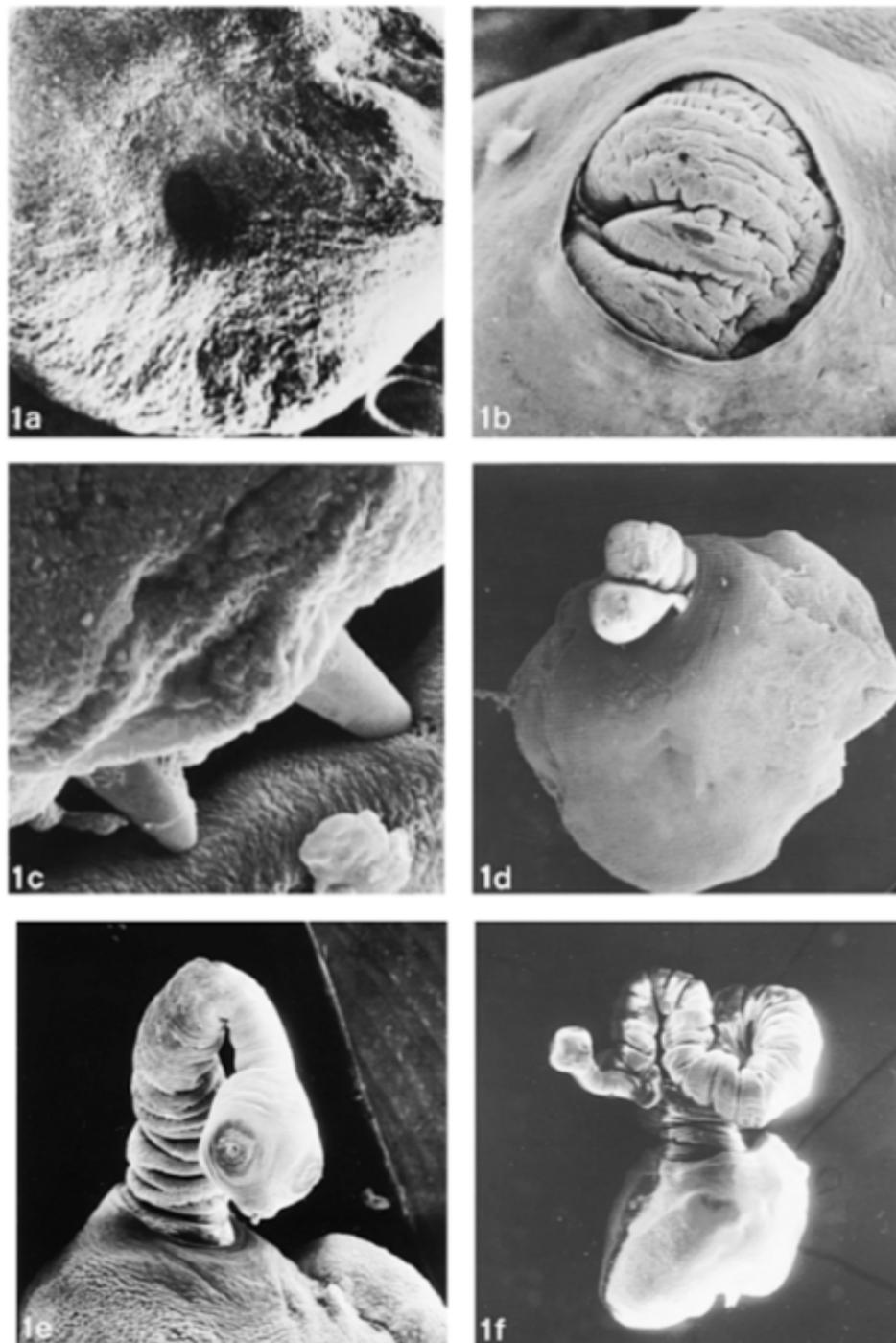


Figura 15. Microscopía electrónica de barrido de cisticerco: Muestra 1a. Poro del cisticerco. 1b. Capa externa del cisticerco protruyendo desde el interior. 1c. Ganchos del escólex. 1d. Escólex y cuello emergiendo del quiste. 1e. Escólex con ganchos, ventosas y cuello emergiendo. 1f. Final de la evaginación (Rabiela *et al.*, 2000).

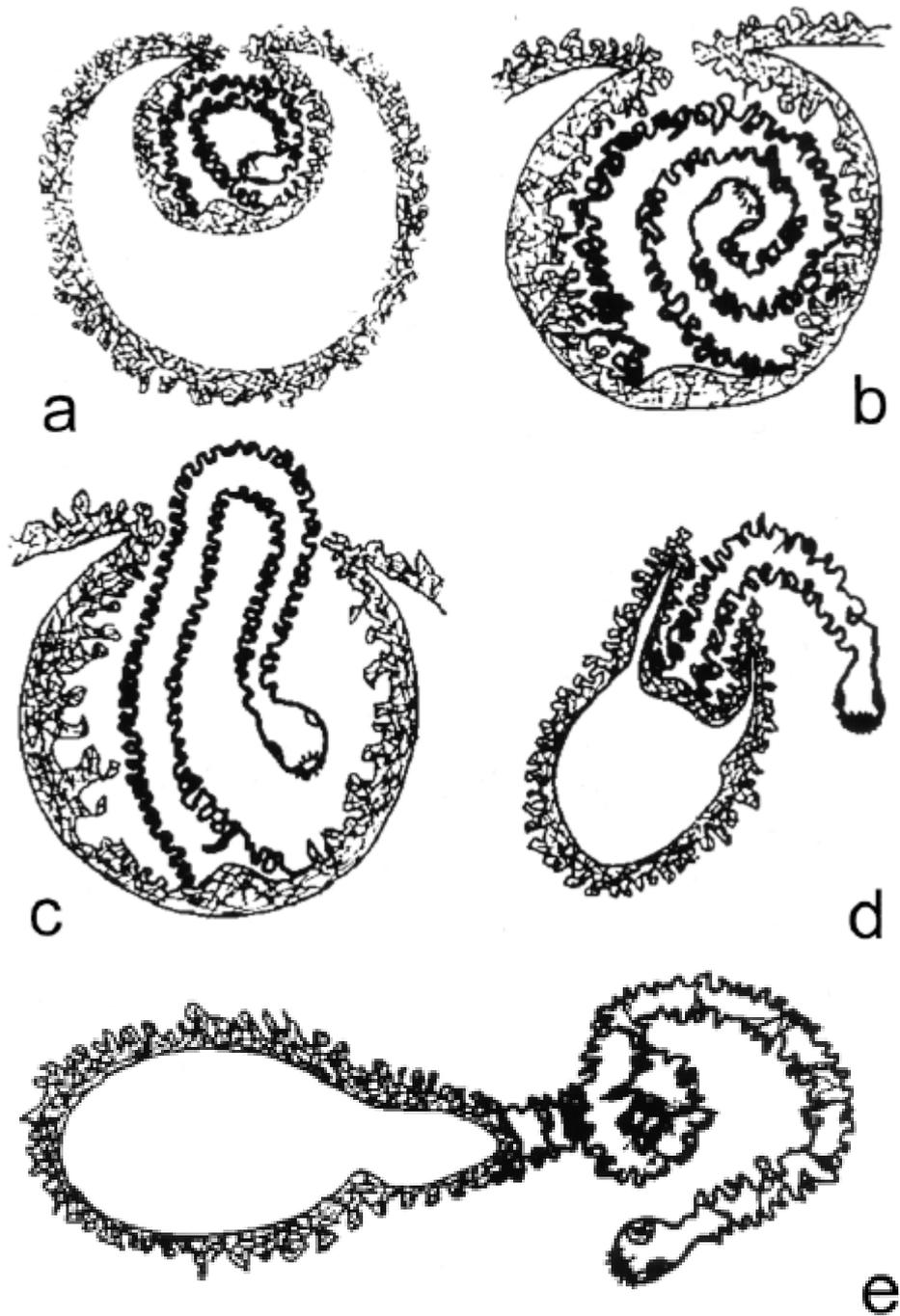


Figura 16. Diagrama de la evaginación de *T. solium* desde el cisticerco, (a) Se observan dos cámaras: interna y externa, (b) canal espiral conformado por el borde de la pared del quiste y el cuello, (c) *T. solium* sobresaliendo por el poro del cisticerco, (d) escólex y cuello liberándose del quiste y (e) Cámara quística residual del cisticerco evaginado (Rabiela *et al.*, 2000).

4. PATOFISIOLOGÍA

Se han desarrollado numerosos estudios en modelos animales para entender el desarrollo de la enfermedad en el humano. Para encontrar un tratamiento adecuado con la menor cantidad de efectos colaterales y proveer calidad de vida al paciente durante el tratamiento.

a. Humanos y Neurocisticercosis:

La neurocisticercosis (NCC) es la enfermedad parasitaria más frecuente del Sistema Nervioso Central (SNC); es pleomórfica, heterogénea y depende de una compleja interconexión de factores como número, tamaño, estadio del parásito, edad el huésped, género y respuesta inmune del hospedador. Las manifestaciones clínicas son muy variables, lo que dificulta el diagnóstico (Nash *et al.*, 2004; Nash *et al.*, 2015; Del Brutto *et al.*, 2017a). Clínicamente, el factor más importante es la ubicación; por estar asociada a la semiología de las convulsiones. Por ejemplo, los quistes ubicados en la unión de la materia gris cortical y la materia blanca subcortical generalmente limitadas a 1-2 centímetros de diámetro produce un daño cerebral leve (Gonzales *et al.*, 2016; Gripper y Welburn, 2017).

El desarrollo de NCC, inicia en el "estadio viable o vesicular" en el que se desarrolla una membrana alrededor de cada oncosfera, formando una vesícula que contiene líquido claro que rodea el escólex. Dependiendo del ambiente circundante y la naturaleza de la respuesta inmune que su presencia produce, los quistes pueden permanecer en esta etapa durante meses o incluso años, antes que inicie su degeneración. A continuación la «fase coloidal» marca una transición, por lo que el escólex muestra signos de deterioro y el líquido vesicular se hace gradualmente más opaco y turbio. Así el quiste comienza a calcificarse, debido a la incorporación de calcio sobre el tejido fibrótico del parásito; terminando eventualmente su evolución como nódulo calcificado no viable (Cuadro 2) (Coral-Almeida *et al.*, 2015; Fleury *et al.*, 2016).

La NCC, según su ubicación puede ser extraparénquimal o parénquimal. En el caso de la NCC extraparénquimal, abarcan los quistes subaracnoideos (que desarrollan gran tamaño y forma lobulaciones; pierden el escólex y usualmente están en la base del cerebro, causando hidrocefalia; o en la fisura de Silvio, provocando efecto de masa) o intraventriculares (que generan elevación temporal o permanente de la presión intracraneana la cual es secundaria al bloqueo del acueducto de Silvio o del orificio de Lushka y Magendie). A menudo, tiene mal pronóstico como la muerte. La NCC parénquimal, está relacionada a granulomas y calcificación lo que desencadena convulsiones, sin embargo resulta en un buen diagnóstico (Tuero *et al.*, 2015; Maguire, 2016). Las convulsiones suelen aparecer a partir de la tercera década de la vida del

paciente, exceptuando a aquellos que tienen un solo quiste degenerado, estos pacientes suelen ser turistas de zonas no endémicas que visitaron una zona endémica una vez, o una infección durante su infancia (García *et al.*, 2014; Gonzales *et al.*, 2016).

La NCC racemosa es una forma “aberrante”, poco común de proliferación del cisticerco, produce múltiples quistes no encapsulados que dan la apariencia de “racimo de uvas”. Usualmente, esta forma de presentación, se localiza en áreas no confinantes del cerebro como la cisterna supraselar, Silvana y cuadrigeminal o alrededor del tronco cerebral rostral, mayormente no evidencian escólex. Tiende a generar un efecto de masa y afectar el nervio craneal, o generar aracnoiditis provocando meningitis, hidrocefalia e infrecuentemente infartos de vasos minúsculos secundarios a endarteritis (Saini *et al.*, 2017).

Cuadro 2. Evolución de los estadios parasitarios de NCC.
Extraído de Fleury *et al.*, 2016.

ESTADIOS	CISTICERCO (Parasito)	RESPUESTA INMUNE (Hospedero)	
VESICULAR	Pared del cisticerco y contenido transparentes. Escólex viable e invaginado	Inflamación escasa. Abundan linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos.	
COLOIDAL	Pared del cisticerco delgada. Contenido turbio. Escólex inicia degeneración hialina.	Inflamación con infiltración intensa de células NK, macrófagos, gran cantidad de Th1.	IL-2 IL-6 IL-12 TGF-B IFN-J
GRANULAR	Escólex totalmente degenerado.	Inflamación con Infiltrado abundante alrededor del parásito con células plasmáticas, B, T, linfocitos, macrófagos y mastocitos.	IFN-J IL-18, TGF-B Th2 IL-4 IL-13 IL-10 , ↑↑Th1
CALCIFICACION	Alrededor del “cisticerco” existe gliosis astrocítica intensa y proliferación microglial.	GLIOSIS ASTROCITICA	

Inicia gliosis astrocítica

En pacientes ancianos, la NCC tiene predisposición a desarrollar quistes vesiculares múltiples, mientras que en pacientes femeninas se observa una reacción inflamatoria incrementada con gran número de leucocitos en LCR e inflamación durante la tomografía, encefalitis. Como los quistes suelen generar hipertensión intracraneal, se desarrolla el Síndrome de Brun, básicamente es un inicio abrupto de síntomas que generan cambios en la posición de la cabeza, luego de la obstrucción del flujo del LCR por el acueducto cerebral, ocasionado por quistes flotantes en el IV ventrículo (Fleury *et al.*, 2004; Tuero *et al.*, 2015; Gonzales *et al.*, 2016).

La cisticercosis humana fuera del cerebro, puede desarrollarse en todo el cuerpo, de esta forma hay reportes de cisticercosis subcutánea, mayormente en países asiáticos. Es detectable por las masas dolorosas e inflamadas bajo la piel. Existen casos de cisticercosis diseminada, inclusive puede localizarse en el corazón, sin ocasionar síntomas. Sin embargo cuando se ubica en zonas sensitivamente importantes como el globo ocular genera síntomas, dado que puede comprometer al músculo oculomotor, ocasionando desviaciones en la mirada (estrabismo), además si los quistes se localizan en la cámara anterior del globo ocular pueden generar bloqueo de campos visuales incluso los cisticercos subretinales o retinianos provocan problemas en la agudeza visual (Madigubba *et al.*, 2007; Rath *et al.*, 2010).

b. Convulsiones y Epilepsia asociado a NCC

La habilidad de *T. solium* para modular el sistema inmune del hospedador contribuye a su longevidad en el hospedero humano. Cuando el quiste pierde la propiedad de suprimir la inmunidad del hospedador, este empieza a degenerarse produciendo una respuesta inflamatoria. Ocasionada por la liberación de antígeno y/o pérdida de inmunosupresión parasitaria, lo que generando edema perilesional alrededor quiste calcificado, convirtiéndose en el foco de activación de la epilepsia en el 50 % de los casos (Nash *et al.*, 2015; Tuero *et al.*, 2015).

La neurocisticercosis equivale aproximadamente al 29% de todos los casos de epilepsia en algunas zonas endémicas, por lo que es usada para estudiar la epileptogénesis en humanos; durante el desarrollo de la enfermedad (Nash *et al.*, 2015). Los modelos animales y los casos de neurocisticercosis humana, confieren la oportunidad de analizar los procesos moleculares y celulares que producen en el cerebro una descarga paroxística en una pequeña población de neuronas, lo que se conoce como epileptogénesis (Maguire, 2016). Las convulsiones y epilepsia en neurocisticercosis, están asociada a la respuesta inflamatoria producida por las formas degenerativas y calcificaciones de los granulomas parasitarios (Nash *et al.*, 2004; Nash *et al.*, 2015; Del Brutto *et al.*, 2017b).

Las convulsiones son una manifestación de NCC parénquimal, dado que si el cisticerco se ubica en otro lugar del cerebro no genera convulsiones. Sin embargo en el espacio subaracnoideo también pueden producirse, debido a la degeneración del quiste en esta ubicación provocando inflamación, por lo tanto convulsiones (Singh y Sharma, 2017).

La calcificación del cisticerco en el cerebro es ocasionada por la progresión de la enfermedad o por el tratamiento quimioterapéutico. En el 50% de pacientes con NCC calcificada presentan convulsiones recurrentes debido al edema perilesional quístico transitorio producido. Incluso luego del tratamiento para NCC, entre el 10 a 60% de los quistes tienden a calcificarse. Adicionalmente se sabe que *T. solium* presenta corpúsculos calcáreos, diminutos gránulos calcificados, en el cuello del escólex invaginado, lo que puede servir para el depósito de calcio. Como se sabe estas calcificaciones tienden a ser focos de convulsiones, sin embargo estas tienen mayor probabilidad de ocurrencia si presentan un escólex detectado mediante imagen por resonancia magnética (MRI), gliosis perilesional, pacientes con niveles elevados de metaloproteinasa de matriz sérica 9 (MMP-9) y diversos polimorfismos de la anterior. Esta asociación calcificación-convulsión resulta en Esclerosis Temporal Mesial (ETM), que puede llegar a generar epilepsias (Nash *et al.*, 2017a; Nash *et al.*, 2017b).

c. Inmunología:

La correlación entre la presencia de anticuerpos y la intensidad de infección de la cisticercosis, se da por la viabilidad de los parásitos cuando están vivos o muertos, pero rara vez cuando los cisticercos están calcificados (Murrel *et al.*, 2005). La cisticercosis es el claro ejemplo del delicado balance entre inflamación y regulación del sistema inmune. Durante el desarrollo de la NCC, convive en el hospedero la inflamación y la regulación; es así como la inflamación patológica puede verse amortiguada por mecanismos inmunoreguladores que pueden promover una fase asintomática en el hospedador. Se ha demostrado que los pacientes con NCC diseminada, muestran un enorme grado de inmunoregulación como inhibir la síntesis de citoquinas proinflamatorias, disminución de los niveles de citoquinas Th_1 y Th_2 , adicionalmente tendencia al aumento del número de T_{reg} . De esta forma una fuerte inmunomodulación produce la diseminación de esta infección parasitaria, y en el caso opuesto la falta de regulación inflamatoria provoca convulsiones y hasta la muerte (Maizels y McSorley, 2016). Durante el desarrollo de la inflamación, puede desarrollarse *ependimitis granularis* o también conocido como quistes ventriculares, contribuyen al bloqueo de los acueductos en pacientes con NCC ventricular. Una obstrucción similar puede resultar de las membranas subaracnoideas alrededor del tronco encefálico produciendo inflamación meníngea. Finalmente la hidrocefalia ocasionada puede ser

el resultado de una inflamación y fibrosis de las vellosidades aracnoideas, produciendo incapacidad para reabsorber el LCR (Fleury *et al.*, 2011).

En pacientes con NCC, se observó una disminución del ratio CD4/CD8, sugiriendo que las células CD8 están implicadas en la inmunosupresión. Las muestras de LCR de pacientes NCC con quistes degenerados e inflamación, evidencian altos niveles de CD8, sumado a una alta expresión de CD69 (clúster de diferenciación) y moléculas de adhesión : buscador de objetivos u “homing” (HCAM) e intercelular (ICAM) (Bueno, 2012).

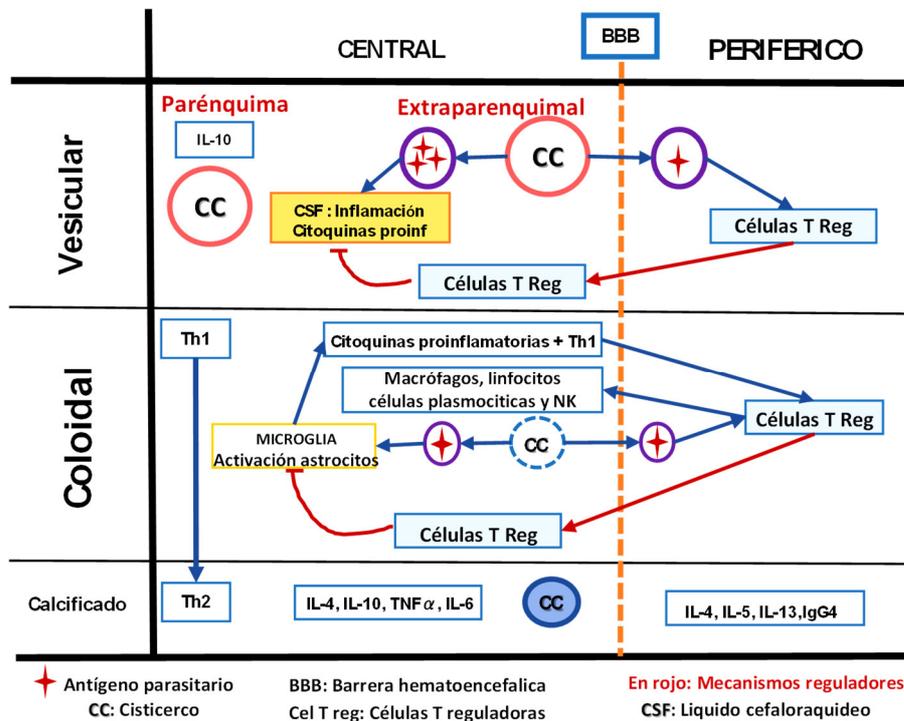


Figura 17: Resumen de las principales interacciones entre la respuesta inflamatoria del Sistema Nervioso Central y Sistema Nervioso Periférico en pacientes NCC. En la fase vesicular, el cisticerco impide la reacción inflamatoria del hospedero, no hay activación de microglia ni de astrocitos. En la etapa coloidal, el CC pierde los mecanismos reguladores. La microglia y los astrocitos son activados y la inflamación aumenta. La muerte del parásito se asocia con el cambio de Th1 a Th2 (Fleury *et al.*, 2016).

Al comparar la respuesta inmune de la sangre periférica de pacientes con NCC subaracnoidea y parénquimal, se encontró niveles altos de Th_1 ($IFN_\gamma/IL-12$), Th_2 (IL-4/IL-13), G-CSF, VEGF y tendencia a la elevación de IL-5 y eotaxina en pacientes NCC parénquimal. Por otro lado, se evidenció altos niveles de IL-2, IFN_γ , IL-9, IL-1 β / IL-8/ IL-5, MCP-1, MCP-1 α , PDGF y G-CSF sumado a un aumento en número de la subpoblación CD16/CD56 de linfocitos en pacientes con NCC subaracnoidea. Ver figura 17 (Tuero *et al.*, 2015).

Actualmente se sabe que los genes y sus variaciones están asociados con trastornos neurológicos, el aumento de la frecuencia de las proteínas GSTM1 y GSTT1 (Glutación-S-transferasa), HLA-A28, HLA-B63, TLR4 Asp299Gly y sICAM-1 del gen K469 están asociados a un mayor riesgo de adquirir NCC; mientras tanto HLA-DQW2 y HLA-A11 confiere protección para esta enfermedad. Así la susceptibilidad a NCC fue 3.55 veces más elevada en individuos HLA-A28 positivos (Arora *et al.*, 2017).

d. Inmunidad en los porcinos:

En los cerdos los estudios inmunopatológicos detectaron que durante la NCC porcina existe astrogliosis generalizada, daño neuronal y axonal, incluyendo la expresión incrementada de proteína acida fibrilar glial (GFAP) y proteína de neurofilamento (NFP). En lesiones crónicas, las terminaciones de los astrocitos forman cicatrices gliales alrededor del parásito. La rápida angiogénesis en las terminaciones de los astrocitos, resulta en la pérdida de la barrera hematoencefálica en los vasos sanguíneos lo que permite el flujo de células inmunes como eosinófilos, macrófagos, linfocitos T CD3, linfocitos B y células plasmáticas en las lesiones (Sikasunge *et al.*, 2009).

La inmunidad adquirida del lechón al nacer, se establece al ingerir el calostro en las primeras horas de vida, dado que la placenta al ser epiteliocorial impide el pase de los anticuerpos. Al evaluar la longevidad de los anticuerpos maternos adquiridos de madres infectadas naturalmente con *T. solium* (cisticercosis), se detectó isotipos (IgG_{total} e IgG_1) en suero de lechones, el primer día de nacidos, los anticuerpos disminuyeron desde las 4 a 8 semanas de edad (Sikasunge *et al.*, 2010).

e. Genética

Aislados mitocondriales de ADN de *T. solium*, provenientes de cisticercos de cerdos naturalmente infectados de áreas endémicas, fueron analizados encontrándose dos genotipos diferentes de *T. solium*: asiático y afro-americano. Esto explica así la alta frecuencia de presentación de cisticercosis subcutánea (SCC) en pacientes asiáticos (Nakao *et al.*, 2002). En pacientes NCC latinoamericanos, no hay reportes de casos de SCC. Sin embargo en África hay reportes de NCC con o sin SCC (Ito *et al.*, 2016). Adicionalmente un estudio de ADNm en Malasia, zona hiperendémica de cisticercosis animal y humana, existen ambos genotipos. Se descubrió que la divergencia de estos genotipos, África/América y Sur-Asia/India, se dio en el Pleistoceno; además sugiere que la introducción de *T. solium* a Latinoamérica o África se dio por la expansión europea y sus rutas marítimas de colonización (Yanagida *et al.*, 2014). En los

porcinos se asume que el antígeno y la variabilidad de la respuesta inmune están sujetos a la intensidad de las infecciones naturales por *T. solium*. De esta forma el proceso inmune concomitante previene el establecimiento de nuevos quistes. Evidentemente la respuesta inmune detecta cantidades muy pequeñas de antígenos y amplifica su presencia mediante la expresión de anticuerpos IgG detectables (Ito *et al.*, 2003; Bobes *et al.*, 2010; Ostoa-Saloma *et al.*, 2013).

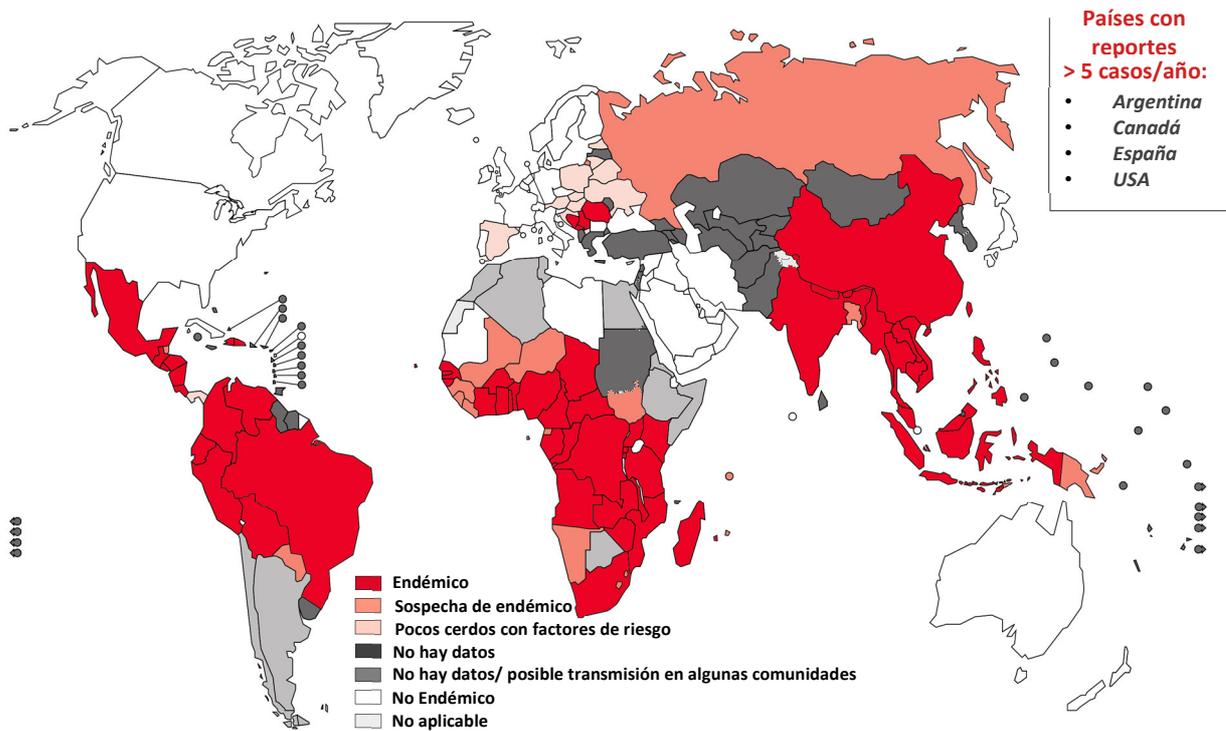


Figura 18. Endemicidad de *T. solium*, 2015 (WHO, 2016) .

5. EPIDEMIOLOGÍA

A nivel mundial se considera que existen aproximadamente 50 millones de pacientes NCC por *T. solium* y se atribuyen 50 000 muertes al año (Wu *et al.*, 2017). Los pacientes con NCC están distribuidos aproximadamente en 3 a 6 millones en China y 11 a 29 millones en Latinoamérica (WHO, 2013). Según un reporte de la Organización Mundial de la Salud, de 194 países, 56 fueron endémicos, 45 no endémicos, 19 sospecha de endemidad y 12 con pocos cerdos con factores de riesgo (Figura 18) (WHO, 2016).

El desarrollo de la cisticercosis ocurre en países pobres o en desarrollo, especialmente en regiones con climas cálidos o templados como África Subsahariana, Asia y Latinoamérica. El cerdo en estas zonas tradicionalmente se consume crudo o poco cocido, donde no existen condiciones adecuadas en salubridad. Al comparar la sintomatología de las regiones, los pacientes

de India muestran alta frecuencia de NCC sintomática producida por un solo quiste en cisticercosis parénquimal comparado a los pacientes de Latinoamérica. En Latinoamérica, mayormente se afectan por cisticercosis múltiple en los ventrículos o espacios subaracnoideos, reflejando los factores genéticos asociados a las áreas geográficas y los estilos de vida de la población (Gripper y Welburn, 2017).

a. África

Por ser una región endémica, se realizan numerosos estudios para la prevención y control de esta zoonosis, así según los reportes de cada país tenemos:

- **En Tanzania:** el número anual de casos de NCC asociados a epilepsias es de 17 853 personas. Lo que genera un gasto anual de 5 millones de dólares por los casos de epilepsias asociadas a NCC y una pérdida de 3 millones de dólares por la cisticercosis porcina, lo que representa una amenaza para la economía, agricultura y salud pública. Sumado a esto se evidencio que más del 11% de la población de cerdos estaba infectado con cisticercosis por *T. solium* mediante el examen de lengua como método de diagnóstico (Trevisan *et al.*, 2017a).
- **En Zambia:** la prevalencia de cisticercosis porcina es de 47.7%. En Camerún fue de 19.6%, 20 de 102 animales (Shah *et al.*, 2017).
- **En Madagascar,** la prevalencia de cisticercosis porcina en Antavario se estimó en 2.3 -2.6%, usando ELISA B158B60 y ELISA HP10, siendo el primero más específico (95% vs 74%) (Porphyre *et al.*, 2016).
- **En Congo,** un estudio realizado con 4 599 personas, entre hombres (2359) y mujeres (2240), con una edad media de 23 años (5-93); mostro que el 40.7% no tenían letrinas en sus casas, el 48% no usa letrinas y el 13.5% vivían con cerdos; el 23.4% eran teniasicos (positivos a ELISA coproantígeno). El grupo etario mayormente positivo fueron las personas comprendidas entre 5 a 10 años de edad. Analizando las distancias entre los teniasicos y los cerdos infectados se mostró que mientras el radio era menor a 80 m con respecto al teniasico los cerdos eran más positivos. Los cerdos muestreados fueron 338, de los cuales el 45.6% seropositivos a cisticercosis, mediante sero-Ag B158/B60 ELISA (Madinga *et al.*, 2017).

Cuadro 3: Prevalencia de cisticercosis humana y porcina en África Sub-Sahariana (Assana *et al.*, 2013).

Países	Cisticercosis Porcina		Cisticercosis Humana	
	P %	Autor	P%	Autor
Angola	6.8	Kama, 1998	ND	
Benin	ND		1.3	Houinato <i>et al.</i> , 1998
Burkina Faso	39.6	Ganaba <i>et al.</i> , 2011	10.3	Carabin <i>et al.</i> , 2009
Burundi	39	Newell <i>et al.</i> , 1997	2.8	Newell <i>et al.</i> , 1997
Camerun	24.6	Assana <i>et al.</i> , 2010	4.6	Zoli <i>et al.</i> , 2003
Republica Africa Central	ND		2.4	Druet-Cabanac <i>et al.</i> , 1999
Chad	40.8	Assana <i>et al.</i> , 2001	ND	
Cote d'Ívore	2.5	Mishra y N'Depo, 1978	21.6	Kanobana <i>et al.</i> , 2011
Congo	41.2	Praet <i>et al.</i> , 2010	0	Secka <i>et al.</i> , 2010
Gambia	4.8	Secka <i>et al.</i> , 2010	ND	
Ghana	11.7	Permin <i>et al.</i> , 1999	2.4	Waruingi <i>et al.</i> , 2002
Kenya	14	Phiri <i>et al.</i> , 2003	21	Andriantsimahavandy <i>et al.</i> , 2003
Madagascar	4	Kagira <i>et al.</i> , 2010	21	Afonso <i>et al.</i> , 2011
Mozambique	39.9	Pondja <i>et al.</i> , 2010	ND	
Nigeria	14.40	Gweba <i>et al.</i> , 2010	7	Vanderick <i>et al.</i> , 1972
Rwanda	20	Thienpon <i>et al.</i> , 1959	11.9	Secka <i>et al.</i> , 2011
Senegal	13.2	Secka <i>et al.</i> , 2010	8.5	Mafojane <i>et al.</i> , 2003
Sudafrica	56.7	Krecek <i>et al.</i> , 2011	ND	
Tanzania	5.9	Mkupasi <i>et al.</i> , 2011	2.4	Dumas <i>et al.</i> , 1989
Togo	17	Dumas <i>et al.</i> , 1990	ND	
Uganda	45	Mafojane y Phiri, 2003	5.8	Mwape <i>et al.</i> , 2012
Zambia	8.5	Waiswa <i>et al.</i> , 2009	ND	
	23.3	Sikasunge <i>et al.</i> , 2008		
Zimbabwe	28.6	Phiri <i>et al.</i> , 2003		

- **En Uganda**, se realizó un estudio transversal en 3 distritos (Kamuli, Masaka y Mukono). Para evaluar la prevalencia de cisticercosis porcina haciendo uso de ELISA: HP10 Ag y ApDia Ag, basándose en detectar los productos secretorios y excretorios del cisticerco viable. La prevalencia en el área rural fue de 10.8% y en el área urbana fue de 17.1% (Kungu *et al.*, 2017a). Además al realizarse un estudio sobre los conocimientos de los granjeros en esta región, el 63% conocían mayor información sobre la teniasis frente a la cisticercosis humana o porcina, el 0.3% tenía conocimiento de los 3 términos. El 94.1% desparasitaba a los cerdos, el 62% se desparasitaba a ellos y sus familias, siendo el albendazol el fármaco más usado en un 85%, para la desparasitación en ambos casos. El 54.6% constaba de agua limpia cerca a las letrinas, por lo que se lavaban las manos, y solo el 41.9% de ellos usaba jabón después del uso de la letrina (Kungu *et al.*, 2017b).

b. América

• Norteamérica

La prevalencia de epilepsia activa en USA es de 8.4/1000 y la prevalencia es de 16.5/1000 (Moyano *et al.*, 2014).

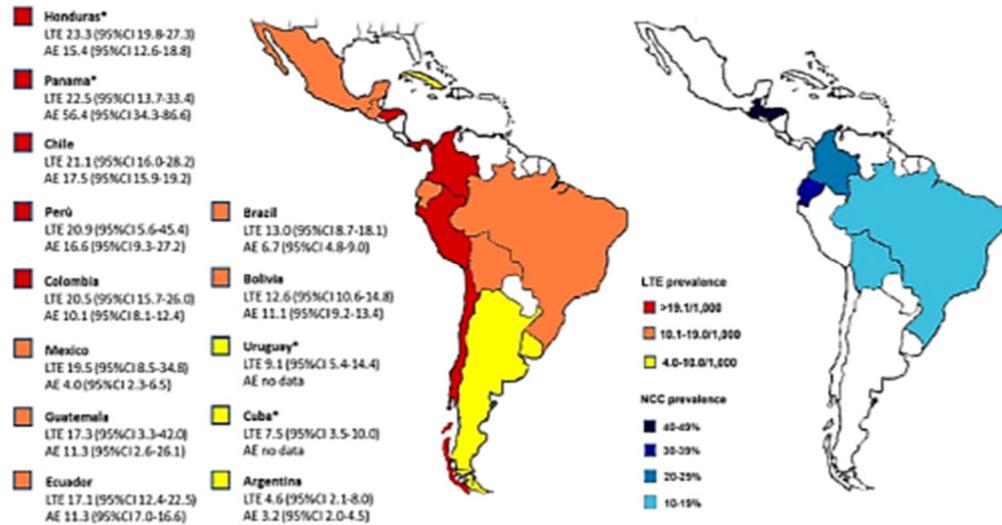


Figura 19. Prevalencia de epilepsia asociada a pacientes NCC en países latinoamericanos: Estimado de tiempo de vida de epilepsia (LTE), Epilepsia Activa (AE). Estudio realizado mediante CT, con intervalo de confianza 95% (Bruno *et al.*, 2013).

• Latinoamérica

Los países de esta región presentan numerosos casos de epilepsias asociados a NCC encontrando alta incidencia 77.7 -190 de cada 100 000 personas por año y alta prevalencia 17.8 de cada 1 000 personas (Figura 19). En Latinoamérica, la prevalencia de cisticercosis humana está entre 3.7 a 12.2%, en Perú es de 5 a 24%, en Bolivia es de 22.6%, Ecuador 10.4% y Guatemala 10-17% (Tellez-Zenteno y Hernandez-Ronquillo, 2017). Basados en una revisión sistemática, la prevalencia para epilepsia en diversos países latinoamericanos es de 6.8 -38.8% en México, 8.5 -43.2% en Guatemala, 22.5% Panamá, 11.4-23.9% Ecuador, 11.9% Perú, 17.8-32.1% Chile, 6% Cuba, 10.3-33.1% Colombia, 11.9-18.6 % Brasil, 12.5-15.3% Bolivia y 9.1% Uruguay (Burneo *et al.*, 2005). La proporción de pacientes con epilepsia con NCC fue de 32.3%, mediante Tomografía Computarizada (CT) y de 29.4% mediante Western Blot (EITB), en este estudio se incluyen casos hasta el 2012 de esta región. Esta proporción se encuentran en zonas rurales en un 37.5% (CT) y 23.7% (EITB); mientras que en zonas urbanas fue de 29.44% (CT) y 12.1% (EITB) (Bruno *et al.*, 2013).

- En Perú, durante 2006-2007 se evaluaron 17 452 individuos para encontrar la prevalencia de la asociación entre NCC y epilepsia. La prevalencia de la epilepsia fue de 17.25 de cada 1000 personas y la prevalencia de epilepsia activa fue de 10.8 por cada 1000 habitantes para el 2006. Los resultados del 2007 fueron de 16.61/1000 para prevalencia de epilepsia y de 10.39/ 1000 habitantes para epilepsia activa. De todos los participantes, el 35% de personas con epilepsia activa presentó NCC. Los estudios se realizaron en la costa norte, aledaños al río Tumbes, región de Tumbes, conocida por ser una región endémica de cisticercosis, 1 de cada 5 personas presenta calcificaciones en el cerebro; y alta prevalencia de epilepsias. Resaltando que la prevalencia de los casos de epilepsia se incrementan después de los 25 años de edad y disminuyen después de los 45 años de edad. En este estudio se usó serología (EITB) para confirmar casos de NCC y CT para evaluar epilepsia. La seroprevalencia (EITB) humana de anticuerpos contra *T. solium* es de 36.9% en esta zona, resultando la más alta de todo Latinoamérica (Moyano *et al.*, 2014; Moyano *et al.*, 2016). En cuanto a Cisticercosis porcina se evaluó 326 cerdos, resultando el 55.2% (180) positivo mediante serología, a anticuerpos contra cisticercosis; el 5.5% (18 de 326 cerdos) mostraron quistes vivos y viables no degenerados, lo que sugiere que la serología tiene poco valor predictivo (García *et al.*, 2016b).
- En el Norte del Perú se evaluó la relación espacial entre humanos portadores (teniasicos confirmados por ELISA coproantígeno) y cerdos infectados (mediante necropsia), resultando en una relación directamente proporcional. Cuando los cerdos estaban a menos de 50 metros de distancia de un teniasico la prevalencia resultante era mayor. Por consiguiente si la distancia se incrementaba la prevalencia disminuía monotónicamente; así los primeros tenían 4.6 veces más oportunidad de ser infectados que los cerdos más distantes (Pray *et al.*, 2017).
- Incluso se realizó un estudio realizado entre Julio del 2001 al 2003; para detectar anticuerpos séricos a *T. solium* mediante EITB. Se evaluó a 1 178 empleadas domésticas, la mayoría nacida en zonas altoandinas y una proporción pequeña en la selva. La seroprevalencia fue de 14.6% (positivas a anticuerpos de *T. solium*), al examen microscópico se detectaron 12 teniasicos mostrando así una prevalencia de 1.2%. Además de 26 empleadas seropositivas el 50% evidencio lesiones calcificadas cerebrales mediante CT (Huisa *et al.*, 2005).
- En el Instituto de Ciencias Neurológicas (ICN), ubicado en Lima se evaluó la carga económica en 49 pacientes con NCC. Se evaluó en base a los gastos promedios en tratamiento y la pérdida de productividad en 2 años. Así ambos factores consumen el 54% y 16% del salario mínimo por año en el primer y segundo año de tratamiento respectivamente. Siendo el diagnóstico el 36% del gasto total y la farmacoterapia el 27%.

Además en la muestra del estudio, dos tercios de los pacientes perdieron sus empleos y el 61% pueden regresar a su trabajo. Concluyendo que la cobertura financiera en salud debería ampliarse para que las poblaciones económicamente necesitadas tengan acceso a servicios de salud sin que pierdan sus empleos y aumenten su grado de pobreza (Rajkotia *et al.*, 2007).

- Se han realizado numerosos estudios de seroprevalencia de cisticercosis porcina en el Perú los cuales son resumidos en el cuadro 4 (Vargas-Calla., 2014):

Cuadro 4. Seroprevalencia de cisticercosis porcina en el Perú (1988-2011).

%	ZONA GEOGRÁFICA (provincia/departamento)	AÑO	REFERENCIA (fuente/año)
88	Maceda, San Martín	1988	García <i>et al.</i> , 2001
49	Churusapa, San Martín	1989	García <i>et al.</i> , 1999
46	Haparquilla, Cusco	1990	García <i>et al.</i> , 1999
43	Maceda, San Martín	1991	Castro, 1991
43	Saylla, Cusco	1993	Ramos, 1994
5	Monterredondo, Piura	1993	Gavidia, 1993
43	Cuzco	1994	Ramos, 1994
72	Quillcas, Junín	1996	Bernal, 1996
42	Canchayllo, Junín	1996	Morales, 1996
40-60	Huancayo	1996-98	García <i>et al.</i> , 2001
47	Anaccma, Andahuaylas	1999	Ramos, 1999
16	Occllo, Andahuaylas, Apurímac	1999	Ramos, 1999
41	Isla Noblecilla, Tumbes	2001	Taico, 2001
36	Nuevo Progreso, Tumbes	2001	Taico, 2001
16	Tutumo, Tumbes	2001	Taico, 2001
26	Zarumilla, Tumbes	2003	Taico, 2003
>50%	Valle El Mantaro, Junín	2003	García <i>et al.</i> , 2003
54	Matapuquio, Andahuaylas	2002	Ayvar, 2004
72	Turpo, Andahuaylas	2002	Ayvar, 2004
27	Nueva Esperanza, Andahuaylas	2002	Ayvar, 2004
18	Ventanilla, Callao	2003	Turin, 2004
31	Zarumilla, Tumbes	2004	Mena <i>et al.</i> , 2004
71	Mashuyacu, Amazonas	2004	Carhuallanqui, 2007
36	Oma, Amazonas	2004	Carhuallanqui, 2007
51	Moyocorral, Apurímac	2006	Almonacid, 2008
44	Amancaes, Apurímac	2006	Almonacid, 2008
38	Maucacalle, Apurímac	2006	Almonacid, 2008
54	Cachora, Apurímac	2006	Almonacid, 2008
71	Victor acosta, Apurímac	2006	Almonacid, 2008
70	La Capitana, Tumbes	2008	García, 2009
69	Carretas, Tumbes	2008	García, 2009
64	Rica playa (Tumbes)	2008	García, 2009
46	Morropon (Piura)	2009	Arroyo, 2010
45	Tumbes, Tumbes	2011	García, 2011

- En México la prevalencia de cisticercosis porcina fue de 15.8%, 19 de 120 animales (Shah *et al.*, 2017). Un estudio en México evidenció, que los pacientes con NCC Mixta

(Parenquimal + extraparenquimal) son diagnosticados a una edad más tardía que los pacientes con NCC parénquimal. Los hombres con NCC mixta son diagnosticados tardíamente que las mujeres, evidenciando cisticercos degenerados con mayor frecuencia en mujeres, inclusive la celularidad del LCR fue más alta sin embargo la concentración proteica de LCR es más alta en hombres. Los dolores de cabeza se han relacionado a pacientes mayores, mientras que las convulsiones se asocian a pacientes más jóvenes, y está asociado al género masculino (Marcin Sierra *et al.*, 2017).

c. Asia

Este continente presenta países y zonas en las que han erradicado la cisticercosis y otros en los que esta enfermedad es endémica, por sus condiciones favorables. Así en el Sudeste asiático se han reportado casos en Camboya, Indonesia, Japón, Laos, Malasia, Nepal, Tailandia, Filipinas, China y Vietnam. Cabe resaltar que el consumo de carne de canino es abundante en países del sudeste asiático, incluyendo Indonesia, Corea, China, Vietnam y Tailandia, sin embargo esta es cocida adecuadamente, por lo que el riesgo de contraer cisticercosis por consumo de carne canina es muy bajo (Wandra *et al.*, 2015).

- **En Camboya**, un reporte del 2010 revela que la cisticercosis porcina en el matadero central de Phnom Penh tiene una prevalencia entre 5.3 y 36.4%. En Laos, la prevalencia de teniasis, basada en estudios serológicos mediante ELISA antígeno específico, se encuentra entre 0 a 14%, los datos son limitados. En Malasia, la mayoría de pobladores pertenecen a la religión musulmana, por lo que no consumen cerdos, resultando en una minoría que consume carne de cerdo y está en contacto con cerdos y jabalíes domésticos en la zona de Sabah, al realizar estudios de seroprevalencia (ELISA indirecto) en humanos mostro una tasa de seropositividad de 2.2% (Wu *et al.*, 2017).
- **En Indonesia** se han confirmado casos de teniasis por *T. solium* en Papúa Nueva Guinea y Bali; sumado a ello los casos de cisticercosis se reportan en humanos, cerdos y perros. Los casos disminuyeron a lo largo de 10 años por las mejoras en la salubridad de los hogares y en la crianza de cerdos producto de campañas de educación, que dieron un buen resultado en salud pública y en la economía. Para el 2011, se halló 3 portadores teniásicos entre 227 personas de aldeas vecinas en Bali. Por el contrario en Papúa Nueva Guinea, el control de cisticercosis es muy dificultosa. En 2011 se tomó sueros de 286 personas, realizándose ELISA antígeno específico y confirmadas por Western blot, siendo 60 personas positivas, confiriendo así un 21% de casos positivos. Respecto a la cisticercosis porcina se evaluaron carcasas de cerdos en el mercado Wamena, del distrito de

Jayawijaya dando un 77% de prevalencia, 27 cerdos infectados de 35 muestreados (Wu *et al.*, 2017).

- **En Vietnam**, la prevalencia de teniasis está distribuida en 50 provincias, en el norte 0.5 a 12%, en el centro 0.2 -2.8%, al sur 0.3-1.5% y en las montañas 3.8 – 10.1%. En cuanto a la cisticercosis humana, la seropositividad de ELISA sándwich Ac monoclonal indica infecciones prevalente activas en zonas rurales, el grado de positividad en las regiones costeras es de 0.6% y en las regiones montañosas es de 5.3%. En los mataderos de cerdos de Hanói, la prevalencia de cisticercosis porcina va de 0.018% a 0.9% (Somers *et al.*, 2006).
- **En Nepal**, se evaluaron 110 cerdos al azar en necropsia para determinar la prevalencia de cisticercosis porcina e inferir en qué grado puede afectar a la población. Se encontró 32 (29%) animales con cisticercos de *T. solium*, de los cuales 30 (93%) contenía cisticercos viables. Lo que se traduce a un riesgo significativo de teniasicos y casos de cisticercosis humana (Sah *et al.*, 2017). Desde el año 2003 al 2015, se analizaron 1355 casos de desórdenes convulsivos siendo el 16.90% (229) asociados a NCC, confirmados por CT, MRI y análisis del líquido cerebroespinal; el 43.23% pertenecían a niños de 6 a 10 años y el 41.09% eran de 11-15 años de edad; el 88.65% de todos estos pacientes NCC eran sintomáticos (Rao *et al.*, 2017).
- **En India**, existe una relación entre epilepsia activa y NCC, siendo la prevalencia de 34% (Moyano *et al.*, 2014). Solo en la región de Chandigarh, la seroprevalencia de anticuerpos anticisticercosis fue de 17.3%. En 2007, en la comunidad de UP la prevalencia de teniasis fue de 18.6% y el 48.3% presentaba convulsiones, pero solo el 5.8% tenía cisticercosis. En el 2017 en el Hospital, se encontró prevalencia de 4.5% en niños con NCC, y el grupo más afectado tenía entre 10 a 14 años de edad. Estos resultados como el efecto de la dieta en los primeros años de vida, los síntomas aparecen tempranamente a solo unos meses de la primera exposición inclusive de 2 a 6 años luego de esa exposición; sumado a pobres condiciones de salubridad. El 86.7% de estos niños presentaban convulsiones generalizadas (Kumar *et al.*, 2017).

d. Europa

Actualmente se conoce que NCC es una enfermedad de gran prevalencia en países en desarrollo. Sin embargo en los últimos años se considera como una enfermedad emergente y de gran preocupación en los países desarrollados por el aumento de casos producto de la inmigración (Fleury *et al.*, 2016). En regiones endémicas los pacientes con NCC, son teniásicos o han tenido historia de teniasis en un 15- 25%. En USA, el 21% de pacientes NCC, vivían con un teniásico en casa y el porcentaje aumenta a 45% en pacientes de 3 años de edad

o menos. Sin embargo en Europa, existen 0 y 3.8% pacientes con teniasis intestinal autóctona y adquirida respectivamente. De esta forma se asocia la presencia de teniasis en pacientes NCC, con una mayor severidad en la infestación cerebral (Zammarchi *et al.*, 2017).

- **En Sicilia**, Italia, se evaluó la frecuencia de geohelmintiasis mediante examen coprológico, en especial teniasis intestinal, por la preocupación de la gran cantidad de inmigrantes provenientes de zonas endémicas (137 de África occidental; 96 de África oriental y 22 de oriente medio), de 274 persona evaluadas solo el 11% (30) presento infestación helmíntica se encontró *Ancylostomatidade*, *Trichuris trichiura* y *Taenia spp.* (Patamia *et al.*, 2017).

6. DIAGNÓSTICO

a. Teniasis

Al diferenciar las especies de *Taenia sp.*, existen 3 técnicas, las cuales son: electroforesis enzimática (zimogramas de glucosa-6-fosfato isomerasa), métodos moleculares (PCR) y ELISA Coproantígeno. Este último tiene alta sensibilidad entre 84.5-98% y especificidad de 99% (Zammarchi *et al.*, 2017).

Para la detección de un paciente teniasico, se incluye la confirmación histológica del parásito. La técnica inicia cuando al paciente se le induce a purga con solución electrolítica de polietilenglicol (EPS), dos horas antes y dos horas después de la administración de niclosamida (Jeri *et al.*, 2004).

Una vez obtenida la tenia completa, se procede al diagnóstico morfológico, donde se identifica el escólex y se tiñe el proglotis maduro, de escasa disponibilidad, además puede usarse los proglotis o huevos sin embargo su expulsión no se da con frecuencia. Sin embargo es difícil diagnosticar mediante esta técnica, aquí se incluye examen microscópico y macroscópico, y su sensibilidad va desde 0 a 59% (Zammarchi *et al.*, 2017).

b. Cisticercosis en Humanos

El diagnóstico de la NCC se basa en la historia y examen clínico, neuroimágenes y exposición (epidemiología). La NCC está asociada a trastornos neurocognitivos, como delirio, ansiedad, trastornos mentales como psicopatía, demencia y depresión, basados en el estudio de Ramirez-Bermudez *et al.* (2017), donde el 64.4% de pacientes con NCC presento los signos antes mencionados (Ramirez-Bermudez *et al.*, 2017). En NCC del cuarto ventrículo algunos síntomas registrados son dolores de cabeza, mareos ,fotofobia, fiebre, pérdida de visión y confusión progresiva (Mullins *et al.*, 2017). La NCC que afecta la médula espinal es una condición muy

infrecuente abarcando el 0.7 – 5.85 % de todos los casos de cisticercosis a nivel mundial (Zhang *et al.*, 2017). El pronóstico de NCC, esta correlacionado a la duración y severidad de la enfermedad que depende de la localización del quiste (Nash y Garcia, 2011).

La neuroimagen es el método de preferencia para el diagnóstico de NCC, usando CT y MRI para evidenciar los cisticercos infectados, número y localización. CT es accesible económicamente, revela formas activas, degenerativas, inactivas del cisticercos y tiene alta sensibilidad para detectar calcificaciones, mayormente en el 50% de los casos. Por otro lado MRI, presenta alta resolución, lo que permite distinguir lesiones pequeñas, escólex, quistes intraventriculares (III y IV) en diferentes planos espaciales, no detecta conveniente calcificaciones. Ambas técnicas son costosas, por lo que en los países endémicos se usan pruebas serológicas como técnica de inmunoelectrotransferencia, inmunoblot o western blot (EITB) y ELISA, las cuales se consideran pruebas de rutina (Saavedra *et al.*, 2010; Thomas *et al.*, 2017). El EITB, reporto sensibilidad de 85.7% y especificidad de 93.9% en un metaanálisis (Carpio *et al.*, 2017). Actualmente se exploran nuevas técnicas de serodiagnóstico como EITB-LLGP (EITB ligado a enzimas, basado en el uso de 7 glicoproteínas purificadas de lectinas de lenteja) para detectar anticuerpos para *T. solium* (especificidad 100% y sensibilidad 98%). Se están desarrollando nuevos ELISA que puede detectar antígeno haciendo uso de anticuerpos monoclonales. El Ensayo de Flujo Lateral (LFA), usa LCR y se desarrolló para para detección y monitoreo de NCC extraparénquimal, basado en el Ac monoclonal HP10 (Gripper y Welburn, 2017). El PCR, para diagnosticar NCC usando CSF demostró sensibilidad de 72.2% y especificidad de 100%; al comparar NCC parénquimal y NCC extraparénquimal, manifestó sensibilidad de 42.9% y 90.0% respectivamente. Lo cual puede usarse cuando las neuroimágenes resultan fallidas. Inclusive haciendo uso del análisis de LCR, tomado por punción lumbar, es posible analizar la cantidad de proteínas, glucosa y el conteo de células o celularidad, en casos de NCC la celularidad esta aumentada, leucocitos se incrementan (especialmente linfocitos y eosinófilos) y glucosa disminuye. Sin embargo no debe usarse en pacientes con hipertensión endocraneal (Saavedra *et al.*, 2010; Carpio *et al.*, 2017).

i. Criterios para diagnosticar NCC:

Para diagnosticar NCC (Cuadro 5), se toman en cuenta los criterios absoluto, de neuroimágenes, de exposición/examen clínico y sus combinaciones. Así los ***criterios de neuroimagen*** son categorizados como: **mayor** (lesiones quísticas sin escólex, grandes lesiones, quistes multilobulados y calcificaciones), **confirmativa** (resolución luego de la quimioterapia, resolución espontanea de lesiones quísticas únicas y migración de quistes ventriculares en

secuencias de estudios por neuroimagen) y **menor** (mejoría de leptomeninges e hidrocefalia). Los **criterios de exposición/examen clínico** se basan en la detección de anticuerpos anticisticercosis o antígenos anticisticercosis en pruebas estandarizadas adecuadamente. El **criterio absoluto** está basado en la evidencia definitiva de NCC. La interpretación de estos criterios resulta en dos grados de diagnóstico: Probable y definitivo. El diagnóstico definitivo se da cuando existe un criterio absoluto, dos criterios mayores de neuroimagen mas cualquier criterio de exposición, un criterio mayor y un criterio confirmativo de neuroimagen mas cualquier criterio exposición/examen clínico, un criterio mayor de neuroimagen mas dos criterios de exposición/examen clínico (al menos uno mayor), juntos excluyendo otras patologías similares. El diagnóstico probable se da cuando existe un criterio mayor de neuroimagen mas cualquier criterio de exposición/examen clínico o un criterio menor de neuroimagen mas, al menos un criterio mayor de exposición/examen clínico (Del Brutto *et al.*, 2017a; Zammarchi *et al.*, 2017).

Cuadro 5: Criterios diagnósticos de NCC (Del Brutto *et al.*, 2017).

CRITERIOS	CLASIFICACIÓN	CARACTERÍSTICAS
ABSOLUTO	Histopatología	Visualización (del parásito) de las características del cisticerco en una biopsia de cerebro o medula espinal.
	Neuroimagen	Escólex visible dentro de la lesión quística,.
	Fundoscopia	Evidencia de quiste subretinal
NEUROIMAGEN	Mayor	Lesiones quísticas sin escólex definido Lesiones intensificadas Lesiones quísticas multilobuladas en el espacio subaracnoideo Calcificaciones típicas en el parénquima cerebral.
	Confirmativo	Resolución de lesiones quísticas luego de la quimioterapia. Resolución espontanea de una lesión pequeña Migración de quistes ventriculares reportados por Neuroimagen
	Menor	Hidrocefalia obstructiva (simétrica o asimétrica) o aumento anormal de las leptomeninges basales
EXPOSICION / EXAMEN CLINICO	Mayor	Detección de Ac-Anticisticerco o Ag Cisticerco mediante pruebas estandarizadas Cisticercosis sistémica o fuera del SNC. Evidencia de un teniasico en casa
	Menor	Signos clínicos sugerentes Residencia/estadia en áreas endémicas

En el Perú, se hace uso de CT y MRI, como neuroimagen. La prueba confirmatoria es el Western Blot o EITB haciendo uso de suero o LCR; realizado en el Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas. El tratamiento es sintomático, ya sea para el control de convulsiones, hipertensión endocraneana y demás síntomas según sea el caso (Saavedra *et al.*, 2010).

c. Cerdos y cisticercosis:

Los cerdos infectados muestran cambios en el comportamiento: disminuyen su tiempo en el comedero, se muestran más pasivos usualmente están acostados durante todo el día y se aíslan de sus compañeros de corral (Trevisan *et al.*, 2017c).

El diagnóstico *in vivo* de cisticercosis porcina se hace comúnmente por medio de la inspección de la lengua del cerdo. Es un método de inspección visual de los quistes de la cara inferior de la lengua y palpación de los nódulos, es usada en cerdos para detectar infestación por cisticercos de *T. solium*, demostrando sensibilidad de 91% y especificidad de 98%. Usado tradicionalmente por los compradores locales, por ser de bajo costo y localmente aceptado; y muestra un buen resultado. El diagnóstico post-mortem se le considera como el gold standard, la necropsia con disección fina para confirmar la infección por cisticercos (Flecker *et al.*, 2017).

Por motivos de investigación se realizan pruebas serológicas con el ELISA y EITB, son rápidas y más seguras para el personal médico, hace uso de la sangre del animal, EITB, muestra 95% de sensibilidad y 100% de especificidad (Halire, 2015).

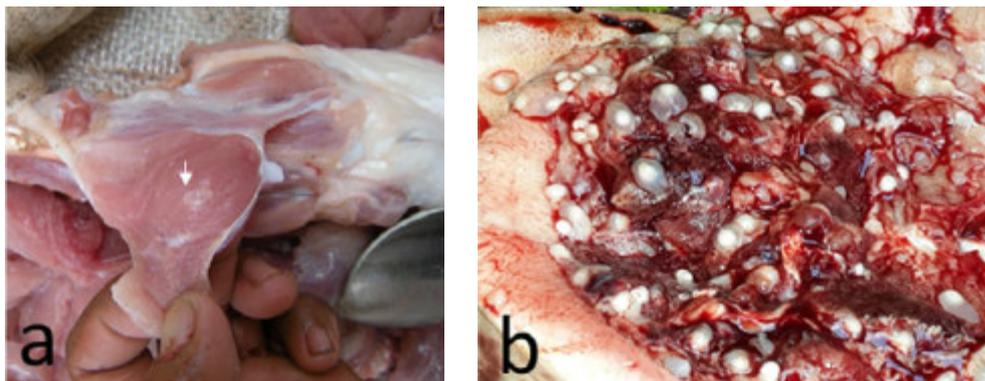


Figura 20. Inspección de la carne de cerdo, muestra cisticercos inmaduros de *T. solium*, (a) flecha blanca indica un solo cisticercos y (b) muestra otro cerdo completamente lleno de cisticercos desarrollados (García *et al.*, 2016)

7. TRATAMIENTO

i. Tratamiento en humanos: Teniasis y Cisticercosis

Para el **tratamiento de teniasis** frecuentemente se usa niclosamida, la cual es efectiva y bastante segura sin embargo no está disponible en algunos países como China, por eso el tratamiento para la teniasis, en la medicina tradicional está basado en semillas de calabaza peladas y crudas con nuez areca (*Areca catechu*) deshidratada y en rebanadas. Fue comprobado en 2012, en un estudio con 115 casos comprobados de teniásicos, 79.1% eliminó tenias enteras, 3.5% expulso estróbilos incompletos y 17.4% no eliminó tenias, ni proglotis (Li *et al.*, 2012).

Los antihelmínticos de elección son niclosamida y praziquantel, cuentan con una eficacia de 85% y 95% respectivamente. (Gabriel *et al.*, 2017). Praziquantel, siempre y cuando el paciente tenga teniasis y NCC, es muy efectivo pero tiene el riesgo de inducir a convulsiones o periodos epilépticos. Por lo que también se puede usar albendazol como tratamiento antiparasitario, para su uso debe corroborarse la ausencia de NCC solo bajo condiciones de hospitalización y en hospitales de tercer nivel (Saavedra *et al.*, 2010).

Además el tratamiento antihelmíntico convencional, es útil para eliminar los quistes viables y los posibles granulomas por cisticercos. Sin embargo al producir una respuesta inflamatoria transitoria alrededor del quiste en degeneración, genera convulsiones remanentes e incrementa el deterioro clínico del paciente. Por esta razón se recomienda el uso de corticosteroides para reducir la incidencia de efectos adversos a corto plazo. Se debe tener en cuenta los efectos adversos de los corticosteroides como retinopatía serosa, hipertensión y pérdida ósea a largo plazo. Cabe destacar que al usar dexametasona a dosis de 8 mg/día por 28 días sumado a 2 semanas de disminución gradual de la dosis, el control de las convulsiones mejoro solo en las primeras 3 semanas. Sin embargo la dexametasona reduce los niveles séricos de praziquantel en un 50%, por lo que puede alterar su eficacia e incrementa los niveles plasmáticos del metabolito de albendazol (sulfóxido de albendazol). Los fármacos anticonvulsivos, como fenitoina y fenobarbital inducen el metabolismo de los corticosteroides (Singh y Sharma, 2017).

Para el **tratamiento de cisticercosis humana**, se debe seguir el principio básico de “lograr y mantener un efecto satisfactorio mientras se utiliza la dosis más baja posible por el menor tiempo posible” (Singh y Sharma, 2017). El tratamiento médico, en el caso de NCC, varía de acuerdo al estado inmunológico del paciente, estadio, número y localización del parásito; de esta forma puede variar entre 50-100 mg/kg/día, 30-15 mg /kg/día albendazol por 15 días hasta un mes, sumado a 7.5 - 1 mg/kg/día de prednisolona, 0.2 mg/kg/día inclusive a medicamentos

anticonvulsivos (Zapata *et al.*, 2017). En pacientes que presentan convulsiones y dejan el tratamiento con AINES, tienden a la recurrencia en convulsiones en un 50 a 80% de los casos (Singh *et al.*, 2013). En pacientes que presentan edema asociado a NCC, el tratamiento de mejor elección es el manitol o los esteroides (Gonzales *et al.*, 2016).

El tratamiento de NCC parénquimal con praziquantel y albendazol destruye los quistes cerebrales en cerdos y humanos. Asociado a una evolución clínica mejorada en el caso de humanos. Si estos fármacos son usados junto a AED (fármacos anticonvulsivos), como la fenitoina y carbamazepina, lo que es usual en la clínica humana, se reduce la biodisponibilidad del praziquantel, por lo que se recomienda usar en estos pacientes, el praziquantel en altas dosis como 50 mg/kg/día (Cangalaya *et al.*, 2017).

ii. Tratamiento en cerdos : Cisticercosis

Al realizar un estudio para evaluar la eficacia de siete medicamentos en cerdos, usados en el tratamiento de cisticercosis. Los cerdos que recibieron solo praziquantel y nitazoxamida mostraron numerosos quistes viables. Los cerdos que recibieron albendazol junto a praziquantel, o solo albendazol o solo oxfendazol evidenciaron una disminución significativa de quistes viables en cerebro y músculo. Además aquellos que recibieron albendazol mas praziquantel y oxfendazol, evidenciaron un fuerte efecto cisticidal; concluyendo que este último puede ser una buena opción para el tratamiento de NCC en humanos (Gonzalez *et al.*, 2012).

Se han usado numerosos antihelmínticos, actualmente se usa oxfendazol a una dosis de 30 mg/Kg, eliminando los quistes de los músculos en 3 meses aproximadamente, además la viabilidad en los quistes restantes es insignificante (Gonzales *et al.*, 1996; Garcia *et al.*, 2007; Sikasunge *et al.*, 2008; Assana *et al.*, 2010). Al evaluar el efecto residual de este medicamento, se demostró que presentaba elevadas concentraciones en riñón, músculos y tejido adiposo; estableciendo 17 días como tiempo de retiro para el consumo humano (Moreno *et al.*, 2012).

Basados en un modelo determinístico, matemático, EPICYST, indica que la terapia quimioterapéutica para humanos y cerdos aplicada a cada individuo por separado reduce significativamente la prevalencia de teniasis y cisticercosis porcina en un 94 % y 74% respectivamente de casos evitados (Winskill *et al.*, 2017).

8. CONTROL Y PREVENCIÓN

La cisticercosis está contenida en la lista de “Enfermedades Zoonóticas Olvidadas” y además en el “Plan Global para combatir Enfermedades Tropicales Olvidadas (2008-2015)” y “Control de Enfermedades Olvidadas 2015-2020” (Gabriel *et al.*, 2017).

Como medidas de control hay tres herramientas: ELISA coproantígeno para diagnosticar teniasis, el tratamiento antihelmíntico con oxfendazol para eliminar los cisticercos y la vacuna Tsol18 para prevenir futuras infecciones (Lightowlers *et al.*, 2016b).

Una tarea conjunta para eliminar, erradicar o disminuir en un gran porcentaje el complejo teniasis-cisticercosis implica el tratamiento en humanos, vacunación (Cuadro 6) y tratamiento en cerdos, educar a las comunidades en salud. Con énfasis en la eliminación de prácticas insalubres en la crianza de cerdos, y ser seguido en un periodo mínimo de 4 años (Carabin *et al.*, 2017).

Una forma propuesta para prevenir la transmisión, es proyectar las medidas de control en el hospedero natural intermediario, el cerdo. Un ejemplo a esta estrategia, es la vacunación por 3 meses junto a un programa de desparasitación con oxfendazol, como modelo práctico. Una intervención en proyección a cerdos reduce la incidencia de NCC y teniasicos (Lightowlers y Donadeu, 2017).

i. Educación Sanitaria:

La educación sanitaria requiere un grupo multidisciplinario, resaltando el concepto de Una Salud (One Health). Se requiere que la población muestre interés en la transmisión de la enfermedad, el manejo de los cerdos y la higiene personal en áreas endémicas. Tiene un rol sumamente importante en el desarrollo de nuevos hábitos de consumo, promover el autodiagnóstico o la infección, mejorar la sanidad con el uso de letrinas o baños, higiene personal como el lavado correcto de manos y el confinamiento de los cerdos (Gabriel *et al.*, 2017).

Una herramienta que puede ser usada para la educación de las personas en cuanto al complejo teniasis/cisticercosis, puede estar basada en el desarrollo de programas de computadora o apps. Los cuales le permitan al usuario interactuar y conocer el ciclo biológico y todos los aspectos del entorno que están implicados. Un ejemplo de esto es la herramienta de educación

conocida como “The Vicious Worm” desarrollado para los pueblos en África (Trevisan *et al.*, 2017b).

ii. Vacunas

Entre los años 80-90, se iniciaron nuevas estrategias antiparasitarias, mediante el uso de vacunas, lo que en un principio inició como una propuesta, pasó a hacerse realidad. Lightowlers, propuso que la vacunación con antígenos de la oncósfera generaría protección contra infecciones parasitarias, basado en el experimento de Gemmell (1962) en ovejas con *T. ovis*, la cual refería que una infección primaria protegería al animal a infecciones posteriores (Lightowlers, 2006b). Luego fue David Heath, quien descubrió que solo los estadios juveniles inducían a elevados niveles de protección contra infecciones parasitarias. Este descubrimiento fue de vital importancia para identificar y caracterizar los antígenos de la oncósfera como protectivos. Rickard y Heath, demostraron que los antígenos de cestodos se pueden producir en gran cantidad usando la tecnología del ADN recombinante (Harrison *et al.*, 1993). En 1990 se reportó la primera expresión de ADNc de *T. ovis* en *Escherichia coli* (Mitchell *et al.*, 1984; Lightowlers, 1990). A partir de ese momento los antígenos recombinantes de oncósfera, son usados para desarrollar vacunas efectivas para diversos patógenos como *T. ovis* (To45W y To18K ; 1989 y 1996), *T. saginata* (TSA-9 y TSA-18; 1996), *T. solium* (Tsol18, Tsol16, Tsol45 ; 2005), *Equinococcus multilocularis* (EM95;2003) y *Echinococcus granulosus* (EG95 -1996) (Lightowlers, 2006b). Además la vacuna ideal, debe interrumpir el ciclo de vida del parásito, ser seguro, económico y accesible (Gabriel *et al.*, 2017).

El control mediante vacunas contra *T. solium*, en el cerdo, por ser el hospedero intermediario del complejo teniasis/cisticercosis; fue demostrado por primera vez por Molinari en 1983 y 1993 (Molinari *et al.*, 1993). Quien vacunó a 3 295 cerdos de 18 comunidades mexicanas con un extracto total de antígenos de cisticercos de *T. solium* provenientes de cerdos naturalmente infectados. Luego del seguimiento pudo confirmar su potencial para reducir la cisticercosis porcina. En 1983 se obtuvo una reducción del 74% en el número de cisticercos hallados y en 1993, la reducción fue del 100 %. Confiriendo inmunidad frente al estadio larval de *T. solium*, induciendo así una efectiva medida preventiva para la transmisión de esta zoonosis (Lightowlers *et al.*, 2003; Sarti y Rajshekhar, 2003; Garcia *et al.*, 2007).

En 1990, Pathak KM. propuso y evaluó la inmunización de cerdos con antígenos homólogos excretor-secretor contra la cisticercosis porcina, luego desafío con huevos de *T. solium* a los cerdos vacunados. Se obtuvo un 95% de reducción en el número de cisticercos encontrados (Pathak y Gaur, 1990). En 1995 Nascimento E., vacunó cerdos con antígenos (proteínas)

provenientes del escólex y extraídos de quistes viables de cerdos infectados naturalmente, junto a adyuvante de Freud incompleto; ambas propuestas fueron inyectadas vía subcutánea. Los cerdos se desafiaron con huevos viables de *T. solium*; la protección fue de 71% y 75% en la reducción del número de quistes viables respectivamente; además todos los cerdos desarrollaron hipersensibilidad retardada y eosinofilia transitoria luego de la aplicación de la primera dosis de la vacuna. Molinari en el año 1997, inmunizó a un grupo de cerdos con extracto crudo de metacéstodos de *T. solium* y los desafió en campo, resultando en 82% de protección contra cisticercosis porcina (Rahman *et al.*, 2015).

En 1996, Manoutcharian propuso evaluar la capacidad protectora de 5 antígenos recombinantes expresados en la etapa larval de *T. crassiceps* (KETc1, KETc4, KETc17, KETc12 y KETc11). Estos fueron desafiados contra la cisticercosis murina, sugiriendo que los 3 primeros proveen protección al hospedero y el último (KETc11) no modificó la carga parasitaria en hembras, además en machos facilitaba la infección (Manoutcharian *et al.*, 1996). Como KETc7, mostró buena protección se propuso para su uso como antígeno protector contra *T. solium*. Luego fue aplicado en 2001, usando 3 péptidos de *T. crassiceps* (GK-1, KETc1 y KETc12) para la vacunación de cerdos en dos aldeas rurales mexicanas, la vacunación redujo la prevalencia a 52.6% y el número de cisticercos totales disminuyó en un 98.7% (Huerta *et al.*, 2001).

A partir de 1999, se experimentó vacunas ADN contra *T. solium*. Es así como a partir de la extracción del ARN de cisticercos viables obtenidos en un camal, se sintetizó la región del antígeno B y fue contenida en el plásmido eucariota PV93, en una concentración de 0.2 mg. Los cerdos fueron desafiados a los 14 días y a los 4 meses post vacunación, la protección fue de 99.5% y 91.2% respectivamente (Cai *et al.*, 2001). Luego se diseñó una vacuna ADN, usando como antígeno a cC1 (proteína nativa de la pared del cisticercos) de *T. solium* mediante el uso de ADNc, este se insertó en un plásmido de expresión eucariota pcDNA3, denominando a esta vacuna pcDNA3-cC1. Se comprobó la inducción de respuesta inmune de tipo Th1. La inmunización fue en cerdos neonatos, a dos dosis con un intervalo de dos semanas, luego de una semana cada lechón fue desafiado con 10 000 huevos de *T. solium* suspendidos en PBS. Al ser sacrificados 90 días post desafío, la carga parasitaria se redujo en un 73% (Wang *et al.*, 2003). Inclusive se realizó la comparación entre una vacuna de proteína (GST-cC1) y esta potenciada con refuerzos de la vacuna ADN, para evaluar la duración de la inmunidad frente a *T. solium*, los cerdos fueron desafiados a las 12 y 20 semanas luego de la última inmunización; evidenciando una reducción significativa en el desarrollo de quistes (Guo *et al.*, 2004). Con el fin de incrementar la eficacia de esta vacuna ADN, se desarrolló un plásmido recombinante con codones P_{vax1}/Tsol18 aumentando la inmunogenicidad de esta proteína. Al ser optimizado el gen de Tsol18, se le

denomino opt-Tsol18. Al comparar la expresión de inmunogenicidad del codón optimizado del gen de Tsol18 (opt-Tsol18) versus el codón Tsol18 sin optimizar en ratones, el resultado fue superior (Wang *et al.*, 2015).

Otra alternativa fue propuesta al usar oncósferas no viables congeladas de *T. solium* o *T. asiática* como vacuna subcutánea en dos grupos 0.2 ml de Adyuvante de Freud Completo (AFC) y 0.2 ml de extracto de oncósfera no viable de *T. asiática* (origen: Taiwán), *T. saginata asiática* (origen: Indonesia), *T. solium*. Los cerdos fueron desafiados luego de 1 mes post-vacunación, con la inoculación oral de 10 000 huevos viables de *T. solium*. La tasa de infección fue 100%, 100% y 33% y la tasa de recuperación de cisticerco fue de 1.3%, 1.2% y 0.01% respectivamente. Concluyendo que *T. asiática* puede inducir reacción cruzada protectora contra *T. solium* (Fan *et al.*, 2003).

El antígeno recombinante, Tsol18, corresponde a un homólogo de *T. ovis* To18, *T. saginata* TSA18 y *T. multiceps* Tm18 que inducen respuestas protectoras en bovinos inmunizados (Gauci *et al.*, 1998; Kyngdon *et al.*, 2006). El gen que codifica Tsol18 también ha sido clonado y caracterizado (Lightowers *et al.*, 2003) a partir del ADN genómico de *T. solium* de origen mexicano. La primera vacuna desarrollada y expresada en *E. coli*, conteniendo el antígeno Tsol18, extraído de la oncósfera de *T. solium*. El mecanismo inmunológico, que genera esta vacuna es inducir la lisis del desarrollo temprano del parásito mediante anticuerpos circulantes específicos y sistema de complemento, por lo tanto tiene como función principal el evitar la penetración de la oncósfera a la mucosa intestinal de esta forma impide el establecimiento del cisticerco en el musculo esquelético del hospedero intermediario (cerdo). La efectividad fue demostrada cuando se usó los antígenos de oncósfera, Tsol18 y Tsol45 expresados en *E. coli*, capaces de inducir altos niveles de protección: 100-99.5% en México, 99.9% en Perú, 100 % en Camerún y 99.3% en Honduras (Flisser *et al.*, 2004; Lightowers, 2006a; Assana *et al.*, 2010; C. Gauci *et al.*, 2013). Además se evaluó la expresión de Tsol18 y Tsol45-1a en todas las etapas de *T. solium* (adulto, oncósfera y cisticerco) mediante inmunofluorescencia usando sus respectivos anticuerpos, sin embargo solo se encontraron en la superficie de la oncósfera, por esta razón son antígenos y poseen alto nivel de protección. Además Tsol45 se ensayó experimentalmente en México mostrando una protección del 97% en cerdos contra la infección provocada con oncósfera. Actualmente se ha encontrado que existe variación genética del gen Tsol45 entre *T. solium* de China y México lo que puede afectar la eficacia de la vacuna con este gen (Martinez-Ocana *et al.*, 2011; Rahman *et al.*, 2015; Gabriel *et al.*, 2017).

Se diseñó una vacuna recombinante en una cepa atenuada de *Salmonella typhimurium* cepa delta 4558 que expresa antígeno Tsol18, la cual produjo altos niveles de anticuerpos específicos (aumento de linfocitos T Cd4 y Cd8) en ratones y cerdos. Cabe destacar que la inoculación fue por vía oral, lo que permite colonizar principalmente las placas de Peyer, linfonódulos mesentéricos y bazo hígado, comprobado en ratones. Demostrando una nueva posibilidad de vacuna (Ding *et al.*, 2013).

Una versión de la vacuna expresada en *Pichia pastoris* se denominó Tsol18 IIL (Indian Immunological Limited), en este diseño se evaluó el tiempo de persistencia de Ac maternos en los sueros de cerdos, cuales madres habían sido inmunizadas con dicha vacuna. El estudio generó altos niveles de Ig G Anti-Tsol18 en un inicio, descendiendo la curva sérica desde las 8 a 12 semanas de edad. De esta forma, se puede establecer la edad correcta de la primera vacunación, disminuyendo los costos y evitando interferencia inmunológica. Los estudios acerca de la inmunidad del lechón al nacer con respecto a la infección de *T. solium*, son importantes para establecer el tiempo óptimo de la vacunación para el desarrollo de un programa de control en áreas endémicas (Halire, 2015).

Actualmente “Cysvax”, es una vacuna comercial basada en Tsol18 y *Pichia pastoris*, diseñada por Indian Immunological Limited, GALVmed y el equipo del Dr. M. Lightowers. El título de anticuerpos generado es mayor o igual a 500 Ig G, 1 ml contiene aproximadamente 150 mg de Tsol18. La aplicación es intramuscular y su régimen de vacunación implica una primera dosis a los 2 meses de edad, luego de 3 o 4 semanas se aplica un refuerzo y la revacunación se da a los 6 meses. El primer registro y usos se dan en Uganda, Tanzania, Kenia, Nepal, Filipinas, Tailandia y Sri Lanka (Lightowers y Donadeu, 2017).

iii. ¿Es posible eliminar el complejo teniasis-cisticercosis de un área geográfica?

Existen diversas estrategias para la prevención/erradicación del complejo teniasis-cisticercosis, las cuales se diferencian en los intervalos de tiempo de antihelmínticos administrados en humanos y cerdos, incluso la vacunación. Sumado a todas las herramientas implicadas en las estrategias propuestas se busca la opción que muestre mejor costo-eficiencia (Assana *et al.*, 2013).

En Laos, entre el 2013 a 2015, una zona altamente endémica del sudeste asiático, mediante un estudio estratégico incluyendo la intervención en humanos teniasicos y cerdos cisticercoticos. El protocolo usado en humanos fue la administración de albendazol a 400

mg/persona por 3 días y su repetición. La intervención porcina fue mediante el uso de la vacuna Tso18 IM sumado a la intervención oral de oxfendazol a 30 mg/kg y la repetición de este tratamiento al mes. Concluyendo que la proporción de teniasicos disminuyó en un 78.7%, mediante ELISA coproantígeno y PCR y la prevalencia de teniasicos disminuyó a 0% (Okello *et al.*, 2017).

Cuadro 6. Resumen de las vacunas/antígenos usados contra Cisticercosis Porcina (Rahman *et al.*, 2015).

ANTIGENO + ADYUVANTE	PROTECCIÓN (%) REDUCCIÓN		DESAIO	AUTOR AÑO
	Cerdos infectados	# Cisticercos		
Antígenos nativos				
Extracto de cisticercos <i>T. solium</i>		74%	C	Molinari, 1983
Antígenos secretor-excretor <i>T. solium</i> + FCA		95%	E	Pathak, 1990
Extracto de cisticercos <i>T. solium</i>	100%		C	Molinari, 1993
Extracto de escólex <i>T. solium</i> + FIA		71%	E	Nascimento, 1995
Extracto de escólex <i>T. solium</i> + • <i>Corynebacterium parvum</i>		75%	E	Nascimento, 1995
Extracto de <i>T. crassiceps</i> + FCA		50%	E	Sciutto, 1995
Extracto de cisticercos <i>T. solium</i>	82%		C	Molinari, 1997
Proteínas <i>T. crassiceps</i> (56 ,66,74 Kda) + FCA		97/86%	E	Manoutcharian, 1996
Oncosfera congelada de :				
• <i>T. saginata asiática</i> (Indonesia) + FCA	100%	98-99%	E	Fan, 2003
• <i>T. saginata asiática</i> (Taiwan) + FCA	66%	99%	E	Fan, 2003
• <i>T. solium</i> + FCA	100%	99-100%	E	Fan, 2003
Extracto crudo de cisticercos de <i>T. solium</i> + ISA206		89%	E	Cai, 2008
Extracto crudo de cisticercos de <i>T. solium</i> + ISA206		95.9%	E	Luo, 2009
Vacunas Subunitarias				
S3Pvac sintética + saponinas		98%	C	Huerta, 2001
Tsol18-GST + Quil A		100%	E	Flisser, 2004
Tsol45-1 ^a -GST + Quil A		0	E	Flisser, 2004
Tsol18-GST + Tsol45-1 ^a -GST + Quil A		95%	E	Flisser, 2004
Tsol18-GST + Quil A		99%	E	Flisser, 2004
Tsol45-1 ^a -GST + Quil A		97%	E	Flisser, 2004
S3Pvac-fago (KETc1+KETc7+KETc12+GK1)		97-95%	E	Manoutcharian, 2004
S3Pvac-fago (KETc1+KETc7+KETc12+GK1)		89-42%	E	Manoutcharian, 2004
Tsol18-GST + Quil A		99.9%	E	Gonzalez, 2005
Tsol45-1 ^a -GST + Quil A		97%	E	Gonzalez, 2005
S3Pvac sintética + saponinas	70-80%		E	Sciutto, 2007
Tsol18-GST + ISA 206		94/100%	C	Cai, 2008
S3Pvac-fago inactivo (KETc1+KETc7+KETc12+GK1) + 0.05% formaldehido	54.2%	87.1%	E	Morales, 2008
Tsol45W-4B		97/98.4%	C	Luo, 2009
Tsol18+Quil A+Oxfendazol	100%	100%	E	Assana,, 2010
Tsol18-GST+Tsol16-GST+QuilA	63%	99.8%	C	Jayashi, 2012
Vacunas ADN				
T. Solium B + PV93		85-98%		Cai,2001
Cc1 + pcDNA3		73%		Wang, 2003
pcDNA3-cC1 + (GST-cC1+FIA)		-		Guo, 2004
PVAX-S-deltaC-3n:		83%		Wu, 2005
• Nucleo de hepatitis B+ S3Pvac+péptido IL2		6 sem, 85%		Wu, 2005
		12 sem,77%		Wu, 2005
		20 sem, 72-79%		Wu, 2005
pcDNA3-B T.solium: antígeno B+ pcDNA3.1	80%	92.6%		Guo, 2007

En Mozambique, se probó un tratamiento estratégico sobre el hospedero intermediario. Administrando una única dosis de 30 mg/Kg de oxfendazol a 2 grupos de 54 cerdos cada uno, de 4 y 9 meses de edad y sus respectivos controles, 108 individuos en total. Criados en las mismas condiciones. La prevalencia (Ag-ELISA) fue de 66.7 % en los controles, 21.4% y 9.1% en los grupos de cerdos de 4 y 9 meses respectivamente. Es así como es una estrategia para controlar el complejo teniasis/cisticercosis (Pondja *et al.*, 2012).

En Camerún, se seleccionó una zona de 41 aldeas y 114 cerdos se realizó una estrategia para el control de la transmisión de *T. solium*, solo con el manejo de cerdos mediante el uso de vacunas y tratamientos antihelmínticos. Los cerdos de 2 a 3 meses de edad fueron vacunados 3 veces (1° 2-3 meses; 2° +4 semanas y 3° + 3 meses) con 1 ml de vacuna intramuscular que contenía 200 ug Tsol18 + 5 mg Quil A, además recibieron 30 mg/Kg de oxfendazol en la segunda inmunización. La necropsia no evidenció ningún cisticerco en los cerdos vacunados. De esta forma la estrategia usada proyecta indirectamente una reducción de nuevos casos de NCC en humanos (Assana *et al.*, 2010).

En Perú, en el año 2016, se logró ejemplificar la erradicación de teniasis/cisticercosis de una región al norte del país. Comprometía una extensión geográfica de 107 aldeas con 81.170 personas y 55.638 cerdos. El estudio fue dividido en 3 fases, la primera constaba de 6 estrategias, para evaluar la efectividad y viabilidad de las intervenciones en la población., las más resaltantes fueron tratamiento parasitario en humanos y cerdos, reemplazo de cerdos y el screening de humanos y cerdos; siendo necesarias solo dos para dar lugar a un control sobre la transmisión de *T. solium*. La segunda fase, se basó en la comparación entre el tratamiento y el diagnóstico, en 17 aldeas. La tercera fase, fue el tratamiento masivo de humanos y cerdos y la vacunación en estos últimos en toda la región del estudio. De esta forma se dio a conocer cómo es posible la erradicación, sin embargo en este estudio no se consideró el costo-eficiencia, lo que debe ser evaluado a largo plazo y contar con estrategias para aminorar los gastos y ser extendido a zonas endémicas (García *et al.*, 2016a).

La vacuna actual de Tsol18 se aplica en un mínimo de 2 inmunizaciones intramusculares, para inducir el mantenimiento de la protección. Para estrategias futuras se debe minimizar las dosis y mantener su eficacia, cambiar el método de aplicación parenteral a otra ruta, para facilitar la aplicación en campo. Además es necesario que las estrategias sean rentables, reproducibles, sostenibles en el tiempo y promover que el gobierno genere políticas sanitarias con interés en la erradicación o control de esta enfermedad.

9. Sobre el vector: Vacunas recombinantes y Virus de Newcastle

El uso de las vacunas recombinantes permite enfocar la respuesta inmune mediante el manejo de genes que pueden codificar diversas proteínas antigénicas. Se basan en numerosos sistemas de expresión con grandes ventajas e incluso facilita la administración al momento de la inoculación. Los componentes proteicos antigénicos tienen una variedad de sistemas de expresión como bacterias, levaduras, células de mamíferos e insectos; en ellas se pueden insertar y expresar ADN que codifica el determinante antigénico (Nascimento y Leite, 2012). Los virus seleccionados para el desarrollo de estas vacunas presentan un genoma grande que nos da la ventaja de insertar un nuevo gen, y es posible reemplazar hasta el 10% del genoma (Tizard, 2009).

El ciclo de vida del virus de Newcastle (VNC) se da en su totalidad en el citoplasma. El virus ingresa al citoplasma de la célula mediante unión y fusión de membrana, mediadas por la proteína hemaglutinina-neuroaminidasa (HN) y proteína de fusión respectivamente. Así, se libera el virus en el citoplasma; luego el complejo ribonucleoproteína (RNP) transcribe el ARN viral para producir ARNm viral y este se traduce a proteínas virales. El genoma se replica cuando se sintetizan suficientes proteínas virales. Finalmente los componentes virales se transportan a la membrana celular, dan paso al ensamblaje de partículas virales de progenie, adquieren una envoltura mediante gemación, bajo la proteína de matriz (M) antes de ser liberada a la superficie celular por elución o desprendimiento, regulado por la proteína HN (Choi, 2017).

Por otro lado el uso del virus de Newcastle (VNC) como vector de antígenos protectores de patógenos específicos, es una estrategia muy atractiva. Dado que puede inducir respuestas inmunes humorales y mucosas, mucho mejor y más rápidamente que las vacunas convencionales. El genoma del virus de Newcastle (figura 21), consta de seis genes principales en el orden de 3'-NP-P-M-FHN-L-5', los cuales codifican seis proteínas estructurales y dos no estructurales (Duan *et al.*, 2015).

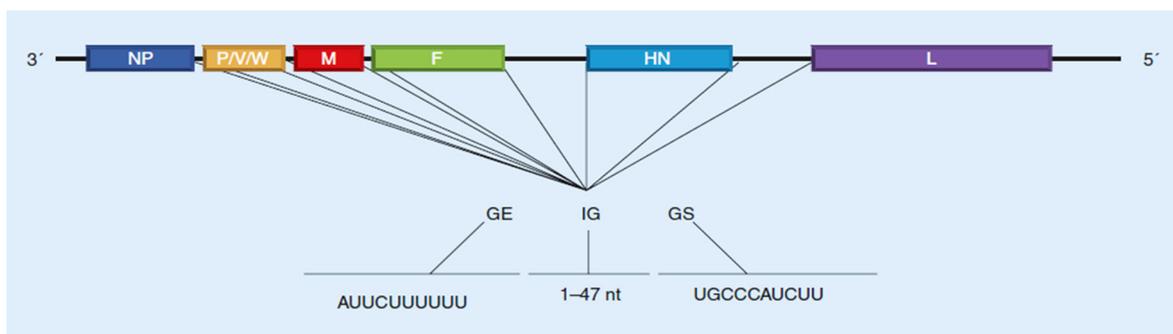


Figura 21. Representación del genoma del virus de Newcastle. Los genes están separados por secuencias de unión conocidas como secuencias de señal de gen terminal (GE), intergen (IG) y de gen inicial (GS). NP: Nucleoproteína, P/V/W: Fosfoproteína, M: Proteína matriz, F: Proteína fusión, HN: Proteína hemaglutinina-neuroaminidasa, L: Proteína larga (Duan *et al.*, 2015).

De esta forma, el VNC es fácilmente manejado para la construcción de vacunas, además otorga seguridad, altamente eficaz, de baja toxicidad y provee buena inmunogenicidad (Duan *et al.*, 2015). De esta forma, los avances en genética inversa permiten manipular el genoma de virus ARN, como es el caso del VNC. Numerosas cepas de este virus se han usado como vacunas para aves de corral, mamíferos inclusive humanos. Es importante saber que estas vacunas inducen potentemente la respuesta inmune local y sistémica del antígeno seleccionado (Choi, 2017).

Para producir una vacuna recombinante en VNC, la inserción de genes foráneos (antígenos de interés) en el clon de ADNc de longitud completa es la etapa más importante para generar VNCr que expresen los antígenos foráneos (figura 22). El gen de interés debe sintetizarse como una unidad de transcripción, introducida en una secuencia gen inicial (GS), gen foráneo y una secuencia de gen terminal. Luego la unidad de transcripción se inserta en una región intergénica no codificante del genoma del VNC (Duan *et al.*, 2015; Choi, 2017).

En medicina veterinaria, se han diseñado vacunas con el VNC contra el herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1), virus de la fiebre del Valle del Rift (RVFV), virus de la estomatitis vesicular (VSV), virus de la distemper canina (CDV), virus de la rabia (RV), virus de la fiebre efímera bovina (BEFV), virus de la influenza aviar altamente patogénica (HPAIV), virus Nipah (NiV), virus de la infección bursal o enfermedad de Gumboro (IBDV), virus de la laringotraqueitis infecciosa (ILTV) y virus del Nilo Occidental (VNO). Incluso se han diseñado vacunas de forma experimental, en medicina humana usando al VNC como vector, así tenemos al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1), Síndrome respiratorio agudo grave asociado a Coronavirus (SARS-CoV), virus del Ebola (EBOV), virus Nipah (NiV), Norovirus (NoV), virus sincitial respiratorio (RSV), Enterovirus 71 (EV71), virus de inmunodeficiencia en simios (SIV) y virus de la parainfluenza humana tipo 3 (HPIV-3) (Duan *et al.*, 2015; Choi, 2017).

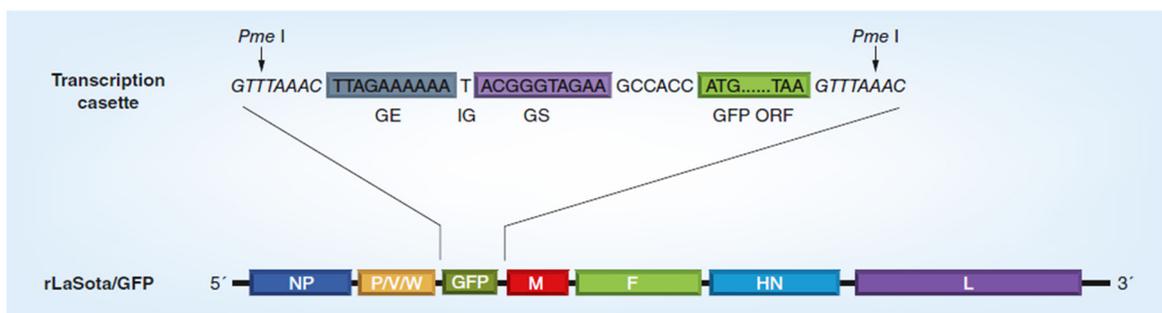


Figura 22. Inserción de genes foráneos (GFP) en el VNC. La transcripción artificial consta de señales de GE, IG y GS modificadas en la secuencia de unión NP-P y el ORF-GFP. GE: gen terminal; GFP: Proteína fluorescente verde; GS: gen inicial; IG: Intergen (Duan *et al.*, 2015).

III. MATERIALES y MÉTODOS

1. Materiales

1.1. Lugar de estudio

El presente estudio se llevó a cabo durante el 2017. Los animales se mantuvieron en los corrales de la Clínica de Animales Mayores de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), ubicado en el distrito de San Borja, en la provincia de Lima. Durante el tiempo que duró el estudio, la temperatura promedio de los corrales fluctuó entre 24°C a 32°C y la humedad relativa fue de 90%.

Las muestras de suero fueron analizadas en las instalaciones del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria de la FMV de la UNMSM y en la Unidad de Inmunología Parasitaria de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), ubicado en el distrito de San Martín de Porres, localizados ambos en la provincia de Lima.

1.2. Animales

Se adquirió 15 cerdos de 3 meses de edad (6 hembras, 9 machos), provenientes de una granja tecnificada y libre de cisticercosis porcina. Una vez instalados en la Facultad de Medicina Veterinaria, los cerdos fueron identificados mediante el uso de aretes y sangrados de la

vena yugular o vena cava anterior según el protocolo descrito (Apéndice 1) para confirmar que eran negativos a cisticercosis porcina mediante la prueba de WB (Brand y Tsang, 1989). Posteriormente, los cerdos fueron divididos aleatoriamente en 3 grupos de 5 cerdos cada uno y mantenidos en tres corrales de acuerdo a la vía de aplicación de la vacuna:

Grupo I. Vía de aplicación OCULAR

Grupo II. Vía de aplicación NASAL

Grupo III. PLACEBO: Ocular /Nasal

1.3. Tamaño muestral

Se realizó un diseño de medidas repetidas unidireccionales cuenta con una muestra de 11 sujetos, medidos en 3 puntos en el tiempo, tiene una distancia desde el valor de contraste al límite de 0.95 al usar un nivel de confianza de 0.95 calculado a partir de una distribución t usando una estadística multivariada de dos lados. La desviación estándar entre individuos es de 1. El patrón de la matriz de covarianza se agrupa con una correlación de 0.20 entre la medida del primer y segundo punto de tiempo. Se trabajó mediante el uso del software pASS 14 (NCSS). Los datos son descritos y detallados en el apéndice 2.

1.4. Vacuna

Se utilizó una vacuna recombinante diseñada y desarrollada por el laboratorio FARVET S.A.C. La vacuna contenía Tsol18, antígeno recombinante producto de la oncósfera de *T. solium*. El vector fue una cepa modificada del virus de Newcastle (VNC), virus vivo no patogénico, VNC-rLS1-1. La concentración de la vacuna rLS1-1Tsol18 fue 1.6×10^9 pfu/ml.

2. Metodología

2.1. Inmunización de los porcinos

El estudio tuvo una duración de 8 semanas. Para la inmunización de los animales, primero se inmovilizó a cada cerdo mediante la sujeción del hocico con un acial y luego se colocaron 0.24×10^9 pfu, equivalente a tres gotas de la vacuna, según el grupo al que pertenecían. Así, el grupo I (ocular) recibió las gotas en la mucosa ocular (párpado inferior), al grupo II (nasal) en los orificios nasales y al grupo III (placebo) se le aplicó suero fisiológico por vía ocular o nasal (Figura 23).



Figura 23. Vía de aplicación de las inmunizaciones.
(A) Grupo I: Vía ocular. (B) Grupo II: Vía nasal

La vacunación de los animales se llevó a cabo 4 veces, los cuales correspondieron a las semanas 0, 1, 5 y 6 respectivamente del experimento. Para las dos primeras inmunizaciones se decidió anestesiarse a los animales con 20 mg/kg de Ketamina y 2 mg/kg de Xilacina para facilitar la inmunización. La administración de las drogas se realizó por vía intramuscular (Grimm *et al.*, 2017).

Finalmente, se evaluó el comportamiento de los cerdos post-vacunación para ver si presentaban alguna reacción adversa como disnea, enrojecimiento, vómito, diarrea, depresión entre otros.

2.2. Recolección de muestras

Las muestras de sangre fueron extraídas semanalmente. Para este procedimiento, se usó el protocolo de extracción de sangre (Apéndice 1). Los cerdos fueron sujetos, derribados y colocados en posición decúbito dorsal (Figura 24), con los miembros anteriores y posteriores extendidos caudalmente. Cuando los cerdos no fueron derribados, se les sujetó del hocico y se extendió el miembro anterior derecho o izquierdo en dirección caudal (Figura 25). Ambos métodos permitieron la palpación de la vena cava anterior y de la vena yugular. La aguja del sistema vacutainer fue introducida en su totalidad en el vaso sanguíneo palpado y se extrajo aproximadamente 5 ml de sangre.



Figura 24. Métodos de extracción de sangre. I. Ubicación de la vena yugular. II. Introducción de la aguja. III. (a) Cerdo en posición decúbito dorsal.



Figura 25. Extracción de sangre en el cerdo de pie. (A) Posicionamiento de la aguja en la vena yugular. (B) Tubos conteniendo sangre. (C) Extracción de sangre sujetando el miembro anterior derecho

El sistema vacutainer consta de un tubo al vacío que contiene activador de coagulación en las paredes del tubo. El tubo se coloca dentro del holder y es conectado a una aguja de 21G x 1 ½. Las muestras extraídas fueron rotuladas de acuerdo al número de arete del cerdo. Todas las muestras fueron refrigeradas por 3 horas como mínimo y luego centrifugadas a 3 200 rpm por 5 minutos, para la obtención del suero. El suero fue colocado en viales de 1.5 ml, rotulado y congelado. El almacenado se dio por duplicado a -70 °C.

2.3. Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación

Se realizó el método de Inhibición de la Hemaglutinación (HI) para evaluar el título de anticuerpos producidos por la vacuna, para el virus de Newcastle. Para usar el suero porcino en la prueba de HI, primero se debe inactivar. Se usó el siguiente protocolo:

2.3.1. Protocolo Pre- Inhibición de la Hemaglutinación (Inouye, 1976)

1.1. Inactivación el complemento :

- a. Se colocó el suero a baño maría a 36 °C por 30 minutos.

1.2. Eliminación de inhibidores inespecíficos:

- b. En un vial se añadió 100 ul de suero y luego 300 ul de PBS.
- c. Se agregó 400 ul de kaolin al 25% al vial.
- d. El vial fue homogenizado (vórtex).
- e. Se incubó el vial trabajado a temperatura ambiente por 20 minutos.
- f. Se centrifugó a 2 000 rpm por 20 minutos.

1.3. Eliminación de aglutininas inespecíficas:

- g. En el sobrenadante anterior in situ ,se le añadió 25 ul de GR al 50%
- h. Fue incubado a 4°C por 1 hora.
- i. Seguidamente se centrifugó a 2 000 rpm por 20 min.
- j. Finalmente la concentración final fue de 1/8.

1.4. Se colocó el sobrenadante en otro vial y se rotuló.

2.3.2. Inhibición de la Hemaglutinación (Tapia, 1984).

- a. Se colocó 25 µl de PBS a cada pocillo.
- b. Se añadió 5 ul de suero porcino inactivado sobre el primer pocillo y se realizaron diluciones desde 1:1 hasta 1:4096.
- c. Se añadió 25 ul de antígeno a cada pocillo.
- d. Las placas fueron agitadas para su homogenización, luego se incubaron por 45 minutos.

- e. Se añadió 25 ul de glóbulos rojos de pavo al 0.5 % a cada pocillo.
- f. Se agitó suavemente y se dejó a temperatura ambiente durante 60 minutos.
- g. Se realizó la lectura.

2.4. ELISA Indirecta : Titulación de los anticuerpos

Todas las muestras de sueros obtenidas para evaluar la presencia de anticuerpos Ig G contra el antígeno Tso18, fueron trabajadas con la prueba serológica de ELISA indirecta (Cai *et al.*, 2008). Es una prueba sencilla y permite el procesamiento de numerosas muestras al mismo tiempo. El protocolo trabajado fue el siguiente:

2.4.1. Protocolo de ELISA Tso18

I. Sensibilización de la placa de ELISA con antígeno Tso18:

- a) Se seleccionó una placa NUNC MAXISORP a la cual se añadió 100 ul de antígeno Tso18 a una concentración de 1 ug/ml, diluido en 10 ml de buffer de bicarbonato. Fue mezclada por 15 minutos como mínimo.
- b) Se colocó la placa en agitación (shaker) durante 1 hora a 37°C (estufa). Al culminar el proceso, la placa fue almacenada a 4°C durante toda la noche.

II. ELISA Tso18 (Cai *et al.*, 2008)

- a. Al extraer las placas de refrigeración, fueron lavadas 3 veces con PBS OXOID TWEEN 0.05% y secadas sobre papel toalla.
- b. Se agregó 150 ul de Buffer Bloqueante (PBS TWEEN 0,05% - NBCS 2%) a cada pocillo y se incubó por 1 hora a 37°C en agitación.
- c. Se descartó el contenido de la placa y no se realizó lavado alguno.
- d. Cada muestra de suero de cerdo fue diluida a una concentración de 1/200 en PBS TWEEN 0.05%-NBCS 5%.
- e. A cada pocillo se le agregó 100 ul del suero de cerdo previamente diluido.
- f. Seguidamente se incubó a 37°C por 30 minutos en agitación.
- g. Al concluir la incubación, la placa fue lavada 5 veces con PBS OXOID TWEEN 0.05% y secada sobre papel toalla.
- h. Se diluyó el conjugado KPL (Afinity Purified Antibody Peroxidase Labeled Goat anti-swine IgG (H+L) KPL) a una concentración de 1/8000 en PB TWEEN 0.05%- NBCS 5%.
- i. Así el conjugado diluido, fue agregado a razón de 100 ul por pocillo e incubado por 1 hora a 37°C en agitación.

- j. Al finalizar, se realizó 5 lavados a la placa con PBS OXOID TWEEN 0.05% y fue secada sobre papel toalla.
- k. Se añadió 100 ul de OPD (o-phenylenediamine dihydrochloride), diluido en Buffer citrato, a cada pocillo. La placa fue cubierta con papel aluminio en su totalidad e incubada por 30 minutos a 30°C.
- l. Para finalizar la reacción, se agregó 50 ul de $H_2SO_4 2N$.
- m. La lectura de la placa se realizó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm.

2.5. Análisis estadístico

Al finalizar el protocolo los valores de títulos de anticuerpos son expresados en Densidad Óptica (OD). A partir de los OD resultantes del ELISA-Tso18, se obtuvo los porcentajes de positividad ($PP = (\text{densidad óptica de la muestra} / \text{densidad óptica del control positivo}) \times 100$) de cada muestra. Los PP se analizaron mediante la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar su normalidad. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los porcentajes de positividad por cada semana entre los 3 grupos de estudio. Todas las pruebas se realizaron con el programa estadístico Stata v14 (Statacorp, 2014) y se evaluaron con un nivel de confianza del 95%.

IV. RESULTADOS

Al iniciar este estudio, todos los cerdos estaban libres de anticuerpos contra *Taenia solium* (Tsol18) y VNC, debido a que provienen de lugares libres de cisticercosis. Que se les hizo la prueba de EITB y ELISA y resultaron negativos a cisticercosis porcina por *T. solium*.

a. Resultados para la titulación de anticuerpos contra VNC:

Los títulos de anticuerpos contra el Virus de Newcastle (VNC), fueron obtenidos mediante la prueba de inhibición de la hemaglutinación (HI) trabajados en el Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria. El grafico 26, muestra los títulos obtenidos mediante HI para la semana 8 de estudio.

ID Cerdo	Vacunacion	Titulo HI
11	Control	1/512
12	Control	1/256
13	Control	1/512
14	Control	1/256
15	Control	1/128
6	Nariz	1/1024
7	Nariz	1/1024
8	Nariz	1/512
9	Nariz	1/256
10	Nariz	1/1024
1	Ojo	1/1024
2	Ojo	1/1024
3	Ojo	1/1024
4	Ojo	1/1024
5	Ojo	1/256

Figura 26. Título de anticuerpos mediante la prueba de inhibición de la hemaglutinación (HI), para los sueros obtenidos en la octava semana de estudio.

Los datos obtenidos mediante HI, fueron trabajados mediante el logaritmo del título a la inversa en base dos, para cada uno de los resultados. La figura 27, evidencia los resultados para la octava semana de estudio, se observa que los cerdos vacunados en la fosa nasal produjeron respuestas ligeramente superiores a los otros dos grupos. Cabe destacar que no hubo diferencia estadística entre la ruta de inoculación y los títulos de anticuerpos producidos contra el VNC ($p = 0,2348$).

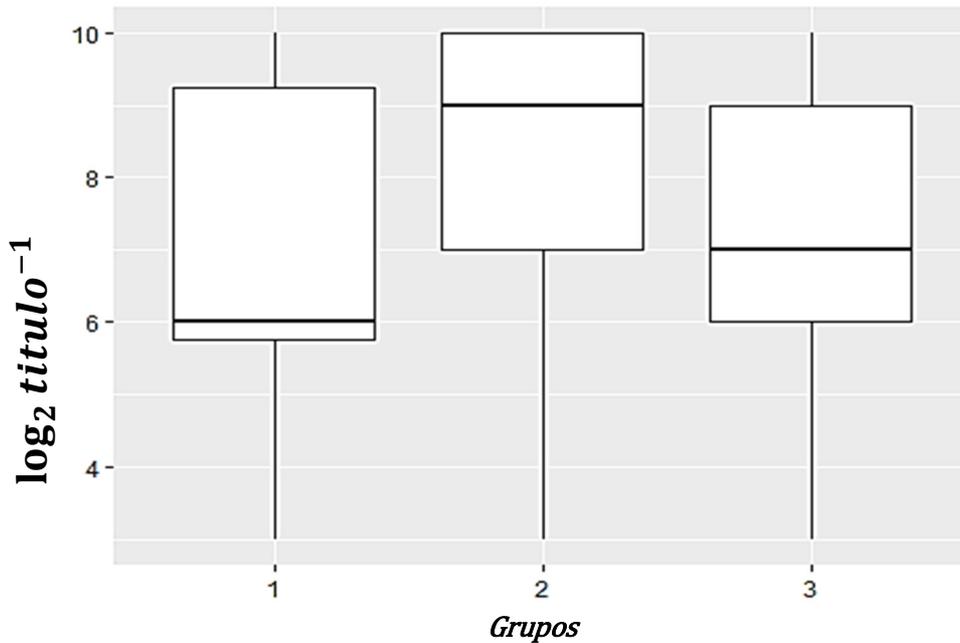


Figura 27. Gráfico boxplot, perteneciente a la 8ª semana de estudio, muestra los títulos de anticuerpos contra el virus de Newcastle, producto de la aplicación de la vacuna recombinante Tsol18-NDV, obtenidos mediante la prueba de inhibición de la hemaglutinación. Grupos (1=Control; 2=Fosas nasales; 3=Ojo).

b. Resultados para el título de anticuerpos Tsol18

La prueba diagnóstica de ELISA indirecta, permitió monitorear la presencia de anticuerpos circulantes contra tsol18 en cerdos inmunizados por vía oral y nasal para este estudio. A partir del OD obtenido, se decidió trabajar con el porcentaje de positividad. Los datos fueron analizados bajo la prueba de Shapiro-Wilk mostrando que el pp de cada grupo no representaban una distribución normal, por lo tanto se usó la prueba de Kruskal-Wallis para analizar los datos de los tres grupos en estudio.

El grupo de inoculación en la mucosa nasal, destaca levemente por tener la mediana del pp más elevada, a diferencia de los otros dos grupos, durante la semana 7, 8 y 9. En la primera y segunda semana, el grupo de inoculación ocular presentó la mediana del pp mayor a los otros dos grupos. Para la tercera, cuarta y quinta semana el grupo control presentó la mediana mayor a

los grupos nariz y ojo. Sin embargo la prueba de Kruskal-Wallis no encontró diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$) entre los grupos de estudio en ninguna de las 8 semanas de muestreo. El cuadro 7, muestra la mediana del % pp de cada grupo (ojo, nariz y control) por semana.

Cuadro 7. Medianas de los porcentajes de positividad (pp) en los 3 grupos de estudio, obtenidos del OD, luego de realizar el ELISA para la evaluación el título de Ac Tsol18. La prueba de Kruskal-Wallis evidenció un $P> 0.05$.

Semana	Grupos			P
	Ojo (%)*	Nariz (%)*	Control (%)*	
1	5.17	4.36	4.92	0.89
2	4.15	4.01	3.70	0.79
3	4.09	3.84	5.59	0.76
4	4.10	4.34	4.99	0.97
5	4.00	4.02	5.81	0.56
6	4.28	5.80	4.54	0.68
7	4.00	7.44	4.45	0.23
8	4.00	6.33	4.98	0.54

*Mediana de PP

A continuación, las figuras 28, 29 y 30 grafican el cuadro 7. Se muestra la mediana del % pp (línea dentro de las cajas) y su variación, por semana en cada grupo de estudio.

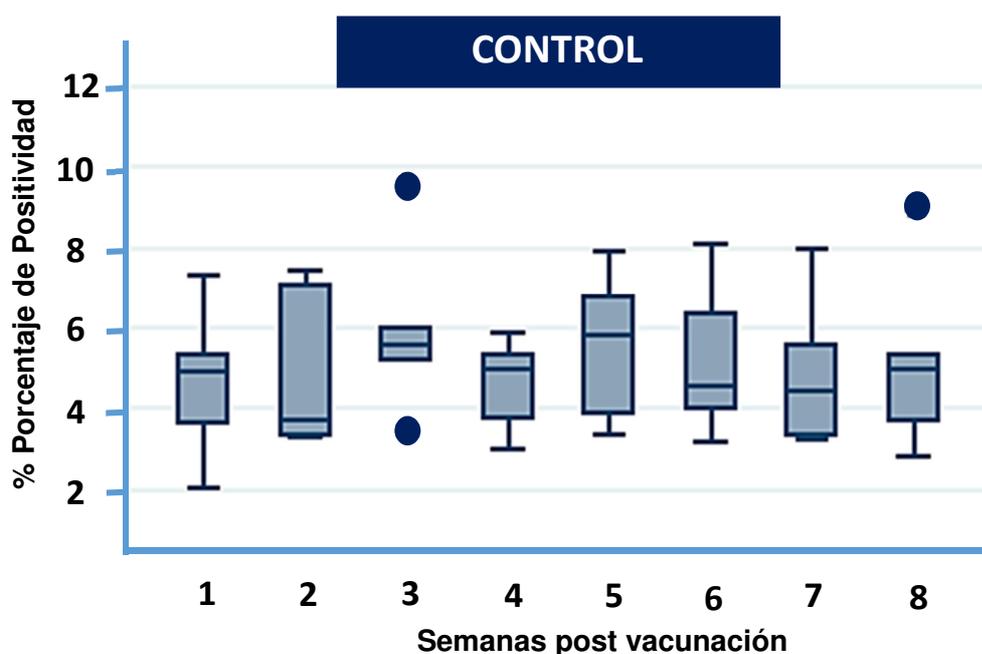


Figura 28. Gráfico boxplot del porcentaje de positividad (%pp) del título de anticuerpos contra Tsol18 producto de la aplicación de la vacuna recombinante de Tsol18-NDV, obtenidos mediante ELISA. Grupo Control

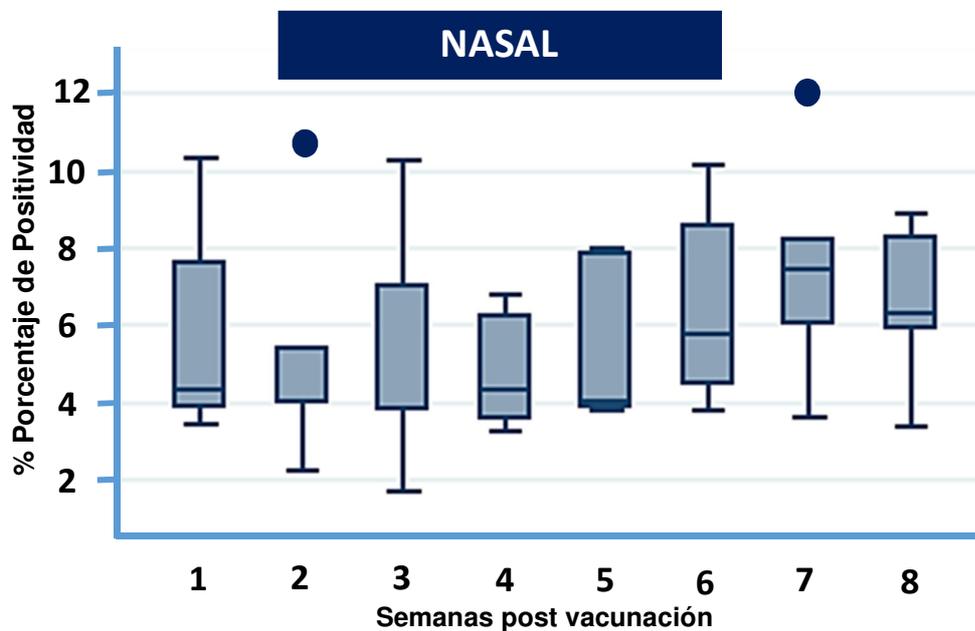


Figura 29. Gráfico boxplot del %pp del título de anticuerpos contra Tsol18 producto de la aplicación de la vacuna recombinante de Tsol18-NDV, obtenidos mediante ELISA. Grupo de inoculación vía mucosa nasal.

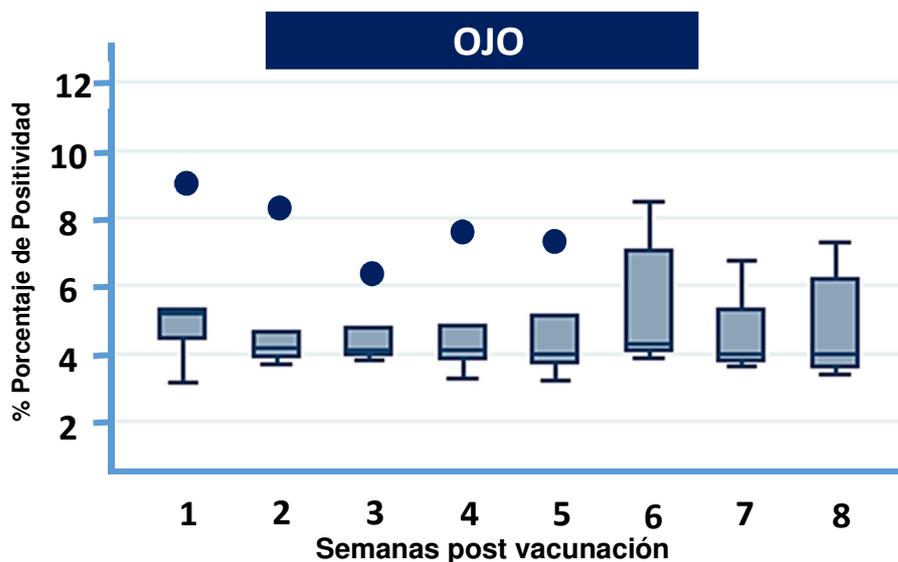


Figura 30. Gráfico boxplot del %pp del título de anticuerpos contra Tsol18 producto de la aplicación de la vacuna recombinante de Tsol18-NDV, obtenidos mediante ELISA. Grupo de inoculación vía mucosa ocular.

Se concluye resaltando que no se evidenció diferencia estadística significativa en los grupos trabajados durante el tiempo que duró el estudio.

V. DISCUSIÓN

Actualmente se han diseñado numerosas estrategias para el control y/o erradicación del complejo teniasis-cisticercosis. Cuando las medidas correctivas toman al hospedero intermediario del parásito *T. solium*, se afecta directamente la transmisión lo que reduce significativamente la incidencia de casos de cisticercosis en humanos. Las estrategias incluyen el uso de desparasitaciones (quimioterapia), vacunación, mejoras en las prácticas de salubridad y medidas de sanidad (Assana *et al.*, 2013; Gabriel *et al.*, 2017; Lightowlers y Donadeu, 2017). El uso de vacunación frente a *T. solium* demostró ser un método potencialmente válido para la prevención de esta zoonosis, mediante la reducción de la transmisión de los parásitos a los humanos, de esta forma se reduce la prevalencia de la enfermedad (Gauci *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2015). La vacuna con la proteína de la oncósfera, Tsol18, fue probada bajo condiciones de laboratorio y de campo, demostrando ser protectora en un 100% (Jayashi *et al.*, 2012). Conjuntamente manifestó protección en animales trabajados en diversos estudios de América Central, América del sur y África (Lightowlers, 2006a; Lightowlers *et al.*, 2016a). Además se ha demostrado que los anticuerpos contra Tsol18, pueden ser transferidos vía calostro y detectados en las primeras horas de vida del lechón, mediante la inmunización durante la gestación (Halire, 2015).

Existen numerosos estudios que exponen que Tsol18 induce altos niveles de protección en cerdos al ser desafiados contra oncósferas de *T. solium*, debido a que inhibe el desarrollo de estadios tempranos en el hospedero intermediario, cerdo (Gauci *et al.*, 2006). En la actualidad, se busca desarrollar vacunas de fácil administración ya sea oral o mediante aspersión,

prácticas, que simplifiquen el tratamiento, seguras y de bajo costo, sin comprometer su eficacia (Ding *et al.*, 2013; Rosales-Mendoza *et al.*, 2018). La vacuna Tso118-VNC, en este estudio se trabajó en cuatro inmunizaciones, inoculadas en la mucosa nasal u ocular. El diseño del esquema se basó en que las dosis de refuerzo en las inmunizaciones brindan estabilidad antigénica (Monreal-Escalante *et al.*, 2016).

Se evidenció una baja producción de anticuerpos en los tres grupos de trabajo, además no se encontró diferencia estadística entre los grupos ($p > 0.05$). El grupo inoculado por vía nasal obtuvo rangos ligeramente elevados de anticuerpos comparado con el grupo inoculado por vía ocular y control. Esto se debe a que la zona nasal de los cerdos tiene mayor superficie que la región ocular, por ende las gotas de la vacuna tienen la posibilidad de penetrar en un área de mayor contacto (Morris y Shusterman, 2010). Los bajos niveles de anticuerpos pueden producirse por el manejo inadecuado de la vacuna al momento de la inoculación o transporte al laboratorio (Ashok *et al.*, 2017). Sin embargo, en nuestro estudio se usó un protocolo para hacer un buen manejo de la vacuna. Así como en el desarrollo de la vacuna, numerosos factores pueden afectar la expresión de la proteína (Tso118), como el vector, el sesgo u optimización del codón productor de Tso118, la posición en la secuencia Shine-Dalgarno (colocación en el sitio de replicación genético) y la estabilidad del vector en el ambiente. La ruta de inoculación puede afectar el resultado de la respuesta inmune (Wang *et al.*, 2015). Debido a que al inocular la vacuna en las fosas nasales, esta puede eliminarse rápidamente mediante estornudos; y al ser inoculada en las mucosas oculares esta puede eliminarse mediante la producción de lágrimas (Tizard, 2009).

Cabe destacar que al trabajar vacunas diseñadas para estimular el sistema inmune de mucosas, se debe tener en cuenta sus elementos inmunes como Ig A, células T, citoquinas y péptidos antimicrobiales (Dzharullaeva *et al.*, 2018). Los resultados del estudio, muestran que la vacuna Tso118-VNC, presenta una baja producción de niveles de anticuerpos específicos (Ig G). Esto es posible cuando al inocular las mucosas se estimula la respuesta Ig A, en un primer momento. Al estimular nuevamente las mucosas con dosis de refuerzo e incluso a pesar de incrementar la dosis de la vacuna, la respuesta inmune es difícil de inducir; debido a que los niveles elevados de Ig A bloquean la absorción de antígeno, consecuentemente evita la estimulación de las células presentadoras de antígeno (Tizard, 2009). Por otro lado, en este estudio no se evaluó la respuesta inmune celular, se ha comprobado en estudios anteriores usando S3Pvac, que la vacuna producía una respuesta inmune celular específica caracterizada por la producción de niveles bajos de anticuerpos específicos. Sin embargo, demostró un aumento de la capacidad proliferativa de linfocitos consecuentemente aumento en la producción de citoquinas proinflamatorias; activó macrófagos e incrementó aquellas moléculas de superficie asociadas a la

activación celular, producción de óxido nítrico y una mayor expresión de TLR3 y TLR4. La inmunidad celular está ligada a la citotoxicidad contra el parásito. La ventaja al evaluar respuesta inmune celular, es el de saber si la vacuna produce memoria celular antigénica, es posible cuantificar células B y subpoblaciones de linfocitos T, mediante citometría de flujo; evaluando si la vacuna tiene o no capacidad de inducir proliferación linfocitaria (Ito, 1997).

Se usó el virus de Newcastle (VNC) como vector del antígeno Tsol18, el cual permitió usar la mucosa intranasal y la conjuntiva ocular como vías de administración, dado que las vacunas convencionales del VNC son administradas por estas vías. Debido a que el VNC usa las vías respiratorias para su implantación y replicación en las células del epitelio mucoso del tracto respiratorio, luego se dirige a la circulación sanguínea, para continuar su replicación y diseminación en otros órganos (Huang *et al.*, 2003). Las vacunas que usan VNC como vector tienen características notables al ser seguras, estables, eficaces y rentables lo que es de gran ayuda económica para el criador de cerdos (Choi, 2017; Dey *et al.*, 2017). Además se debe tener en cuenta que la dosis y la vía de inoculación del antígeno (VNC) van a influenciar sobre los títulos de anticuerpos a desarrollar. (Marquardt *et al.*, 1985). Los resultados muestran que la vacuna produjo anticuerpos elevados para el Virus de Newcastle (vehículo), en los tres grupos de estudio, evaluados mediante la técnica de Inhibición de la hemaglutinación (Marquardt *et al.*, 1985).

Por ende el virus de Newcastle es un vector de fácil inoculación pero inadecuado para este antígeno por los bajos niveles de Ac-Tsol18 producidos. Es de sumo interés investigar la inducción y mantenimiento de la inmunidad de mucosa en esta especie animal para generar vacunas efectivas por esta vía (Dzharullaeva *et al.*, 2018).

VI. CONCLUSIONES

- Los animales de los grupos tratados y el control no mostraron diferencia estadística significativa, con respecto a la producción de anticuerpos.

VII. RECOMENDACIONES

- Se requieren mayor cantidad de estudios que evalúen el uso de Tso118 en otros vectores, de fácil aplicación y practicidad.
- Se sugiere desarrollar vacunas seguras con respecto al uso de patógenos de mamíferos, de alta estabilidad para que las proteínas expresadas (Tso118) sean protectivas y de largo plazo en el organismo inmunizado para evitar las vacunas de refuerzo constantes.
- Se sugiere elaborar un esquema de inmunización diferente y realizar el desafío mediante la administración oral con proglotis de *T. solium*.

VIII. LITERATURA CITADA

1. **Arora N, Tripathi S, Sao R, Mondal P, Mishra A, Prasad A. 2017.** Molecular Neuro-Pathomechanism of Neurocysticercosis: How Host Genetic Factors Influence Disease Susceptibility. *Mol Neurobiol*. doi: 10.1007/s12035-016-0373-6.
2. **Ashok A, Brison M, Letallec Y. 2017.** Improving cold chain systems: Challenges and solutions. *Vaccine* 35: 2217-2223. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.08.045.
3. **Assana E, Kyngdon CT, Gauci CG, Geerts S, Dorny P, De Deken R, Anderson GA, Zoli AP, Lightowers MW. 2010.** Elimination of *Taenia solium* transmission to pigs in a field trial of the TSOL18 vaccine in Cameroon. *Int J Parasitol* 40: 515-519. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.01.006.
4. **Assana E, Lightowers MW, Zoli AP, Geerts S. 2013.** *Taenia solium* taeniosis/cysticercosis in Africa: risk factors, epidemiology and prospects for control using vaccination. *Vet Parasitol* 195: 14-23. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.022.
5. **Barriga O. 2002.** Las Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos en la America Latina. Chile. Ed. 247.
6. **Bobes RJ, Fragoso G, Fleury A, Garcia-Varela M, Sciutto E, Larralde C, Laclette JP. 2014.** Evolution, molecular epidemiology and perspectives on the research of taeniid parasites with special emphasis on *Taenia solium*. *Infect Genet Evol* 23: 150-160. doi: 10.1016/j.meegid.2014.02.005.
7. **Bobes RJ, Fragoso G, Reyes-Montes Mdel R, Duarte-Escalante E, Vega R, De Aluja AS, Zuniga G, Morales J, Larralde C, Sciutto E. 2010.** Genetic diversity of *Taenia solium* cysticerci from naturally infected pigs of central Mexico. *Vet Parasitol* 168: 130-135. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.11.001.

8. **Brand JA, Tsang VC. 1989.** A rapid immunoblot assay (western blot) to detect specific antibodies for human immunodeficiency virus, *Schistosoma mansoni*, and *Taenia solium* (Cysticercosis). *J Immunoassay* 10: 237-255. doi: 10.1080/01971528908053239.
9. **Bruno E, Bartoloni A, Zammarchi L, Strohmeyer M, Bartalesi F, Bustos JA, Santivanez S, Garcia HH, Nicoletti A, Group CPS. 2013.** Epilepsy and neurocysticercosis in Latin America: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 7: e2480. doi: 10.1371/journal.pntd.0002480.
10. **Bruschi F. 2011.** Was Julius Caesar's epilepsy due to neurocysticercosis? *Trends Parasitol* 27: 373-374. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2011.06.001>.
11. **Bruschi F, Masetti M, Locci MT, Ciranni R, Fornaciari G. 2006.** Short report: cysticercosis in an Egyptian mummy of the late Ptolemaic period. *Am J Trop Med Hyg* 74: 598-599.
12. **Bueno EC. 2012.** Cysticercosis and the immunosuppression: what are the mechanisms involved? *Arq Neuropsiquiatr* 70: 243-244. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-282X2012000400002>
13. **Burneo JG, Tellez-Zenteno J, Wiebe S. 2005.** Understanding the burden of epilepsy in Latin America: a systematic review of its prevalence and incidence. *Epilepsy Res* 66: 63-74. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2005.07.002.
14. **Cai X, Chai Z, Jing Z, Wang P, Luo X, Chen J, Dou Y, Feng S, Su C, Jin J. 2001.** Studies on the development of DNA vaccine against *Cysticercus cellulosae* infection and its efficacy. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 32 Suppl 2: 105-110.
15. **Cai X, Yuan G, Zheng Y, Luo X, Zhang S, Ding J, Jing Z, Lu C. 2008.** Effective production and purification of the glycosylated TSOL18 antigen, which is protective against pig cysticercosis. *Infect Immun* 76: 767-770. doi: 10.1128/IAI.00444-07.
16. **Cangalaya C, Bustos JA, Calcina J, Vargas-Calla A, Mamani J, Suarez D, Arroyo G, Gonzalez AE, Chacaltana J, Guerra-Giraldez C, Mahanty S, Nash TE, Garcia HH, Peru CWGI. 2017.** Radiological evolution of porcine neurocysticercosis after combined antiparasitic treatment with praziquantel and albendazole. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005624. doi: 10.1371/journal.pntd.0005624.
17. **Carabin H, Winkler AS, Dorny P. 2017.** *Taenia solium* cysticercosis and taeniosis: Achievements from the past 10 years and the way forward. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005478. doi: 10.1371/journal.pntd.0005478.
18. **Carpio A, Campoverde A, Romo ML, Garcia L, Piedra LM, Pacurucu M, Lopez N, Aguilar J, Lopez S, Vintimilla LC, Toral AM, Pena-Tapia P. 2017.** Validity of a PCR assay in CSF for the diagnosis of neurocysticercosis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 4: e324. doi: 10.1212/NXI.0000000000000324.

19. **Coral-Almeida M, Gabriel S, Abatih EN, Praet N, Benitez W, Dorny P. 2015.** *Taenia solium* Human Cysticercosis: A Systematic Review of Sero-epidemiological Data from Endemic Zones around the World. PLoS Negl Trop Dis 9: e0003919. doi: 10.1371/journal.pntd.0003919.
20. **Criscione CD, Poulin R, Blouin MS. 2005.** Molecular ecology of parasites: elucidating ecological and microevolutionary processes. Mol Ecol 14: 2247-2257. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02587.x.
21. **Chawhan P, Singh BB, Sharma R, Gill JP. 2016.** Morphological characterization of *Cysticercus cellulosae* in naturally infected pigs in Punjab (India). J Parasit Dis 40: 237-239. doi: 10.1007/s12639-014-0482-y.
22. **Chekhonin VP, Shein SA, Korchagina AA, Gurina OI. 2013.** VEGF in tumor progression and targeted therapy. Curr Cancer Drug Targets 13: 423-443.
23. **Choi KS. 2017.** Newcastle disease virus vectored vaccines as bivalent or antigen delivery vaccines. Clin Exp Vaccine Res 6: 72-82. doi: 10.7774/cevr.2017.6.2.72.
24. **Del Brutto OH. 2013.** Neurocysticercosis on the Arabian Peninsula, 2003-2011. Emerg Infect Dis 19: 172-174. doi: 10.3201/eid1901.120432.
25. **Del Brutto OH, Garcia HH. 2015.** *Taenia solium* Cysticercosis--The lessons of history. J Neurol Sci 359: 392-395. doi: 10.1016/j.jns.2015.08.011.
26. **Del Brutto OH, Nash TE, White AC, Jr., Rajshekhar V, Wilkins PP, Singh G, Vasquez CM, Salgado P, Gilman RH, Garcia HH. 2017a.** Revised diagnostic criteria for neurocysticercosis. J Neurol Sci 372: 202-210. doi: 10.1016/j.jns.2016.11.045.
27. **Del Brutto OH, Nash TE, White AC, Jr., Rajshekhar V, Wilkins PP, Singh G, Vasquez CM, Salgado P, Gilman RH, Garcia HH. 2017b.** Revised set of diagnostic criteria for neurocysticercosis (in reply to Garg and Malhotra). J Neurol Sci 373: 350-351. doi: 10.1016/j.jns.2016.12.018.
28. **Dey S, Chellappa MM, Pathak DC, Gaikwad S, Yadav K, Ramakrishnan S, Vakharia VN. 2017.** Newcastle Disease Virus Vectored Bivalent Vaccine against Virulent Infectious Bursal Disease and Newcastle Disease of Chickens. Vaccines (Basel) 5. doi: 10.3390/vaccines5040031.
29. **Deza L. 1987.** Hipolito Unanue y la Neurocisticercosis. Revista de Neuro-Psiquiatria 50: 77-82.
30. **Ding J, Zheng Y, Wang Y, Dou Y, Chen X, Zhu X, Wang S, Zhang S, Liu Z, Hou J, Zhai J, Yan H, Luo X, Cai X. 2013.** Immune responses to a recombinant attenuated *Salmonella typhimurium* strain expressing a *Taenia solium* oncosphere antigen TSOL18. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 36: 17-23. doi: 10.1016/j.cimid.2012.09.006.

31. **Duan Z, Xu H, Ji X, Zhao J. 2015.** Recombinant Newcastle disease virus-vectored vaccines against human and animal infectious diseases. *Future Microbiol* 10: 1307-1323. doi: 10.2217/FMB.15.59.
32. **Dzharullaeva AS, Tukhvatulin AI, Erokhova AS, Bandelyuk AS, Polyakov NB, Solovyev AI, Nikitenko NA, Shcheblyakov DV, Naroditsky BS, Logunov DY, Gintsburg AL. 2018.** Stimulation of Dectin-1 and Dectin-2 during Parenteral Immunization, but Not Mincle, Induces Secretory IgA in Intestinal Mucosa. *J Immunol Res* 2018: 3835720. doi: 10.1155/2018/3835720.
33. **Eom KS, Rim HJ. 1993.** Morphologic descriptions of *Taenia asiatica* sp. . *Korean J Parasitol* 31: 1-6.
34. **Fan PC. 1988.** Taiwan: taenia and taeniasis. *Parasitol Today* 4: 86-88.
35. **Fan PC, Chung WC, Lin CY, Wu CC. 2003.** Vaccination trials against *Taenia solium* eggs in pigs injected with frozen oncospheres of *T. solium* or *Taenia saginata asiatica*. *J Microbiol Immunol Infect* 36: 96-100.
36. **Flecker RH, Pray IW, Santivanez SJ, Ayvar V, Gamboa R, Muro C, Moyano LM, Benavides V, Garcia HH, O'neal SE. 2017.** Assessing Ultrasonography as a Diagnostic Tool for Porcine Cysticercosis. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005282. doi: 10.1371/journal.pntd.0005282.
37. **Fleury A, Cardenas G, Adalid-Peralta L, Fragoso G, Sciutto E. 2016.** Immunopathology in *Taenia solium* neurocysticercosis. *Parasite Immunol* 38: 147-157. doi: 10.1111/pim.12299.
38. **Fleury A, Carrillo-Mezo R, Flisser A, Sciutto E, Corona T. 2011.** Subarachnoid basal neurocysticercosis: a focus on the most severe form of the disease. *Expert Rev Anti Infect Ther* 9: 123-133. doi: 10.1586/eri.10.150.
39. **Fleury A, Dessein A, Preux PM, Dumas M, Tapia G, Larralde C, Sciutto E. 2004.** Symptomatic human neurocysticercosis--age, sex and exposure factors relating with disease heterogeneity. *J Neurol* 251: 830-837. doi: 10.1007/s00415-004-0437-9.
40. **Flisser A, Gauci CG, Zoli A, Martinez-Ocana J, Garza-Rodriguez A, Dominguez-Alpizar JL, Maravilla P, Rodriguez-Canul R, Avila G, Aguilar-Vega L, Kyngdon C, Geerts S, Lightowers MW. 2004.** Induction of protection against porcine cysticercosis by vaccination with recombinant oncosphere antigens. *Infect Immun* 72: 5292-5297. doi: 10.1128/IAI.72.9.5292-5297.2004.
41. **Gabriel S, Dorny P, Mwape KE, Trevisan C, Braae UC, Magnussen P, Thys S, Bulaya C, Phiri IK, Sikasunge CS, Makungu C, Afonso S, Nicolau Q, Johansen MV. 2017.** Control of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis: The best way forward for sub-Saharan Africa? *Acta Trop* 165: 252-260. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.04.010.

42. **Garcia HH, Gonzalez AE, Del Brutto OH, Tsang VC, Llanos-Zavalaga F, Gonzalez G, Romero J, Gilman RH, Peru CWGI. 2007.** Strategies for the elimination of taeniasis/cysticercosis. *J Neurol Sci* 262: 153-157. doi: 10.1016/j.jns.2007.06.039.
43. **Garcia HH, Gonzalez AE, Tsang VC, O'neal SE, Llanos-Zavalaga F, Gonzalez G, Romero J, Rodriguez S, Moyano LM, Ayvar V, Diaz A, Hightower A, Craig PS, Lightowlers MW, Gauci CG, Leontsini E, Gilman RH, Peru CWGI. 2016a.** Elimination of *Taenia solium* Transmission in Northern Peru. *N Engl J Med* 374: 2335-2344. doi: 10.1056/NEJMoa1515520.
44. **Garcia HH, Nash TE, Del Brutto OH. 2014.** Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. *Lancet Neurol* 13: 1202-1215. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70094-8.
45. **Garcia HH, O'neal SE, Gilman RH, Peru CWGI. 2016b.** Elimination of *Taenia solium* Transmission in Peru. *N Engl J Med* 375: 1196-1197. doi: 10.1056/NEJMc1609161.
46. **Gauci, Flisser A, Lightowlers MW. 1998.** A *Taenia solium* oncosphere protein homologous to host-protective *Taenia ovis* and *Taenia saginata* 18 kDa antigens. *Int J Parasitol* 28: 757-760.
47. **Gauci, Jenkins D, Lightowlers MW. 2011.** Strategies for optimal expression of vaccine antigens from *Taeniid* cestode parasites in *Escherichia coli*. *Mol Biotechnol* 48: 277-289. doi: 10.1007/s12033-010-9368-0.
48. **Gauci, Verastegui MR, Gilman RH, Lightowlers MW. 2006.** *Taenia solium* and *Taenia ovis*: stage-specific expression of the vaccine antigen genes, TSOL18, TSOL16, and homologues, in oncospheres. *Exp Parasitol* 113: 272-275. doi: 10.1016/j.exppara.2006.01.006.
49. **Gauci C, Jayashi C, Lightowlers MW. 2013.** Vaccine development against the *Taenia solium* parasite: the role of recombinant protein expression in *Escherichia coli*. *Bioengineered* 4: 343-347. doi: 10.4161/bioe.23003.
50. **Gonçalves M, Araújo A, Ferreira L. 2003.** Human Intestinal Parasites in the Past : New Findings and Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 103-118.
51. **Gonzales. 2008.** Evidencia de escarabajos coprofagos como vectores mecanicos de huevos de *Taenia solium*. Tesis de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 91.
52. **Gonzales, Garcia HH, Gilman RH, Gavidia CM, Tsang VC, Bernal T, Falcon N, Romero M, Lopez-Urbina MT. 1996.** Effective, single-dose treatment of porcine cysticercosis with oxfendazole. *Am J Trop Med Hyg* 54: 391-394.
53. **Gonzales, Rivera JT, Garcia HH, Peru CWGI. 2016.** Pathogenesis of *Taenia solium*: taeniasis and cysticercosis. *Parasite Immunol* 38: 136-146. doi: 10.1111/pim.12307.

54. **Gonzalez AE, Bustos JA, Jimenez JA, Rodriguez ML, Ramirez MG, Gilman RH, Garcia HH, Peru CWGI. 2012.** Efficacy of diverse antiparasitic treatments for cysticercosis in the pig model. *Am J Trop Med Hyg* 87: 292-296. doi: 10.4269/ajtmh.2012.11-0371.
55. **Grimm KA, Lamont LA, Tranquili WJ, Greene SA, Robertson SA. 2017.** *Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones*. Ed. 1062 pags. doi: 10.1002/9781119421375.
56. **Gripper LB, Welburn SC. 2017.** Neurocysticercosis infection and disease-A review. *Acta Trop* 166: 218-224. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.11.015.
57. **Grove DI. 1990.** *A History of Human Helminthology*. Oxford Univ Pr: C.A.B. International. Ed. 856 p.
58. **Guo YJ, Sun SH, Zhang Y, Chen ZH, Wang KY, Huang L, Zhang S, Zhang HY, Wang QM, Wu D, Zhu WJ. 2004.** Protection of pigs against *Taenia solium* cysticercosis using recombinant antigen or in combination with DNA vaccine. *Vaccine* 22: 3841-3847. doi: 10.1016/j.vaccine.2004.07.012.
59. **Halire AD. 2015.** La transmisión y persistencia de anticuerpos maternos específicos contra la larva de la *Taenia solium* en crías provenientes de cerdas inmunizadas con la vacuna Tsol18. Tesis de Medico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 76 p.
60. **Harrison GB, Heath DD, Dempster RP, Lawrence SB, Lightowlers MW, Rickard MD. 1993.** Identification of host-protective antigens of *Taenia ovis* oncospheres. *Int J Parasitol* 23: 41-50.
61. **Hoberg EP. 2006.** Phylogeny of *Taenia*: Species definitions and origins of human parasites. *Parasitol Int* 55 Suppl: S23-30. doi: 10.1016/j.parint.2005.11.049.
62. **Hoberg EP, Alkire NL, De Queiroz A, Jones A. 2001.** Out of Africa: origins of the *Taenia* tapeworms in humans. *Proc Biol Sci* 268: 781-787. doi: 10.1098/rspb.2000.1579.
63. **Huang Z, Elankumaran S, Panda A, Samal SK. 2003.** Recombinant Newcastle disease virus as a vaccine vector. *Poult Sci* 82: 899-906.
64. **Huerta M, De Aluja AS, Fragoso G, Toledo A, Villalobos N, Hernandez M, Gevorkian G, Acero G, Diaz A, Alvarez I, Avila R, Beltran C, Garcia G, Martinez JJ, Larralde C, Scitutto E. 2001.** Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in a controlled field trial in rural Mexico. *Vaccine* 20: 262-266.
65. **Huisa BN, Menacho LA, Rodriguez S, Bustos JA, Gilman RH, Tsang VC, Gonzalez AE, Garcia HH, Peru CWGI. 2005.** Taeniasis and cysticercosis in housemaids working in affluent neighborhoods in Lima, Peru. *Am J Trop Med Hyg* 73: 496-500.

66. **Iles JD. 1980.** Autopsy of an Egyptian mummy (Nakht--ROM I). *Can Med Assoc J* 122: 512-513.
67. **Inouye S. 1976.** Micro-modification of kaolin treatment of serum for the rubella haemagglutination-inhibition test. *J Med Microbiol* 9: 501-502. doi: 10.1099/00222615-9-4-501.
68. **Ito A. 1997.** Basic and applied immunology in cestode infections: from *Hymenolepis* to *Taenia* and *Echinococcus*. *Int J Parasitol* 27: 1203-1211.
69. **Ito A, Yamasaki H, Nakao M, Sako Y, Okamoto M, Sato MO, Nakaya K, Margono SS, Ikejima T, Kassuku AA, Afonso SM, Ortiz WB, Plancarte A, Zoli A, Geerts S, Craig PS. 2003.** Multiple genotypes of *Taenia solium*: Ramifications for diagnosis, treatment and control. *Acta Trop* 87: 95-101.
70. **Ito A, Yanagida T, Nakao M. 2016.** Recent advances and perspectives in molecular epidemiology of *Taenia solium* cysticercosis. *Infect Genet Evol* 40: 357-367. doi: 10.1016/j.meegid.2015.06.022.
71. **Jayashi CM, Gonzalez AE, Castillo Neyra R, Kyngdon CT, Gauci CG, Lightowers MW. 2012.** Characterisation of antibody responses in pigs induced by recombinant oncosphere antigens from *Taenia solium*. *Vaccine* 30: 7475-7480. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.10.057.
72. **Jeri C, Gilman RH, Lescano AG, Mayta H, Ramirez ME, Gonzalez AE, Nazerali R, Garcia HH. 2004.** Species identification after treatment for human taeniasis. *Lancet* 363: 949-950. doi: 10.1016/S0140-6736(04)15791-7.
73. **Kumar A, Mandal A, Sinha S, Singh A, Das RR. 2017.** Prevalence, Response to Cysticidal Therapy, and Risk Factors for Persistent Seizure in Indian Children with Neurocysticercosis. *Int J Pediatr* 2017: 8983958. doi: 10.1155/2017/8983958.
74. **Kungu JM, Dione MM, Ejobi F, Harrison LJ, Poole EJ, Pezo D, Grace D. 2017a.** Seroprevalence of *Taenia spp.* cysticercosis in rural and urban smallholder pig production settings in Uganda. *Acta Trop* 165: 110-115. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.01.016.
75. **Kungu JM, Dione MM, Ejobi F, Ocaido M, Grace D. 2017b.** Risk factors, perceptions and practices associated with *Taenia solium* cysticercosis and its control in the smallholder pig production systems in Uganda: a cross-sectional survey. *BMC Infect Dis* 17: 1. doi: 10.1186/s12879-016-2122-x.
76. **Kyngdon CT, Gauci CG, Gonzalez AE, Flisser A, Zoli A, Read AJ, Martinez-Ocana J, Strugnell RA, Lightowers MW. 2006.** Antibody responses and epitope specificities to the *Taenia solium* cysticercosis vaccines TSOL18 and TSOL45-1A. *Parasite Immunol* 28: 191-199. doi: 10.1111/j.1365-3024.2006.00820.x.

77. **Lawson JR, Gemmell MA. 1983.** Hydatidiosis and cysticercosis: the dynamics of transmission. *Adv Parasitol* 22: 261-308. doi: [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60464-9](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60464-9).
78. **Li T, Ito A, Chen X, Long C, Okamoto M, Raoul F, Giraudoux P, Yanagida T, Nakao M, Sako Y, Xiao N, Craig PS. 2012.** Usefulness of pumpkin seeds combined with areca nut extract in community-based treatment of human taeniasis in northwest Sichuan Province, China. *Acta Trop* 124: 152-157. doi: 10.1016/j.actatropica.2012.08.002.
79. **Lightowers MW. 1990.** Cestode infections in animals: immunological diagnosis and vaccination. *Rev Sci Tech* 9: 463-487.
80. **Lightowers MW. 2006a.** Cestode vaccines: origins, current status and future prospects. *Parasitology* 133 Suppl: S27-42. doi: 10.1017/S003118200600179X.
81. **Lightowers MW. 2006b.** Vaccines against cysticercosis and hydatidosis: foundations in taeniid cestode immunology. *Parasitol Int* 55 Suppl: S39-43. doi: 10.1016/j.parint.2005.11.005.
82. **Lightowers MW, Colebrook AL, Gauci CG, Gauci SM, Kyngdon CT, Monkhouse JL, Vallejo Rodriguez C, Read AJ, Rolfe RA, Sato C. 2003.** Vaccination against cestode parasites: anti-helminth vaccines that work and why. *Vet Parasitol* 115: 83-123.
83. **Lightowers MW, Donadeu M. 2017.** Designing a Minimal Intervention Strategy to Control *Taenia solium*. *Trends Parasitol* 33: 426-434. doi: 10.1016/j.pt.2017.01.011.
84. **Lightowers MW, Donadeu M, Elaiyaraja M, Maithal K, Kumar KA, Gauci CG, Firestone SM, Sarasola P, Rowan TG. 2016a.** Anamnestic responses in pigs to the *Taenia solium* TSOL18 vaccine and implications for control strategies. *Parasitology* 143: 416-420. doi: 10.1017/S0031182016000202.
85. **Lightowers MW, Garcia HH, Gauci CG, Donadeu M, Abela-Ridder B. 2016b.** Monitoring the outcomes of interventions against *Taenia solium*: options and suggestions. *Parasite Immunol* 38: 158-169. doi: 10.1111/pim.12291.
86. **Loos-Frank B. 2000.** An up-date of Verster's (1969) 'Taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus' (Cestoda) in table format. *Syst Parasitol* 45: 155-183.
87. **Madigubba S, Vishwanath K, Reddy G, Vemuganti GK. 2007.** Changing trends in ocular cysticercosis over two decades: an analysis of 118 surgically excised cysts. *Indian J Med Microbiol* 25: 214-219.
88. **Madinga J, Polman K, Kanobana K, Van Lieshout L, Brienens E, Praet N, Kabwe C, Gabriel S, Dorny P, Lutumba P, Speybroeck N. 2017.** Epidemiology of polyparasitism with *Taenia solium*, schistosomes and soil-transmitted helminths in the co-endemic village of Malanga, Democratic Republic of Congo. *Acta Trop* 171: 186-193. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.03.019.

89. **Maguire J. 2016.** Epileptogenesis: More Than Just the Latent Period. *Epilepsy Curr* 16: 31-33. doi: 10.5698/1535-7597-16.1.31.
90. **Maizels RM, Mcsorley HJ. 2016.** Regulation of the host immune system by helminth parasites. *J Allergy Clin Immunol* 138: 666-675. doi: 10.1016/j.jaci.2016.07.007.
91. **Malik S, Singh G, Kaur G. 2017.** Temporalis cysticerci - A diagnostic dilemma and review of literature. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* doi: 10.1016/j.jormas.2017.06.016.
92. **Manoutcharian K, Rosas G, Hernandez M, Fragoso G, Aluja A, Villalobos N, Rodarte LF, Sciutto E. 1996.** Cysticercosis: identification and cloning of protective recombinant antigens. *J Parasitol* 82: 250-254.
93. **Marcin Sierra M, Arroyo M, Cadena Torres M, Ramirez Cruz N, Garcia Hernandez F, Taboada D, Galicia Martinez A, Govezensky T, Sciutto E, Toledo A, Fleury A. 2017.** Extraparenchymal neurocysticercosis: Demographic, clinicoradiological, and inflammatory features. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005646. doi: 10.1371/journal.pntd.0005646.
94. **Marquardt WW, Snyder DB, Savage PK, Kadavil SK, Yancey FS. 1985.** Antibody response to Newcastle disease virus given by two different routes as measured by ELISA and hemagglutination-inhibition test and associated tracheal immunity. *Avian Dis* 29: 71-79.
95. **Martinez-Ocana J, Romero-Valdovinos M, De Kaminsky RG, Maravilla P, Flisser A. 2011.** Immunolocalization of TSOL18 and TSOL45-1A, the successful protective peptides against porcine cysticercosis, in *Taenia solium* oncospheres. *Parasit Vectors* 4: 3. doi: 10.1186/1756-3305-4-3.
96. **Mendlovic F, Garza-Rodriguez A, Carrillo-Farga J, Gonzalez-Dominguez F, Maravilla P, Flisser A. 2014.** From stillness to motion: 80 years after the first description of *Taenia solium* oncosphere hatching. *Parasit Vectors* 7: 12. doi: 10.1186/1756-3305-7-12.
97. **Mitchell GF, Anders RF, Chapman CB, Roberts-Thomson IC, Handman E, Cruise KM, Rickard MD, Lightowers MW, Garcia EG. 1984.** Examination of strategies for vaccination against parasitic infection or disease using mouse models. *Contemp Top Immunobiol* 12: 323-358.
98. **Molinari JL, Tato P, Lara-Aguilera R, White AC, Jr. 1993.** Effects of serum from neurocysticercosis patients on the structure and viability of *Taenia solium* oncospheres. *J Parasitol* 79: 124-127.
99. **Monreal-Escalante E, Govea-Alonso DO, Hernandez M, Cervantes J, Salazar-Gonzalez JA, Romero-Maldonado A, Rosas G, Garate T, Fragoso G, Sciutto E, Rosales-Mendoza S. 2016.** Towards the development of an oral vaccine against porcine

cysticercosis: expression of the protective HP6/TSOL18 antigen in transgenic carrots cells. *Planta* 243: 675-685. doi: 10.1007/s00425-015-2431-0.

100. **Moreno L, Lopez-Urbina MT, Farias C, Domingue G, Donadeu M, Dungu B, Garcia HH, Gomez-Puerta LA, Lanusse C, Gonzalez AE. 2012.** A high oxfendazole dose to control porcine cysticercosis: pharmacokinetics and tissue residue profiles. *Food Chem Toxicol* 50: 3819-3825. doi: 10.1016/j.fct.2012.07.023.
101. **Morris JB, Shusterman DJ. 2010.** Toxicology of the Nose and Upper Airways. informa healthcare. Ed. 450 pags.
102. **Moyano LM, O'neal SE, Ayvar V, Gonzalez G, Gamboa R, Vilchez P, Rodriguez S, Reistetter J, Tsang VC, Gilman RH, Gonzalez AE, Garcia HH, Peru CWGI. 2016.** High Prevalence of Asymptomatic Neurocysticercosis in an Endemic Rural Community in Peru. *PLoS Negl Trop Dis* 10: e0005130. doi: 10.1371/journal.pntd.0005130.
103. **Moyano LM, Saito M, Montano SM, Gonzalez G, Olaya S, Ayvar V, Gonzalez I, Larrauri L, Tsang VC, Llanos F, Rodriguez S, Gonzalez AE, Gilman RH, Garcia HH, Peru CWGI. 2014.** Neurocysticercosis as a cause of epilepsy and seizures in two community-based studies in a cysticercosis-endemic region in Peru. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e2692. doi: 10.1371/journal.pntd.0002692.
104. **Mullins C, Muniz JA, Sandoval H, Padilla O, Ramos-Duran L. 2017.** Neurocysticercosis of the fourth ventricle associated with hydrocephalus. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 30: 365-367.
105. **Nakao M, Okamoto M, Sako Y, Yamasaki H, Nakaya K, Ito A. 2002.** A phylogenetic hypothesis for the distribution of two genotypes of the pig tapeworm *Taenia solium* worldwide. *Parasitology* 124: 657-662.
106. **Nascimento IP, Leite LC. 2012.** Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Braz J Med Biol Res* 45: 1102-1111.
107. **Nash TE, Bustos JA, Garcia HH, Peru CWGI. 2017a.** Disease Centered Around Calcified *Taenia solium* Granuloma. *Trends Parasitol* 33: 65-73. doi: 10.1016/j.pt.2016.09.003.
108. **Nash TE, Del Brutto OH, Butman JA, Corona T, Delgado-Escueta A, Duron RM, Evans CA, Gilman RH, Gonzalez AE, Loeb JA, Medina MT, Pietsch-Escueta S, Pretell EJ, Takayanagui OM, Theodore W, Tsang VC, Garcia HH. 2004.** Calcific neurocysticercosis and epileptogenesis. *Neurology* 62: 1934-1938.
109. **Nash TE, Garcia HH. 2011.** Diagnosis and treatment of neurocysticercosis. *Nat Rev Neurol* 7: 584-594. doi: 10.1038/nrneurol.2011.135.
110. **Nash TE, Mahanty S, Loeb JA, Theodore WH, Friedman A, Sander JW, Singh G, Cavalheiro E, Del Brutto OH, Takayanagui OM, Fleury A, Verastegui M, Preux PM,**

- Montano S, Pretell EJ, White AC, Jr., Gonzales AE, Gilman RH, Garcia HH. 2015.* Neurocysticercosis: A natural human model of epileptogenesis. *Epilepsia* 56: 177-183. doi: 10.1111/epi.12849.
- 111.** *Nash TE, Ware JM, Mahanty S. 2017b.* Natural History of Patients With Perilesional Edema Around *Taenia solium* Calcified Granulomas. *J Infect Dis* 215: 1141-1147. doi: 10.1093/infdis/jix027.
- 112.** *Okello AL, Thomas L, Inthavong P, Ash A, Khamlome B, Keokamphet C, Newberry K, Gauci CG, Gabriel S, Dorny P, Thompson RA, Lightowers MW, Allen J. 2017.* Reprint of "Assessing the impact of a joint human-porcine intervention package for *Taenia solium* control: Results of a pilot study from northern Lao PDR". *Acta Trop* 165: 261-267. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.11.010.
- 113.** *Orr HA, Masly JP, Presgraves DC. 2004.* Speciation genes. *Curr Opin Genet Dev* 14: 675-679. doi: 10.1016/j.gde.2004.08.009.
- 114.** *Ostoa-Saloma P, Esquivel-Velazquez M, Larralde C. 2013.* Immunological variation in *Taenia solium* porcine cysticercosis: measurement on the variation of the antibody immune response of naturally infected pigs against antigens extracted from their own cysticerci and from those of different pigs. *Vet Parasitol* 197: 130-140. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.07.010.
- 115.** *Patamia I, Nicotra P, Amodeo D, Giuliano L, Cicero CE, Nicoletti A. 2017.* Geohelminthiasis among migrants in Sicily: a possible focus for re-emerging neurocysticercosis in Europe. *Neurol Sci* 38: 1105-1107. doi: 10.1007/s10072-017-2899-4.
- 116.** *Pathak KM, Gaur SN. 1990.* Immunization of pigs with culture antigens of *Taenia solium*. *Vet Parasitol* 34: 353-356.
- 117.** *Pawlowski ZS. 2002.* *Taenia solium*: Basic Biology and Transmission. S G., P S., *Taenia solium cysticercosis: from basic to clinical science*. CABI Publishing, 457 doi: 10.1079/9780851996288.0000.
- 118.** *Pondja A, Neves L, Mlangwa J, Afonso S, Fafetine J, Willingham AL, 3rd, Thamsborg SM, Johansen MV. 2012.* Use of oxfendazole to control porcine cysticercosis in a high-endemic area of Mozambique. *PLoS Negl Trop Dis* 6: e1651. doi: 10.1371/journal.pntd.0001651.
- 119.** *Porphyre V, Betson M, Rabazanahary H, Mboussou Y, Zafindraibe NJ, Rasamoelina-Andriamanivo H, Costard S, Pfeiffer DU, Michault A. 2016.* *Taenia solium* porcine cysticercosis in Madagascar: Comparison of immuno-diagnostic techniques and estimation of the prevalence in pork carcasses traded in Antananarivo city. *Vet Parasitol* 219: 77-83. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.08.027.

120. **Pray IW, Ayvar V, Gamboa R, Muro C, Moyano LM, Benavides V, Flecker RH, Garcia HH, O'neal SE. 2017.** Spatial relationship between *Taenia solium* tapeworm carriers and necropsy cyst burden in pigs. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005536. doi: 10.1371/journal.pntd.0005536.
121. **Quiroz H. 2005.** Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Ed. 877 p.
122. **Rahman A, Choudhary MI, Wang J, Reitz AB. 2015.** *Frontiers in Medicinal Chemistry*. Ed. 422. doi: 10.2174/97816080597061150701.
123. **Rajkotia Y, Lescano AG, Gilman RH, Cornejo C, Garcia HH, Peru CWGI. 2007.** Economic burden of neurocysticercosis: results from Peru. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 101: 840-846. doi: 10.1016/j.trstmh.2007.03.008.
124. **Ramirez-Bermudez J, Higuera-Calleja J, Espinola-Nadurille M, Corona T. 2017.** Neuropsychiatric disorders in patients with neurocysticercosis. *Asia Pac Psychiatry* 9. doi: 10.1111/appy.12250.
125. **Rao KS, Adhikari S, Gauchan E, Sathian B, B KG, Basnet S, Tiwari PK, Bahadur N, Mishra R. 2017.** Time trend of neurocysticercosis in children with seizures in a tertiary hospital of western Nepal. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005605. doi: 10.1371/journal.pntd.0005605.
126. **Rath S, Honavar SG, Naik M, Anand R, Agarwal B, Krishnaiah S, Sekhar GC. 2010.** Orbital cysticercosis: clinical manifestations, diagnosis, management, and outcome. *Ophthalmology* 117: 600-605, 605 e601. doi: 10.1016/j.ophtha.2009.07.030.
127. **Rodriguez-Contreras D, Skelly PJ, Landa A, Shoemaker CB, Laclette JP. 1998.** Molecular and functional characterization and tissue localization of 2 glucose transporter homologues (TGTP1 and TGTP2) from the tapeworm *Taenia solium*. *Parasitology* 117 (Pt 6): 579-588.
128. **Rosales-Mendoza S, Monreal-Escalante E, Gonzalez-Ortega O, Hernandez M, Fragoso G, Garate T, Sciutto E. 2018.** Transplastomic plants yield a multicomponent vaccine against cysticercosis. *J Biotechnol* 266: 124-132. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.12.012.
129. **Saavedra H, Gonzales I, Alvarado MA, Porras MA, V. V, Cjuno RA, Garcia HH, Martínez SM. 2010.** Diagnóstico y Manejo de la Neurocisticercosis en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 27: 586-591.
130. **Sah K, Poudel I, Subedi S, Singh DK, Cocker J, Kushwaha P, Colston A, Donadeu M, Lightowers MW. 2017.** A hyperendemic focus of *Taenia solium* transmission in the Banke District of Nepal. *Acta Trop* 176: 78-82. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.07.022.

131. **Saini AG, Vyas S, Singhi P. 2017.** Racemose neurocysticercosis. *J Infect Public Health*. doi: 10.1016/j.jiph.2016.11.019.
132. **Sarti E, Rajshekhar V. 2003.** Measures for the prevention and control of *Taenia solium* taeniosis and cysticercosis. *Acta Trop* 87: 137-143.
133. **Sciutto E, Fragoso G, Fleury A, Lactette JP, Sotelo J, Aluja A, Vargas L, Larralde C. 2000.** *Taenia solium* disease in humans and pigs: an ancient parasitosis disease rooted in developing countries and emerging as a major health problem of global dimensions. *Microbes Infect* 2: 1875-1890.
134. **Schantz PM, Moore AC, Munoz JL, Hartman BJ, Schaefer JA, Aron AM, Persaud D, Sarti E, Wilson M, Flisser A. 1992.** Neurocysticercosis in an Orthodox Jewish community in New York City. *N Engl J Med* 327: 692-695. doi: 10.1056/NEJM199209033271004.
135. **Shah A, Vutha R, Sankhe S, Goel A. 2017.** Transventricular Migration of Neurocysticercosis. *World Neurosurg*. doi: 10.1016/j.wneu.2017.07.003.
136. **Sikasunge CS, Johansen MV, Phiri IK, Willingham AL, 3rd, Leifsson PS. 2009.** The immune response in *Taenia solium* neurocysticercosis in pigs is associated with astrogliosis, axonal degeneration and altered blood-brain barrier permeability. *Vet Parasitol* 160: 242-250. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.11.015.
137. **Sikasunge CS, Johansen MV, Willingham AL, 3rd, Leifsson PS, Phiri IK. 2008.** *Taenia solium* porcine cysticercosis: viability of cysticerci and persistency of antibodies and cysticercal antigens after treatment with oxfendazole. *Vet Parasitol* 158: 57-66. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.08.014.
138. **Sikasunge CS, Phiri IK, Willingham AL, 3rd, Johansen MV. 2010.** Dynamics and longevity of maternally-acquired antibodies to *Taenia solium* in piglets born to naturally infected sows. *Vet J* 184: 318-321. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.03.026.
139. **Singh G, Burneo JG, Sander JW. 2013.** From seizures to epilepsy and its substrates: neurocysticercosis. *Epilepsia* 54: 783-792. doi: 10.1111/epi.12159.
140. **Singh G, Sharma R. 2017.** Controversies in the treatment of seizures associated with neurocysticercosis. *Epilepsy Behav*. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.05.033.
141. **Somers R, Dorny P, Nguyen VK, Dang TC, Goddeeris B, Craig PS, Vercruyse J. 2006.** *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in three communities in north Vietnam. *Trop Med Int Health* 11: 65-72. doi: 10.1111/j.1365-3156.2005.01537.x.
142. **Soulsby EJJ. 1987.** *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. Ed. 406 p.
143. **Tapia NA. 1984.** Diagnostico Situacional de la Influenza Porcina en el Perú. Bachiller. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 80.

144. **Tellez-Zenteno JF, Hernandez-Ronquillo L. 2017.** Epidemiology of neurocysticercosis and epilepsy, is everything described? *Epilepsy Behav.* doi: 10.1016/j.yebeh.2017.01.030.
145. **Thomas LF, De Glanville WA, Cook EA, Bronsvort BM, Handel I, Wamae CN, Kariuki S, Fevre EM. 2017.** Modelling the risk of *Taenia solium* exposure from pork produced in western Kenya. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005371. doi: 10.1371/journal.pntd.0005371.
146. **Tizard IR. 2009.** Introduccion a ala Inmunología Veterinaria. España. Ed. 592 p.
147. **Todman D. 2008.** Epilepsy in the Graeco-Roman World: Hippocratic Medicine and Asklepian Temple Medicine Compared. *History of the Neurosciences: Basic and Clinical Perspectives* 17: 435-441. doi: 10.1080/09647040701426088.
148. **Trevisan C, Devleesschauwer B, Schmidt V, Winkler AS, Harrison W, Johansen MV. 2017a.** The societal cost of *Taenia solium* cysticercosis in Tanzania. *Acta Trop* 165: 141-154. doi: 10.1016/j.actatropica.2015.12.021.
149. **Trevisan C, Fevre EM, Owiny M, Ngere I, Vang Johansen M. 2017b.** Minyoo Matata - The Vicious Worm - A *Taenia solium* Computer-Based Health-Education Tool - in Swahili. *Trends Parasitol.* doi: 10.1016/j.pt.2017.05.012.
150. **Trevisan C, Johansen MV, Mkupasi EM, Ngowi HA, Forkman B. 2017c.** Disease behaviours of sows naturally infected with *Taenia solium* in Tanzania. *Vet Parasitol* 235: 69-74. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.01.008.
151. **Tuero I, Palma S, Cabeza F, Saleemi S, Rodriguez S, Gonzales I, Mayta H, Mahanty S, Garcia HH, Gilman RH, Peru CWGI. 2015.** A Comparative Study of Peripheral Immune Responses to *Taenia solium* in Individuals with Parenchymal and Subarachnoid Neurocysticercosis. *PLoS Negl Trop Dis* 9: e0004143. doi: 10.1371/journal.pntd.0004143.
152. **Vargas-Calla. A. 2014.** Efecto del Triclabendazol dosis unica contra la larva de *Taenia solium*(*Cysticercus cellulosae*) en cerdos infectados naturalmente. Tesis de Medico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 82p.
153. **Verster A. 1967.** Redescription of *Taenia solium* Linnaeus, 1758 and *Taenia saginata* Goeze, 1782. *Z Parasitenkd* 29: 313-328.
154. **Wandra T, Swastika K, Dharmawan NS, Purba IE, Sudarmaja IM, Yoshida T, Sako Y, Okamoto M, Eka Diarthini NL, Sri Laksemi DA, Yanagida T, Nakao M, Ito A. 2015.** The present situation and towards the prevention and control of neurocysticercosis on the tropical island, Bali, Indonesia. *Parasit Vectors* 8: 148. doi: 10.1186/s13071-015-0755-z.
155. **Wang, Chang XL, Tao ZY, Wang XL, Jiao YM, Chen Y, Qi WJ, Xia H, Yang XD, Sun X, Shen JL, Fang Q. 2015.** Optimized codon usage enhances the expression and

- immunogenicity of DNA vaccine encoding *Taenia solium* oncosphere TSOL18 gene. *Mol Med Rep* 12: 281-288. doi: 10.3892/mmr.2015.3387.
156. **Wang, Sun SH, Hu ZL, Wu D, Wang ZC. 2003.** Immune response and protection elicited by DNA immunisation against *Taenia* cysticercosis. *Vaccine* 21: 1672-1680.
157. **Who. 2013.** Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected diseases. Crompton, D.W.: World Health Organization. Ed. 153.
158. **Who. 2016.** *Taenia solium*: WHO endemicity map update. *WHO/Department of control of neglected tropical diseases* 91: 26 (585-600).
159. **Winskill P, Harrison WE, French MD, Dixon MA, Abela-Ridder B, Basanez MG. 2017.** Assessing the impact of intervention strategies against *Taenia solium* cysticercosis using the EPICYST transmission model. *Parasit Vectors* 10: 73. doi: 10.1186/s13071-017-1988-9.
160. **Wu HW, Ito A, Ai L, Zhou XN, Acosta LP, Lee Willingham Iii A. 2017.** Cysticercosis/taeniasis endemicity in Southeast Asia: Current status and control measures. *Acta Trop* 165: 121-132. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.01.013.
161. **Yanagida T, Carod JF, Sako Y, Nakao M, Hoberg EP, Ito A. 2014.** Genetics of the pig tapeworm in madagascar reveal a history of human dispersal and colonization. *PLoS One* 9: e109002. doi: 10.1371/journal.pone.0109002.
162. **Yuan H, Jiang J, Jimenez FA, Hoberg EP, Cook JA, Galbreath KE, Li C. 2016.** Target gene enrichment in the cyclophyllidean cestodes, the most diverse group of tapeworms. *Mol Ecol Resour* 16: 1095-1106. doi: 10.1111/1755-0998.12532.
163. **Zammarchi L, Bonati M, Strohmeyer M, Albonico M, Requena-Mendez A, Bisoffi Z, Nicoletti A, Garcia HH, Bartoloni A, Group CPS. 2017.** Screening, diagnosis and management of human cysticercosis and *Taenia solium* taeniasis: technical recommendations by the COHEMI project study group. *Trop Med Int Health* 22: 881-894. doi: 10.1111/tmi.12887.
164. **Zapata CH, Vargas SA, Uribe CS. 2017.** [Racemose neurocysticercosis: Neuroimaging guides the diagnosis]. *Biomedica* 37: 26-32. doi: 10.7705/biomedica.v37i2.2983.
165. **Zhang S, Hu Y, Li Z, Zhao L, Wang Z. 2017.** Lumbar spinal intradural neurocysticercosis: A case report. *Exp Ther Med* 13: 3591-3593. doi: 10.3892/etm.2017.4403.

IX. APENDICE

Apéndice 1. Extracción de Sangre en Cerdos

Protocolo de Extracción de Sangre - Porcinos	
MATERIALES	
<ul style="list-style-type: none">• Tubo BD Vacutainer 5 ml• Holder o soporte BD Vacutainer• Aguja de seguridad Eclipse 21 Gx 1”• Lazo para sujeción• Guantes de látex	
MATERIAL BIOLÓGICO	
<ul style="list-style-type: none">• Sangre de cerdo	Vasos sanguíneos a usar: Vena yugular.
PROCEDIMIENTO	
1. Sujetar al cerdo con ayuda del lazo en el maxilar superior.	
2. El cerdo debe tener el cuello estirado y la cabeza hacia arriba.	
3. Colocar la aguja en el sistema del holder y el tubo estéril dentro del holder. No quitar el capuchón de la parte exterior de la aguja	
4. A continuación, ubicarse delante del animal y agacharse.	
5. Extraer el capuchón de la aguja. Palpar la zona a punzar.	
6. Introducir la aguja en el medio de la fosa yugular, dorso-caudal.	
7. Presionar el tubo para captar el vacío y extraiga la sangre. Es posible mover la aguja sin retirarla del cuello, ojo debe estar en la misma zona, solo de arriba abajo evitando cortar el vaso sanguíneo.	
8. Extraer la aguja y el sistema vacutainer. Sacar el tubo del sistema y rotular de acuerdo al número o código del animal.	

Apéndice 2. Tamaño muestral, resultados de PASS 14 (NCSS).

Intervalos de confianza para contrastes de medidas repetidas de una vía

Resultados numéricos para un intervalo de confianza de contraste de medidas repetidas de una vía

Tipo de CI: Multivariados de dos lados

Contraste: Tendencia lineal $\{-1 \ 0 \ 1\}$

Desviaciones estándar (σ 's): Todos iguales

Correlaciones (ρ 's): con bandas (1)

Distancia	Individuos	Puntos en el tiempo	Desviación Estándar	Correlación	Nivel de confianza	Desviación Estándar Contrastado
D	N	M	σ	ρ	CL	$\sqrt{C'VC}$
0.9501	11	3	1.0	0.20	0.95	1.41
1.7560	5	3	1.0	0.20	0.95	1.41
2.2503	4	3	1.0	0.20	0.95	1.41

Referencias

Rencher, Alvin C. 1998. Multivariate Statistical Inference and Applications. John Wiley. New York, New York.

Maxwell, S.E. and Delaney, H.D. 2003. Designing Experiments and Analyzing Data, Second Edition. Psychology Press. New York.

Definiciones:

D: Distancia desde el valor de contraste al límite(s).

N: Número de individuos. Cada uno de ellos se mide en dos o mas puntos de tiempo.

M: Numero de mediciones obtenidas en cada individuo.

σ : Desviación estándar entre individuos en un punto de tiempo dado. Se asume que es idéntico para todos los puntos en el tiempo.

ρ : Correlación entre las observaciones realizadas en un individuo en el primer y segundo punto de tiempo.

CL: Nivel de confianza.

$\sqrt{C'VC}$: Desviación estándar del valor de contraste.

Resumen:

El diseño de medidas repetidas unidireccionales cuenta con una muestra de 11 sujetos, medidos en 3 puntos en el tiempo, tiene una distancia desde el valor de contraste al límite de 0.95 al usar un nivel de confianza de 0.95 calculado a partir de una distribución t usando una estadística multivariada de dos lados. La desviación estándar entre individuos es de 1. El patrón de la matriz de covarianza se agrupa (1) con una correlación de 0.20 entre la medida del primer y segundo punto de tiempo.

Gráfico de los resultados numéricos, producto de los datos emitidos por el software paSS 14.0

