

VIABILIDAD DEL METACESTODO DE *Taenia solium* EN VIVO Y EN VITRO CON METACESTODOS DEL MISMO CERDO

Fernando Iván Flores-Pérez¹, Martínez M.J.J.² y Aline S. de Aluja³

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias. Campo Experimental de Desarrollo e Investigación Agropecuaria (CEDIA). Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62209, Cuernavaca, Morelos, México (Cuerpo Académico de Producción Animal)

Tel: (777) 3 29 70 46. e-mail: ivanfloreseperez@yahoo.com.mx

²Departamento de Medicina Preventiva. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México D. F.

³Departamento de Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México D.F.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue averiguar si existía una relación directa entre la evaginación *in vivo* e *in vitro* de metacestodos de *Taenia solium* obtenidos de los mismos cerdos. Se encontraron importantes variaciones dentro y entre los procesos evaluados, lo que sugiere que aun hay diferentes variables no identificadas que favorecen la evaginación de los metacestodos

Palabras clave: *evaginacion in vitro, metacestodos de Taenia solium*

ABSTRACT

The objective of the present work was to find the relation between the *in vitro* evagination assay and the inoculation of the

Taenia solium metacetodes in hamsters obtained from pigs. We found important variations in the experimental assays and between them (*in vitro* evagination v.s inoculation in hamsters). The results suggest the presence of no identified elements that could promote the *in vitro* evagination of the metacetodes of *T. solium*.

Key words: *in vitro evagination, Taenia solium metacetodes*

INTRODUCCIÓN

La teniasis-cisticercosis es una enfermedad parasitaria que ha sido documentada en aproximadamente 75 países, pertenecientes a diversos continentes, y se considera un problema de salud pública y animal (Sciutto y col. 2000).

En el caso de las cisticercosis porcina prevalece en comunidades rurales en donde la falta de higiene, el clandestinaje en el sacrificio o la ausencia de rastros e inspección sanitaria existe (Sciutto y col., 2000). Para el control de esta parasitosis diversas estrategias han sido propuestas como la vacunación, mejoramiento de técnicas diagnósticas, irradiación de carne contaminada y otras alternativas como la cocción y congelamiento de la carne. La mayoría de las estrategias experimentales involucradas en el desarrollo metodológico de estas alternativas han requerido de evaluar la viabilidad del metacestodo de *Taenia solium*.

Se ha propuesto la utilización de colorantes que solo se fijan en organismos vivos, el uso de la histología para observar el grado de afectación del parásito, la morfología y movilidad, pruebas de evaginación *in vitro* con diversas variantes y la inoculación de los metacestodos de *T.solium* en distintos animales como: chinchillas *Chinchilla laniguera*, gibbones (*Hylobates lar*), gerbils (*Gerbillus sp*) y hamsteres (*Mesocricetus auratus*). (Maravilla y col.1998). El objetivo del presente estudio fue evaluar el mejor modelo de evaginación del metacestodo

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales. Para el presente estudio se emplearon 84 hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*). Todos los animales tenían una edad de 6 a 12 semanas al inicio de los experimentos, se eligieron sin importar sexo. Los hámsteres fueron mantenidos en el bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Metacestodos de *Taenia solium*. Se obtuvieron de 21 cerdos infectados naturalmente con el metacestodo de *T.solium*, que fueron obtenidos en diversos

mataderos y se sacrificaron de manera humanitaria con un bastón insensibilizador.

De cada cerdo se removieron las espaldillas derechas, de las cuales se disecaron los metacestodos vesiculares, los cuales fueron depositados por cerdo en PBS1x y mantenidos en cajas de petri.

Ensayo de evaginación *in vitro*. Para evaluar la viabilidad de los metacestodos se procedió a evaginarlos en medio RPMI (GIBCO lab), suplementado con 25% de bilis porcina. Los metacestodos fueron incubados a 37°C durante 12 horas, después se cuantificó el total de evaginados utilizando un microscopio estereoscópico. Únicamente se consideraron como evaginados aquellos que presentaban una distensión completa del cuello y un escolex visible.

Inoculación en hámster. De cada cerdo se obtuvieron 20 metacestodos, los cuales fueron inoculados en 5 hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*), que fueron inmunodeprimidos con 4 mg de depomedrol (acetato de metil prednisolona lab. Upjohn, México), administrado por vía intramuscular. Todos los hámsteres fueron inoculados por vía oral.

Estudio post-mortem. Se llevo a cabo el sacrificio humanitario de los hámsteres 21 días post inoculación, empleando CO₂ como agente eutanasico. Por línea media se llevó a cabo una incisión longitudinal para posteriormente disecar el intestino delgado, el cual a su vez fue abierto longitudinalmente para coleccionar los parásitos.

Análisis estadístico. Se llevo a cabo mediante la determinación de frecuencias de evaginación *in vitro* y en los hámsteres para determinar similitudes por cerdo mediante una prueba de correlación, donde solo se tomaron aquellos donde se probaron 40 para evaginar *in vitro* y 20 para evaginar en Hamster, además se

realizo una prueba de correlación entre las frecuencias de evaginación de ambos procedimientos.

RESULTADOS

Evaginación in vitro. De los 21 cerdos evaluados se tomaron 40 cisticercos en 16, mientras que en los otros 5 por su carga parasitaria se tomó un mayor número (cuadro 1), la evaginación tuvo una importante variación, con un promedio del 65.46% y una variación del 17 al 100% (cuadro 1).

Evaginación en hámster. Se inocularon un total de 83 hamsters, 4 por cada cerdo, salvo 1 que solo fue inoculado en 3 hámsteres, dando un total de 415 metacestodos. En los 21 grupos, el porcentaje promedio de evaginación fue del 49.4%, con una variación de 0 al 95% (Cuadro 2). El coeficiente de correlación de Pearson fue de 0.3916 so cual si bien es positivo quedo poco menos que significativo ($P > 0.05$), ya que se observa una cierta tendencia pero con variación pronunciada en el porcentaje de evaginación por cerdo (fig 1).

DISCUSIÓN

Cuando se quieren comparar sistemas *in vitro* e *in vivo* no siempre se pueden obtener resultados similares, por lo que es necesario considerar en ambos casos el mismo origen. La evaginación in vitro, ha sido empleada con un criterio de viabilidad en el que se consideran como evaginados aquellos metacestodos con el cuello completamente distendido (Flores-Pérez y col .2003). A pesar de lo anterior, es necesario considerar que un metacestodo evaginado no necesariamente, podrá convertirse en un adulto.

La variabilidad observada en los porcentajes de evaginación del presente

trabajo del 65% y 50% son similares a otros valores referidos que van desde el 60% a 100%.(González y col.1997), aunque hay que mencionar que la cantidad de cerdos empleada en el presente trabajo sobrepasa la empleada en otros trabajos (Verster y col. 1976, González y col. 1997, Torre 1998,).

Otro punto de relevancia en este trabajo es con respecto a la conservación de los metacestodos, ya que los cerdos fueron adquiridos vivos y posteriormente fueron sacrificados, mientras que en otros estudios los metacestodos son recuperados de decomiso, lo que puede variar su viabilidad, ya que pueden pasar horas e incluso días después de ser sacrificados (Verster y col. 1976, Torre 1998, Monroy-Ostria y col 1993).

Un aspecto importante es que a pesar de tener el mismo origen por cerdo los metacestodos presentan variación entre y dentro de modelos, lo que podría explicarse en el sentido de que los metacestodos que provienen de diferentes tenias poseen una capacidad distinta y heterogénea, situación que si bien se pretendió controlar al obtener los metacestodos por cerdo, dentro de este pudieron haber tenido diferente origen (Vega y col 2003). Hasta la fecha los mecanismos moleculares involucrados en el proceso de evaginación no han sido totalmente descritos, al igual que los mecanismos biológicos propios del parásito para establecerse en su huésped, por lo que diversos estudios serán indispensables para poder explicar de una manera satisfactoria ¿Porque los cisticercos aparentemente viables no siempre son capaces de infectar?

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Tec. Aueliano por su asistencia. Este estudio fue financiado por el PROYECTO PROMEP/ 103.5/04/2862.

Cuadro 1. Porcentaje de evaginación de metacestodos en vivo e in vitro.

cerdo	metacestodos metacestodos	evaginados in vitro	porcentaje	metacestodos	evaginados en hámsters	porcentaje
1	40	13	0,3250	20	14	0,700
2	40	27	0,6750	20	6	0,300
3	40	13	0,3250	20	8	0,400
4	40	10	0,2500	20	13	0,650
5	40	30	0,7500	20	7	0,350
6	40	7	0,1750	20	0	0,000
7	40	9	0,2250	20	5	0,250
8	40	28	0,7000	20	11	0,550
9	40	16	0,4000	20	5	0,250
10	40	10	0,2500	20	5	0,250
11	40	37	0,9250	20	13	0,650
12	40	8	0,2000	20	18	0,900
13	40	1	0,0250	15	4	0,267
14	20	18	0,9000	20	8	0,400
15	150	100	0,6667	20	11	0,550
16	165	165	1,0000	20	11	0,550
17	160	111	0,6938	20	19	0,950
18	80	70	0,8750	20	10	0,500
19	40	40	1,0000	20	16	0,800
20	40	34	0,8500	20	6	0,300
21	70	68	0,9714	20	15	0,750
Total	1245	815	0,6546	415	205	0,494

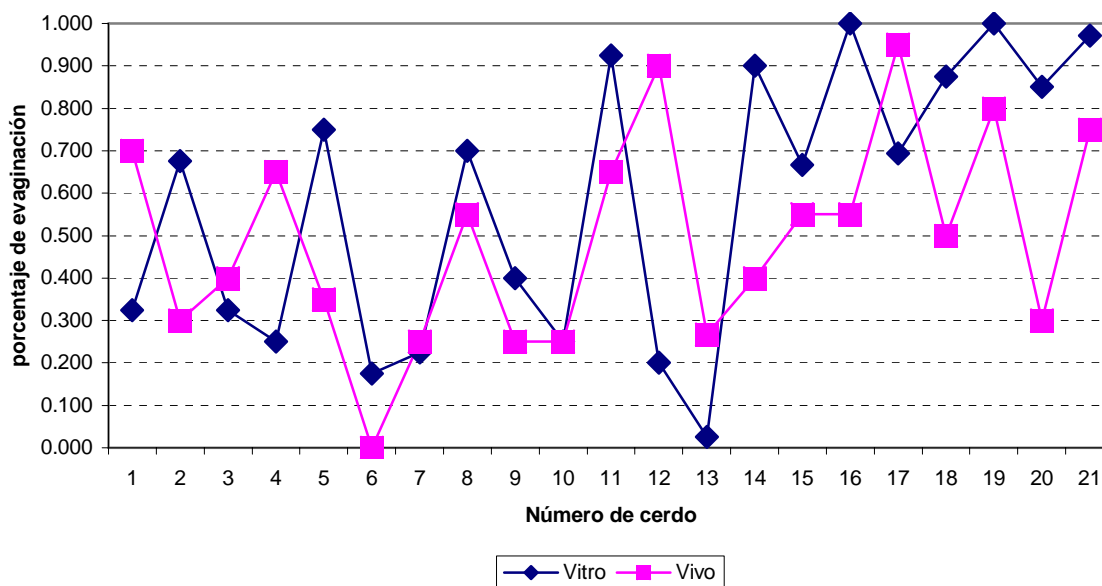


Figura 1. Porcentaje de evaginación de metacestodos de *T. solium*

LITERATURA CITADA

Avila G, Agular L, Benitez s, Yepez-Mulia L, Lavenat I, Flisser A. Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of taenia solium. *Int. J. Parasitol.* 32,1301-1308.

Fan PC, Ma YX, Kuo CH, Chung WC. 1998. Survival of taenia solium cysticerci in Carcasses of pig kept at 4°C. *J Parasitol* .84,174-175.

Gonzales A E, Falcon N., Gavidia C, Garcia HH., Tsang VCW, Bernal T. Romero M., Gilman R.H. 1997. Treatment of porcine cysticercosis with oxfendazole : a dose – response trial. *Vet Rec* 18,420-422.

Kitaoka M, Oku Y, Okamaoto M, Kamiya M. 1990. Development and sexual maturation of taenia crassiceps (cestoda) in the golden hamster. *J. Parasitology.* 76,399-402.

Maravilla, P., Avila, G., Cabrera, V., Agilar, L., Flisser. 1998. A comparative development of Taenia solium in experimental models. *J. Parasitol.* 5,882-886.

Monroy ostriá A, Monroy-Ostriá TJ, Gomez GJ, Hernandez MO. 1993. Some studies on the experimental infection of golden hamsters with Taenia solium. *Rev. Lat-Amer. Microbiol.* 35, 91-98.

Peniche –Cardeña A. Domínguez-Alpizar JL, Sima –Alvarez R, Argáez-Rodríguez F., Fraser A, Craig PS, Rodríguez-Canul R. 2002. Chemotherapy of porcine cysticercosis with albendazole sulphoxide. *Vet. Parasitol.* 108, 63-67.

Rabiela TM. Hornelas Y. Garcia –Allan C, Rodríguez-del-Rosal, Flisser A. 2000. Evagination of taenia solium Cysticerci: A Histologic and electron microscopy study. *Arch. Med Res.* 31,605-607.

Rivera-Guerrero M I, Sánchez-Rueda L, Rodríguez-Bataz E, Martínez – Villalobos N, Martínez-Maya JJ. *Salud publica de México.*

Sciutto E, Fragoso G, Fleury A, Lacleite JP, Sotelo J, Aluja A, Vargas L, Larralde C. 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* 2000;2(15):1875-1890.

Verster A. 1974. The golden hamster as a definitive host of Taenia solium and Taenia saginata. *Onderstepoort J. vet Res.* 41,23-28.

Willms K., Merchant MT, Gómez M, Gómez M, Robert L. 2001. Taenia solium: Germinal Cell precursors in tapeworms grown in hamster intestine. *Arch Med Res.* 32, 1-7.