

ISBN 970-27-1045-6

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI- *Trichinella spiralis* EN CERDOS POR LA PRUEBA DE ELISA****Medina Lerena, Miriam Susana; Agustín Ramírez Álvarez, Moisés Ochoa Sánchez, Angélica Montes Rosas<sup>1</sup>, Franco Ramos, Concepción; Robertina Marín Buriel<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Salud Pública del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara, México. Km.15.5 Carret. Guadalajara – Nogales. Predio "Las Agujas", Nextipac, Zapopan, Jalisco, 45110, e-mail mlm64473@cucba.udg.mx , msuempl@yahoo.com

<sup>2</sup>Centro Estatal de Laboratorios de la Secretaría de Salud Jalisco (CEESLAB) localizado en Av. Zoquipan 1000, interior B, Zapopan, Jalisco, 45172.

**Introducción**

La triquinosis es una enfermedad parasitaria adquirida por la ingestión de carne infectada por larvas de *Trichinella spiralis*. Los reservorios naturales son los mamíferos, principalmente carnívoros. Los cerdos se infectan ingiriendo entre otros carne de ratas con larvas. La carne cruda o mal cocinada y embutidos, en particular la carne de cerdo es el principal foco de contagio para el hombre y los carnívoros domésticos (Mehlhorn y col. 1993).

La triquinosis humana es una zoonosis cosmopolita, su prevalencia es alta en Europa y Asia. Los estudios en México sugieren que la parasitosis se distribuye en la zona centro del país, sin embargo la información actual de la triquinosis humana no refleja la verdadera situación epidemiológica de la enfermedad parasitaria en México (Dirección General de Epidemiología, 2006, Reveles y col. 2000, SIVE, 2003, De la Rosa, 2000).

El ciclo biológico se completa en el mismo hospedador presenta tanto fase adulta como forma larvaria y tiene dos fases: una entérica, que comprende cuatro estadios larvarios y la forma adulta, así como una fase parenteral que abarca la migración de la larva recién nacida y su establecimiento a nivel muscular. Los adultos se localizan en el intestino y el estado larvario se enquista en el tejido muscular estriado de los hospedadores localizándose fundamentalmente en los músculos de mayor actividad como diafragma, maseteros, linguales, intercostales entre otros. El cerdo es determinante desde el punto de vista epidemiológico para que la infección se presente en el hombre (Álvarez, 2005).

La triquinosis permite mantener al parásito muy cerca de la población humana, en forma de infección de los cerdos de traspatio y otros animales como el caballo, que eventualmente y sin ningún control sanitario, pueden usarse como carne de consumo (SIVE, 2003; Urguharty y col., 2001; Vignau, 2004).

Para el diagnóstico de la infección se usan métodos directos como la triquinoscopía (observación de larvas por compresión de muestras de músculo en el microscopio de proyección) y la digestión artificial (digestión de muestras de músculo y la observación de larvas en el sedimento); métodos inmunobiológicos con la aplicación de estudios serológicos para detectar anticuerpos anti-*Trichinella spiralis*. Estas pruebas inmunoenzimáticas como el ensayo inmunoabsorbente con enzima unida (ELISA), el ensayo inmunoabsorbente con enzima unida en papel de nitrocelulosa (Dot –ELISA), y WESTERN BLOT Inmunolectrotransferencia (IET) y métodos de biología molecular como la reacción en la cadena de la polimerasa (PCR) y el análisis del DNA amplificado al azar (Acha y col., 2003; Costamagna y col., 2000; Nöckler y col., 2004; Vacio y col., 2003).

Los métodos serológicos proveen oportunidades para la rápida detección de la infección por *Trichinella spiralis* en cerdos y humanos. En particular el ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA); es el mejor método actual de diagnóstico serológico disponible (Ribicich, y col., 2000; Bartoloni, 1999; Wee y col. 2001).

Actualmente se usa el ensayo serológico de ELISA, ya que la prueba en cerdos tiene la ventaja para detectar anticuerpos en cerdos durante una selección preliminar de posibles positivos ya que tiene una gran sensibilidad y practica para realizarla *in vivo*. Según investigaciones recientes los anticuerpos específicos contra *Trichinella spiralis* detectados por la prueba de ELISA, se mantienen en el cerdo durante 100 días post infección. Debido a que las larvas comienzan a ser infectivas entre los 17 y 21 post-infección (Vignau, 2004, Ribicich y col., 2000).

Cuando se pretende realizar un estudio masivo para determinar la incidencia de triquinosis porcina en determinadas regiones se utilizan técnicas de inmunodiagnóstico, entre las cuales ELISA parece ser la prueba de elección (Urguhart y col., 2003).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el progreso de la infección de *Trichinella spiralis* por la prueba de ELISA en cerdos infectados experimentalmente.

## **Metodología**

El estudio se dividió en tres etapas, en la primera se estableció la infección por triquina en ratas, y para ello se emplearon 12 ratas Wistar (hembras) de 1 mes de edad. Las cuales se infectaron tras la restricción alimentaria con carne contaminada con el parásito. Sacrificándose cada 15 días tres ratas mediante anestesia con solución de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal al 0.63 %. Para posteriormente hacer la búsqueda de larvas en el tejido muscular. En la segunda etapa se reprodujo la infección en cerdos y en la tercera se investigó la producción de anticuerpos contra *Trichinella spiralis* en cerdos utilizando la prueba de ELISA. En las etapas 2 y 3 se utilizaron 4 cerdos machos destetados y castrados de 3 meses de edad (28 Kg aproximadamente), 3 cerdos se infectaron y 1 fue usado como control, los cerdos se infectaron por consumo de carne contaminadas con larvas de *Trichinella spiralis*, tras la restricción alimentaria de 12 horas

con 10g a cada uno (aproximadamente 5,000 larvas por cerdo). Antes de infectarlos se realizó una prueba de ELISA para verificar si existía la exposición de triquina en ellos. Tras la infección fueron alojados en corrales destinados a la experimentación en el CUCBA, proporcionándoles un manejo de rutina durante 105 días. En las etapas de iniciación, desarrollo y finalización los cerdos fueron monitoreados buscando anticuerpos cada dos semanas una vez infectados con larvas musculares se tomo una muestra sanguínea por punción en la vena auricular. Las muestras de los cerdos se identificaron como: cerdo testigo (CT) y los cerdos infectados como (C1, C2 y C3). Las muestras se centrifugaron y se realizo la técnica de ELISA usando kit de ELISA (Internacional *Trichinella* (T. spiralis) Serum Microwell ELISA), con antígenos purificados. El presente estudio se realizó en el laboratorio de Medición Paraclínica del Departamento de Salud Pública de la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, así como las instalaciones del Centro Estatal de Laboratorios de la Secretaría de Salud Jalisco (CEESLAB).

## Resultados

En la primera etapa la reproducción de la infección en ratas por larvas musculares fue positiva encontrando 500 larvas por g. de carne. De los 4 cerdos que se utilizaron para la realización de la evaluación de la detección de anticuerpos por *Trichinella spiralis*, los tres elegidos fueron infectados satisfactoriamente. El punto de corte para considerar un animal negativo fue de 0 a 0.3 D.O. (Densidades ópticas) y como positivos mayor a 0.5 D.O. para la prueba de ELISA. En el C1 así como el C3 presentaron la presencia de anticuerpos a los 45 días que correspondió a la tercera semana, sin embargo el C2 los presento a los 30 días. Una vez que se demostró la presencia de títulos de anticuerpos se continuó evaluando por cinco semanas mas para observar si se mantenía o aumentaba el nivel de anticuerpos, comprobando efectivamente que durante ese tiempo se mantuvo la curva de anticuerpos. El cerdo testigo tuvo un comportamiento negativo a la prueba de ELISA y no presento niveles de anticuerpo debajo de las densidades ópticas.

## Conclusiones

La reproducción de la infección de triquina en ratas fue positiva.

La detección de anticuerpos contra *Trichinella spiralis* por ELISA, puede ser de gran utilidad para estudios epizootiologicos ó en la detección de cerdos infectados.

El método de la prueba de ELISA detecta anticuerpos *vs Trichinella spiralis* a partir de la tercera semana de infección.

**Bibliografía**

- Acha N. P. y Cifres B., (2003). Zoonosis y enfermedades trasmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ra edición. Vol. III. Parasitosis. Organización Panamericana de la Salud. P. 325- 337.
- Álvarez, D. M. B., (2005). La triquinosis. Revista de Ciencias Naturales. No.2 Marzo. Tomado de la red mundial <http://www.ies.virgendesoterrano.edu.juntaextremadura.net>
- Bartoloni, A., Cancrini, G., Bartalesi, F., Nicoletti, A., Méndez, P. G., Rosado, J., Roselli, M., y Paradisi, F., (1999). Anticuerpos contra *Trichinella spiralis* en la población rural de la provincia Cordillera, Bolivia. Revista Panamericana Salud Pública. 5(Supl. 2):97-99.
- Costamagna, S. R., (2000). Trichinellosis: A proposito de un peritaje judicial. VI Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades Parasitarias. Huerta Grande, 25 al 28 de Octubre 2000. 60(Supl. III):56-57.
- Dirección General de Epidemiología, (2006), Tomado de la red mundial <http://www.dgepi.salud.gob.mx/infoepi/index.htm> en anuarios de morbilidad
- De la Rosa, J. L., Gómez, P. A., (2000). Búsqueda de anticuerpos contra *Trichinella spiralis* en roedores de libre desplazamiento capturados en un zoológico de la Ciudad de México. Boletín Chileno de Parasitología. 55(Supl. 3-4).
- Mehlhorn, H. y Piekarski, G., (1993). Fundamentos de Parasitología, Parásitos del hombre y de los animales domésticos. Tercera Edición. P. 245-251.
- Nöckler, K., Hamidi, A., Fries, R., Heidrich, J., Beck, R. and Marinculic, A., (2004). Influence of Methods for *Trichinella* Detection in Pigs from Endemic and Non-endemic European Region. Journal Veterinary Med. 51:297 – 301.
- Reveles G, Muñoz J., Saldívar S. J., Moreno M. A. (2000). Efecto de ka inmunoterapia sobre larvas infectantes (L1) de *Trichinella spiralis* implantadas en músculo estriado en modelo experimental, Biotecnología Aplicada. Vol 17., No. 126. Tomado de la red mundial <http://www.bioline.org>
- Ribicich M., (2000). Fundamentos e importancia de la utilización de test de ELISA para el diagnostico de Triquinelosis de Argentina. Parasitología y Enfermedades Parasitarias.
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, (2003). El síndrome febril y su relación con la trichinellosis humana oculta. 20(Supl. 50):1-3.
- Urguhart, G. M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., y Jernings, F.W., (2001). Parasitología Veterinaria. Editorial Acribia S.A., Segunda Edición. P. 110-112.

- Vacio, D. M., Muñoz, J., Saldivar, S. y Moreno, M., (2003). Diagnóstico de Trichinellosis en Cerdo. Revista Virtual Visión Veterinaria. 2(Supl. 11) Tomado de la red mundial <http://www.visionveterinaria.com> (06.07.2003)
- Vignau, L. M., (2004). Triquinosis, Cátedra de Parasitología y En fermedades Parasitarias. Revista Ciencia hoy en línea. 14(Supl. 82). Tomado de la red mundial <http://www.cieciahoy.retina.ar/hoy/82/triquinosis.htm>
- Wee, S. H., Lee, CH. G., Joo, H. D. and Kang Y. B., (2001). Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Trichinella spiralis* antibodies and the surveillance of selected pig breeding farms of Korea. The Korean Journal of Parasitology. 39(Supl. 3):261-264.