

UTILIZACIÓN DE TÉCNICAS DIRECTAS E INDIRECTAS EN EL DIAGNÓSTICO DE TRICHINELLOSIS EN CERDO

Dra. en C. María Alejandra Moreno García*, M. en C. José Jesús Muñoz Escobedo**,
M. en C. Rosa Gabriela Reveles Hernández*, M.V.Z. Sergio Saldivar Elías* y
Dra. en C. María Del Refugio Vació De La Torre*.

*Departamento de Biología Celular y Microbiología Unidad Académica de
Biología Experimental, Universidad Autónoma de Zacatecas, México.

**Unidad Académica de Odontología, Universidad Autónoma de
Zacatecas, Guadalupe, Zacatecas, México.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Parasitarias en porcino](#)

RESUMEN

La Trichinellosis es una enfermedad parasitaria el cerdo es el principal transmisor al humano causándole ya sea la enfermedad y muerte o bien deteriora su calidad de vida. En México, la mayoría de las infecciones en humanos ocurre por ingesta de carne de puerco contaminada con *T. spiralis*.

En nuestro país la investigación epidemiológica relacionada con la Trichinellosis, indica que esta enfermedad tiene una frecuencia hasta de 8.1% de la población general, por lo que se considera un problema de salud pública.

Se ha logrado un gran avance en el diagnóstico con la aplicación de estudios serológicos para detectar anticuerpos anti *T. spiralis*. Estas pruebas comprenden: IDD, Dot ELISA e IET

El presente estudio tuvo la finalidad de analizar carne y sueros de cerdos por técnicas directas e indirectas respectivamente a una población de 300 cerdos.

Se analizaron un total de 300 muestras: 200 sueros de cerdos vivos [100 de granjas tecnificadas y 100 de cerdos de traspatio] de los diferentes municipios del Estado de Zacatecas, se les realizó técnica indirecta de IDD, Dot-ELISA e IET, 100 más fueron de cerdos sacrificados del rastro las ciudades de Jerez y Zacatecas analizándolos por técnicas directas de compresión y digestión artificial y técnicas indirectas las ya mencionadas. De los tejidos analizados por compresión únicamente se encontró uno con 1.5 LI por campo, por la técnica de digestión artificial también fue positivo con 10 mL de LI, por la técnica de IDD el resultado fue negativo al 100 %. Al aplicar las técnicas Dot ELISA e IET arrojan ambas un valor de 16 sueros positivos, el 5.33 %.

Palabras clave: Diagnóstico, Trichinellosis, cerdo.

INTRODUCCIÓN

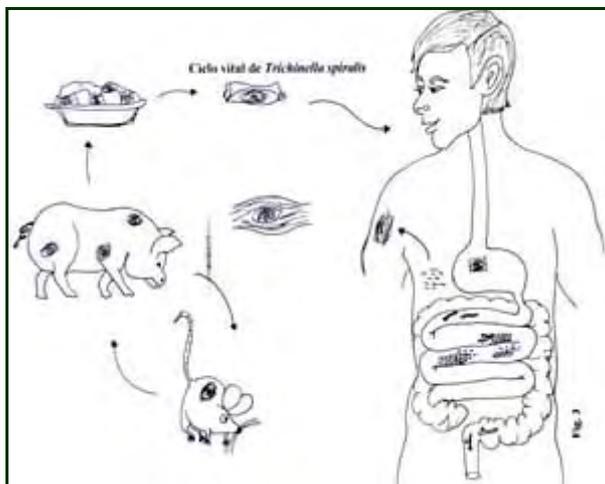
El genero consta de siete especies conocidas como *T. nativa*, *T. nelsoni*, *T. spiralis*, *T. pseudospiralis*, *T. britovi*, *T. murrelli* y *T. papuae* así como tres fenotipos conocidos como T6, T8 y T9 que permanecen sin nombrar aún (1).

La morfología de *T. spiralis* pertenece a los helmintos (gusano redondo) en estado adulto las hembras son más grandes que los machos midiendo 3 mm. de longitud por 0.06 mm. de grosor, mientras que el macho mide 1.5 mm. por 0.04 mm. Se consideran vivíparos, sus productos (larvas recién nacidas) llegan a medir 0.08 mm. . Los machos son más delgados en la parte anterior que en el extremo posterior (2) (fotografía 1).



Fotografía 1.- En la Parte superior una hembra y en la inferior el macho
(Laboratorio de Biología Celular y Microbiología UABE.UAZ (16)).

El ciclo de vida de *T. spiralis*, se puede encontrar en un huésped intermedio y un huésped definitivo. Para la infección del hombre, el huésped definitivo que transmite al parásito, es el cerdo en América y España, en Francia e Italia por el caballo y en Asia por el perro. En el caso de la infección del cerdo o del caballo, el huésped intermedio es la rata la cual se cree se infecta por consumo de desperdicios de vísceras en los rastros o por canibalismo (2,3,4)., Así mismo dependiendo de la especie y el fenotipo es el huésped y la región geográfica (Fotografía 2).



Fotografía 2.- Ciclo Vital de *Trichinella spiralis* (4).

La Trichinellosis se confunde con muchos síndromes clínicos y como consecuencia es frecuentemente mal diagnosticada, algunos médicos dividen a la Trichinellosis clásica en la fase temprana o entérica, la fase muscular y la fase convaleciente, la fase entérica se suele confundir con una infección bacteriana y la fase muscular, con artritis reumatoide (5).

La Trichinellosis porcina constituye un problema de salud pública, ya que el cerdo es el principal transmisor al humano causándole la enfermedad y muerte o bien le deteriora su calidad de vida. En México, la mayoría de las infecciones en humanos ocurre por la ingesta de carne de puerco contaminada con *T. spiralis* (6)(7)(8).

Cuando el hombre ingiere carne de cerdo cruda o mal cocida, que contiene larvas infectivas, en su intestino se lleva a cabo la madurez y los parásitos adultos se aparean. Después del quinto día, las larvas recién nacidas se transportan a los tejidos con un tropismo específico por el músculo estriado. Durante estos eventos se desencadena la respuesta inmune de tipo humoral y celular. La respuesta inmune humoral se refiere a la producción simultánea de grandes cantidades de IgE y de anticuerpos (Ac) de otras clases, que son características inmunológicas notables de la infección por helmintos. El efecto de potencialización se ejerce sobre una gran variedad de antígenos, los anticuerpos IgE específicos sólo representan del 5 al 6% de la IgE total. La producción de anticuerpos específicos se puede determinar por pruebas Inmunológicas o por intradermoreacción. En el humano, la infección provoca inicialmente, la síntesis de anticuerpos de clase IgM seguida de la respuesta de IgG, y se han demostrado anticuerpos de clase IgA, estimulada por las larvas a su paso por el intestino (9).

Comparaciones entre los métodos de digestión artificial y compresión en placa en carne de cerdo demuestran que existen diferencias significativas ($p > 0.01$) entre ambos, esto con dosis bajas de infección, sin embargo con animales inoculados con 5×10^3 y 5×10^4 larvas no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$)(10).

Se ha logrado un gran avance en el diagnóstico con la aplicación de estudios serológicos para detectar anticuerpos anti-*T. spiralis*. Estas pruebas comprenden las pruebas de precipitación en gel (11), inmunoenzimáticas como el ensayo inmuno absorbente con enzima unida (ELISA), el ensayo inmuno absorbente con enzima unida en papel de nitrocelulosa (Dot -ELISA) (12) practicadas tanto en sueros de cerdos como de humanos, logrando una especificidad y sensibilidad por arriba del 90%, utilizando como antígeno el antígeno soluble total (AST) o un extracto de proteínas de secreción excreción (ES) de las larvas infectivas (LI) de *T. spiralis*, otro método aplicable es la Inmunoelctrotransferencia (IET), por medio del cual en humanos se han detectado patrones polipeptídicos entre 38 y 104 kDa que son comunes en el diagnóstico de la Trichinellosis porcina (13).

En México en el 2002 se detectó en 22 estados de la República Mexicana (14). Entre 1978 y 1983 en el estado de Zacatecas se dieron 17 brotes con 108 casos humanos, lo anterior reportado por la Organización Panamericana de la Salud (2). El primer brote en Zacatecas fue registrado en 1976 en Laguna del Carretero municipio de Villanueva con 8 defunciones, y entre 1982 y 1983 Del Río y Col. Encontraron 8 diafragmas positivos en 51 cadáveres analizados (15).

La implementación de técnicas directas e indirectas inmunológicas ha resultado favorable para la detección de *T. spiralis* en los modelos experimentales rata, ratón y conejo por lo que la utilización de éstas en el diagnóstico en cerdos vivos y de rastro en la infección natural, es también factible (16).

OBJETIVOS

- 1.-Detectar la presencia de *T. spiralis* por métodos directos e indirectos a una población de 300 cerdos: 100 muestras de tejido y suero de cerdos sacrificados provenientes de los rastros de las ciudades de Zacatecas y Jerez y 200 sueros de cerdos vivos [100 provenientes de traspatio y 100 más del tipo de explotación tecnificada] de diferentes comunidades del estado de Zacatecas.
- 2.-Utilizar el modelo experimental porcino raza York para el diagnóstico de *T. spiralis*.
- 3.-Comparar los resultados obtenidos por las diferentes técnicas (directas e indirectas) en el modelo experimental y los cerdos de estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sueros y tejidos de cerdos

300 muestras; 200 muestras de sueros provenientes de diversas comunidades del estado de Zacatecas y 100 sueros y diafragmas de cerdos provenientes del rastro municipal de las ciudades de Zacatecas y Jerez Zac.

A los diafragmas se les practicaron las técnicas de compresión y digestión artificial y a los sueros se les practicó la IDD, Dot – ELISA e IET.

Técnicas directas.

Técnica directa de compresión de tejido

Para el desarrollo de la técnica de compresión en placa se necesitaron aproximadamente 0.05 g de carne de cada porción de los cerdos de estudio (diafragma) a cada muestra se le colocó sobre una laminilla se comprimió con otra, ocupando una área de 1 X 5 mm. y se observó al microscopio óptico de luz con el lente 10X (10 aumentos) realizándose el conteo por campo.

Técnica Directa de digestión artificial

Se le realizó también a la carne, esta se llevo a cabo a 37° C por 24 horas según el método descrito por Del Río y col. con algunas modificaciones (15,16). En donde aproximadamente 30 g de carne fue dispuesta en un tamiz de tul a forma de saco, se suspendió en una solución al 3 % de pepsina (10,000 U) y de HCl al 37 % [0.2M] en agua destilada en un embudo de separación, transcurridas las 24 horas se procedió a separar las larvas que se depositaron en el fondo del embudo, se recolectaron y se procedió a su visualización al microscopio óptico de luz con el lente 10 X y 20X (fotografía 3).

Técnicas Indirectas.

Obtención del antígeno soluble total de *Trichinella spiralis*.

La obtención se llevó a cabo de dos maneras; por sonicación de un preparado de las LI de *T. spiralis* en solución pepsina 10,000U –HCl 0.2M (16) y por su extracción mediante Nitrógeno líquido (16) de la cepa que se ha venido conservando por el cuerpo académico de Biología Celular y Microbiología de la Universidad Autónoma de Zacatecas (Fotografía.3).



Fotografía 3.- Embudo de separación (1), LI de *T. spiralis* obtenidas de la digestión artificial del embudo de separación (2) (15,16).

Desarrollo de la técnica de IDD

Se elaboró un gel de agar al 1 % en agua con azida de sodio para evitar contaminación, se colocó en una cantidad de 3 ml a 55° C sobre una laminilla de vidrio, una vez en forma sólida se procedió a formar la roseta con un horador procurando una equidistancia de 0.5 cm. entre pozo y pozo, la confrontación se hizo colocando siempre el antígeno en una cantidad de 20 mL en el centro y en torno a este un suero de reactividad conocida en la misma proporción en volumen sin diluir, dejando en cámara húmeda de 24 a 48 horas hasta observar líneas de precipitación entre el suero positivo y el antígeno, luego se procedió a teñir el gel con azul brillante de Coomassie G 250 en un 25 % en volumen (18).

Técnica de Dot – ELISA

El papel de nitrocelulosa se cuadrícula de 1 cm² ocupando un total de 10 cm² para cada prueba con el fin de que fueran analizados cada vez 100 sueros. Se pegó el antígeno al papel colocando 1 mL en cada cuadro lo que equivale a 0.9mg de AST de *T. spiralis*, se dejó toda la noche a temperatura ambiente, bloqueando con leche libre de grasa al 3% al día siguiente por 1 hr., lavando por una ocasión con PBS –Tween 20 al 0.5 % con agitación por 10 min., se colocaron los sueros problema en una cantidad de 1 mL por cuadro en una dilución, de 1: 100, dejando incubar por 1 hora, lavando nuevamente con PBS –Tween 20 al 0.5 % por 10 min., y se luego colocó el segundo anticuerpo Anti- IgG de cerdo conjugado a peroxidasa en dil.1: 2000 en PBS incubando por 1 hora, lavando con PBS –Tween 20 al 0.5 % por 10 min. por 2 ocasiones por 10 min., se enjuagó con PBS por 10 min. se reveló con 3-3´ di-amino Benzidina usando peróxido de hidrógeno al 37 % como sustrato (12).

Técnica de Inmunoelctrotransferencia (IET).

El producto obtenido del corrimiento en gel de poliacrilamida se transfirió a papel de nitro celulosa (N C) de acuerdo a lo descrito por Towbin (19). Utilizando la cámara de Transblot- Cell (Bio – Rad.) a 35 voltios, durante toda la noche a 4 ° C.

El papel de NC fue teñido con fast green (verde rápido) por 5 min. con agitación constante, se retiró el colorante y fue decolorado en agua destilada, para verificar transferencia de las proteínas, se dejó secar y se cortaron las tiras del ancho aproximado de cada carril (0.5 cm).

Transcurrido lo anterior se procedió a cubrir cada tira con una solución de PBS- leche en polvo al 3% y azida de sodio al 0.15 M a 4 °C, con agitación constante por toda la noche. En seguida se lavaron 3 veces por 10 min. con PBS, se continuó con la incubación por 1.5 hr. con los sueros de los cerdos en una dilución de 1:100 en PBS- leche en polvo al 3% a 37 °C con agitación constante, se lavaron en seguida por dos ocasiones con PBS- Tween 20 al 0.3% por 10 min. y tres más con PBS por 10 min. A continuación se incubó con el segundo anticuerpo Anti- IgG de cerdo conjugado con peroxidasa 1: 2000 PBS- leche en polvo al 3% por 1 hr., a temperatura ambiente con agitación, después se lavaron 2 veces con PBS- Tween 20 al 3% y se enjuagaron con PBS por tres ocasiones por 10 min. cada una.

El patrón de Bando de cada tira se reveló con 3,3´ di-amino – benzidina (DAB), 50 mg en 100 ml de PBS , usando como sustrato peróxido de hidrógeno al 37 % (12).

MODELO EXPERIMENTAL

El modelo experimental que fue usado en este estudio constó de 2 cerdos hembras raza *York* de 12 meses de edad, divididas en dos lotes: 1 cerdo infectado con *T. spiralis* 1 larva infectiva por gramo de peso, el otro lote consistió en 1 cerdo sin infectar para ser usado como testigo negativo, sangrándolos semanalmente, hasta un total de doce ocasiones, los sueros así obtenidos se utilizaron para probar la reactividad antigénica del AST, así como para probar la eficacia diagnóstica de las diferentes pruebas indirectas (IDD, Dot-Elisa y IET) de interés en este estudio.

Una vez transcurridos las 12 semanas, los animales fueron sacrificados implementándose la técnica de compresión en placa de los tejidos: diafragma, lengua, masetero y pierna, 30 gramos de carne se sometieron a digestión artificial y en el modelo experimental un fragmento de .5 cm. de los tejidos mencionados fue fijado en formol para su procesamiento en la técnica de Hematoxilina-Eosina.

Tinción con Hematoxilina - Eosina

El tejido fue fijado en formol al 10% para cortes histológicos con el fin de determinar las características por tinción de Hematoxilina –Eosina de la célula Nodriza. Los tejidos se deshidrataron para luego procesarlos en parafina. Esto fue llevado a cabo en el aparato procesador de tejido (Lipshaw Automatic Tissue Processor) de acuerdo a los siguientes pasos:

Formol al 10 % por 12 horas alcohol etílico al 80% por 1 hora alcohol etílico del 96% 3 cambios cada uno de 30 min., Alcohol etílico absoluto 3 cambios de 1. 5 horas cada uno, Xileno 2 cambios de 1.5 horas y por último parafina a 60 °C., 2 cambios de 1.5 horas, se colocaron los tejidos en moldes cúbicos con ésta hasta enfriar.

Luego de 24 horas se colocan en cama de hielo para efectuar los cortes, teniendo cada uno un grosor de 4m en el Micrótopo modelo 820 rotary, American Optical. Posteriormente se colocó en un portaobjetos cubriéndolos luego con un gel hecho a base de clara de huevo y glicerol (1:1) más unos granos de tibol como conservador. Los cortes así tratados se colocaron en placa caliente para fundir la parafina y continuar con la tinción con Hematoxilina – Eosina, tal como lo describe el libro de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de Norteamérica (17).

El proceso de tinción se llevó a cabo en un tren de tinción: los portaobjetos se colocaron en una canastilla misma que fue introducida en las siguientes soluciones; : Xileno 5min., xileno 5 min., alcohol etílico absoluto 3 min., Alcohol etílico al 96% 3 min., alcohol etílico al 96% 3 min., agua potable y agua destilada (de manera rápida), Hematoxilina de Harris (por unos segundos) agua potable, alcohol ácido al 1 % (de manera rápida) agua potable, solución saturada de carbonato de litio 2 min. , agua potable-Eosina (por unos segundos) agua potable dos cambios en alcohol etílico al 96 %, 3 cambios en alcohol etílico absoluto, Xileno (todos los pasos anteriores son de 1min.) se mantuvieron las laminillas mientras se fueron montando con resina sintética Sigma \hat{a} y se cubrieron con cubreobjetos quedando listas para su observación al microscopio óptico de luz.

RESULTADOS

Caracterización del antígeno soluble total de *T. spiralis*.

La concentración proteica del antígeno fue de 90 mg / mL .

Su corrimiento en geles de poliacrilamida mostró un bandeo comprendido entre 24 - 97 kDa. predominando el triplete de 43,45 y 48 kDa. Característico de *T. spiralis*, utilizado para las técnicas indirectas de IDD, Dot-ELISA y IET.

Técnicas directas en el modelo experimental en cerdo

Por la técnica de digestión artificial se encontraron 25 mL de LI, aproximadamente cada microlito contiene 25 LI.

En cuanto a la técnica de compresión del tejido se encontraron aproximadamente entre 10-14 LI por campo (fotografía 4).



Fotografía 4.- Técnica directa de compresión de tejido de diafragma de cerdo infectado experimentalmente con *T. spiralis* observado a 10 X en microscopio óptico de luz.

En la tinción con Hematoxilina –Eosina se encontró el mismo patrón de célula Nodriza que se presenta en el modelo experimental murino que está ya bien caracterizado (2,16) (fotografía 5).



Fotografía 5.- Técnica de Hematoxilina-Eosina en tejido de pierna de cerdo infectado experimentalmente con *T. spiralis* con el patrón de célula nodriza característico.

Técnicas indirectas en el modelo experimental en cerdo

Se encontró una positividad en IDD hasta la cuarta semana, por Dot -ELISA a la tercera semana mostró positividad, por el método de IET a la segunda semana se encontraron resultados positivos reconociendo el triplete característico de 43, 45 y 48 kDa.

Técnicas directas en los animales de estudio

De los tejidos analizados de los cerdos del rastro, el resultado obtenido por la técnica de compresión de tejido en placa fue de un diafragma positivo con 1.5 larvas por campo (Foto 6), representando el 0.3 % de positividad.



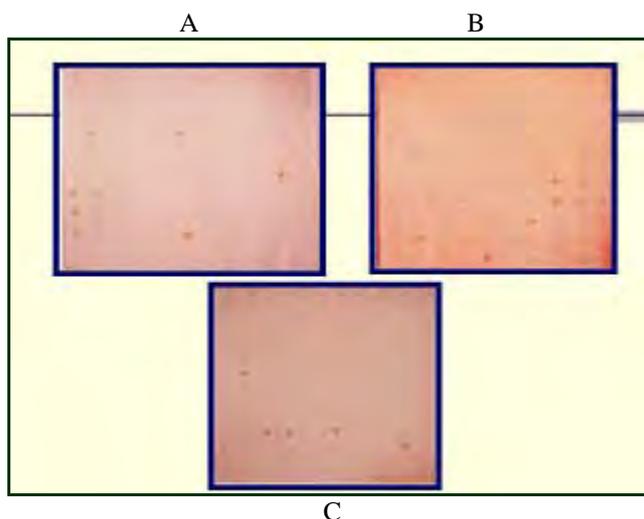
Fotografía 6.- Técnica de compresión de tejido de diafragma de cerdo sacrificado en el rastro municipal de Jerez Zacatecas observada al microscopio óptico de luz 20X.

Por la técnica de digestión artificial se encontró con 10 mL de LI del digerido, siendo el mismo de la técnica anterior.

Por el método de IDD realizado se encontró que el 100% fue negativo, para el total de los 300 sueros.

Al realizar la técnica de Dot -ELISA a los sueros del rastro, se obtuvo un valor del 6.00 % de positividad (6 sueros) (Fotografía 7 B).

Los resultados obtenidos en los sueros de los cerdos de los dos tipos de explotación; traspatio y tecnificada, fueron 5 y 5 positivos respectivamente (Fotografía 7 A y C) .



Fotografía 7.- Técnica de Dot. ELISA Dot ELISA aplicada a cerdos de traspatio (A), los puntos oscuros son los positivos (5+) y los 3 puntos oscuros juntos el control positivo. Dot ELISA aplicada a sueros de cerdos de rastro (B), los puntos oscuros son los sueros positivos(6+). Dot ELISA aplicada a los sueros de cerdos con explotación tecnificada (C) los puntos oscuros son los positivos (5+). En la parte inferior de (C) 3 controles negativos.

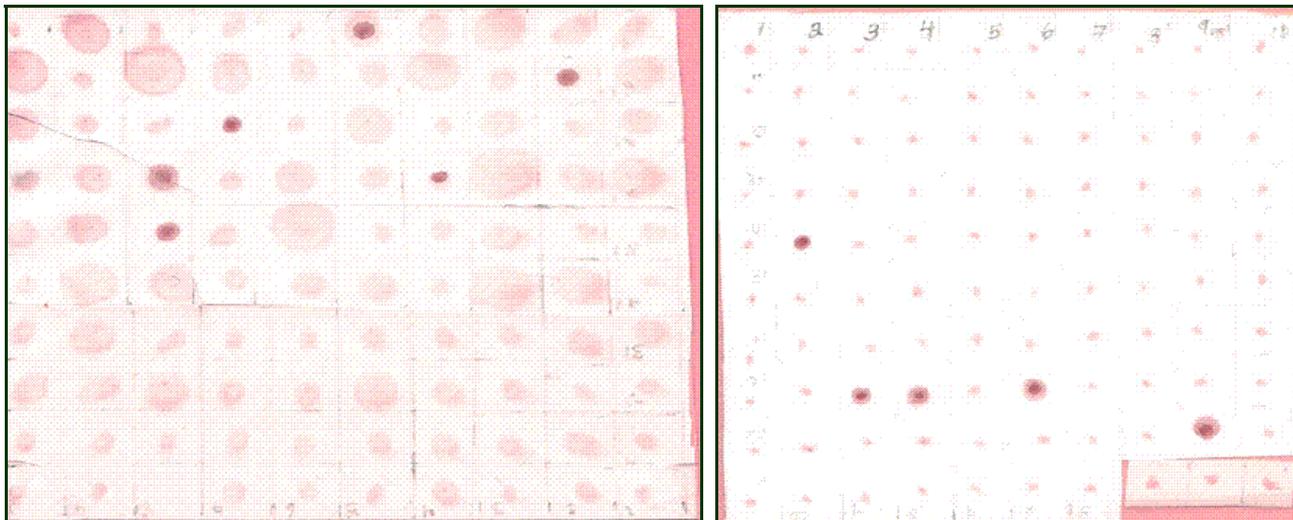
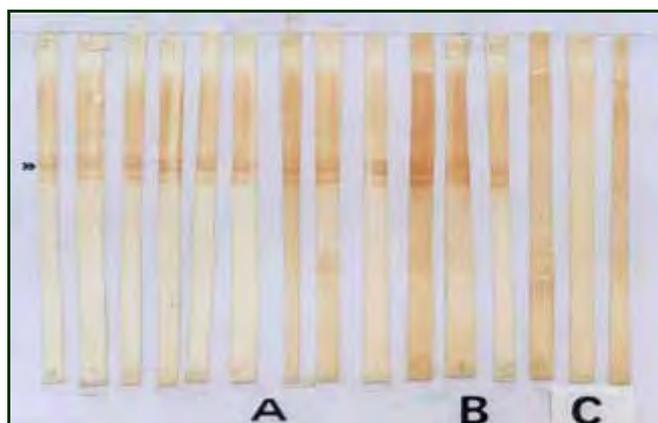


Fig.2. Técnica de Dot. ELISA aplicada a sueros de cerdos de rastro, los puntos oscuros son los sueros positivos(6+). 3controles positivos. Fig. 3. Dot ELISA aplicada a cerdos de traspatio, los puntos oscuros son los positivos (5+). 3 positivos control 3 negativos control.

Mediante la utilización de la metodología de IET para la detección de *T. spiralis* en los sueros de los cerdos, se encontraron un total de 16 positivos (Fotografía 8) con el predominio del triplete de 42,45 y 48 kDa, los mismos hallados por Dot-ELISA, en el total de los 300 sueros.



Fotografía 8.- IET, A: sueros positivos de cerdos de los dos tipos de explotación. Tecnificada y traspatio B: 2 sueros positivos control y C 3 sueros negativos control. En los positivos el *El triplete característico de 42,45 y 48 kDa.

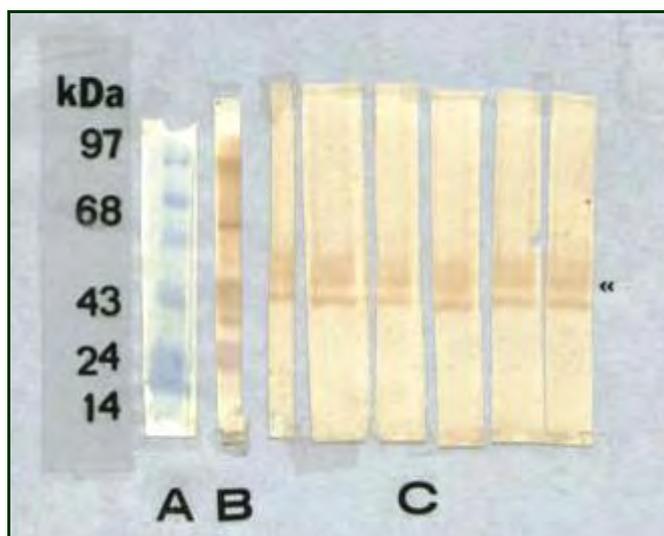


Fig. No.5. IET Aplicada a sueros de cerdos de rastro; carril A Pesos Moleculares, B Antígeno Soluble Total, C sueros de* Cerdos de rastro con el predominio del triplete característico de 42-45 y 48 Kda..

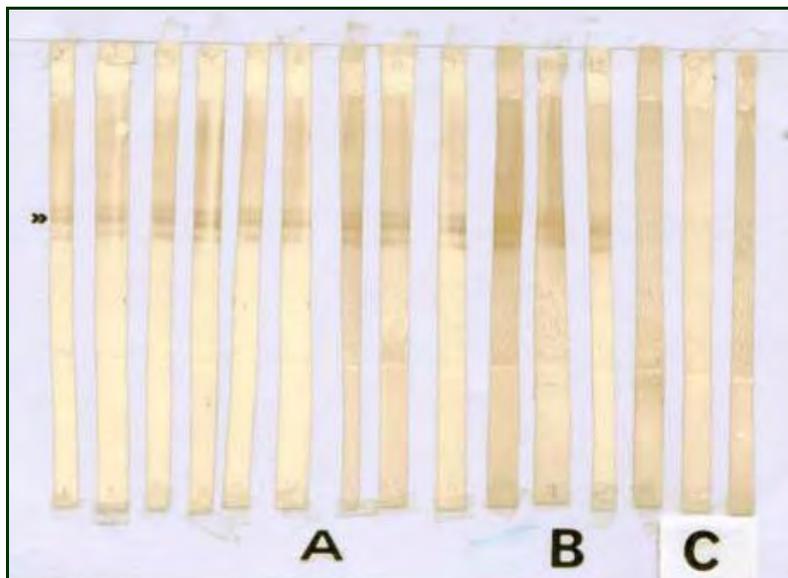


Fig. No.6. IET, A: sueros positivos de cerdos de los dos tipos de explotación. Tecnificada y traspatio B: 2 sueros positivos control y C 3 sueros negativos control. En los positivos el *El triplete característico de 42,45 y 48 kDa.

DISCUSIÓN

Al realizar las técnicas directas e indirectas en animales infectados experimentalmente encontramos resultados positivos, pero nuestro modelo experimental fue infectado con 1 LI por gramo de peso del cerdo. Al llevarlas a cabo con animales silvestres, el desarrollo de la técnica de IDD ha dado negatividad al 100% de los sueros lo cual indica que quizás para sueros con niveles de anticuerpos bajos, y por ende una baja carga parasitaria < 1.5 LI por campo y con poco tiempo de infección esta técnica no resulta adecuada.

Al detectar anticuerpos anti *T. spiralis* por las técnicas de Dot-ELISA y por IET en un número de 16 en sueros reportados como negativos por IDD, digestión y compresión en placa, concluimos que la técnica de Dot-ELISA puede ser usada para grandes tamices de diagnóstico para Trichinellosis porcina, la técnica de IET es adecuada cuando de especificidad se trata como método diagnóstico en Trichinellosis.

Desafortunadamente *T. spiralis* sigue presente como una zoonosis endémica en Zacatecas, México, que es diagnosticada solo en brotes epidémicos.

Y al no realizar de forma rutinaria inspección para *T. spiralis* en carne de cerdo en los rastros permite su transmisión al humano y aunque sea baja la carga parasitaria si impacta en la calidad de vida de este.

Siendo importante implementar como tamiz la Dot-ELISA ya que es rápida y de bajo costo y no se necesita una gran infraestructura.

CONCLUSIÓN

La Trichinellosis sigue como zoonosis en el estado de Zacatecas, sin llevarse un diagnóstico sanitario.

La técnica de Dot-Elisa es una alternativa para un diagnóstico rápido y de bajo costo, específico y sensible.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pozio E, La Rosa G, Murrell K D and Lichtenfels J R .Taxonomic revision of the genus *Trichinella*. J. parasitol 1992. Vol 78. No4. 654-659.
2. Reveles H.R.G., Villalobos R., Saldivar E. S., Moreno G. M.A. Implante Histológico de *Trichinella spiralis* Experimental. Parasitología al Día. 1997. Vol. 21. No. (3-4) 1-8
3. Moreno G. M. A., Rivas G. J., Berumen De La T. V., Muñoz E.J.J. Detección de *Trichinella spiralis* en rata domestica del basurero Municipal de Zacatecas. REDVET. 2007, Vol. VIII.No 5. 1-8. <http://www.veterinaria.org/revistas/red/vet/n050507/050713>.
4. Chávez Ruvalacaba Isabel. Evaluación y comparación de 3 desparasitantes en la infección por *Trichinella spiralis* en fase intestinal y muscular en modelo experimental murino y suino. Tesis de Doctorado. 2007. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas.
5. Herrera R, Varela E, Morales G, Del Río A y Gallardo M. Dermatomyositis- like syndrome caused by trichinae: Report of two cases. J Reumatology 1985. 2 (4) 782-784.
6. Contreras J A, Herrera R. Triquinosis porcina en el estado de Zacatecas. Revista Mexicana de parasitología 1992. 3 (1) 25-27.
7. Flores M, Trujillo C, Marchesini J R T, Arteaga C, Martínez S J A, Alcántara P. Immunodiagnosis of experimental swine Trichinellosis using excretory /secretory antigens . En: Trichinellosis. ICT 9 1996. 435-440.

8. Vega M A, López Y. Analysis of the mucosal immune response against *Trichinella spiralis* in pigs . Trichinellosis ICT 9 1996. 389-397.
9. Moreno A, Muñoz E JJ. Características de la Respuesta Inmune en *Trichinella spiralis*. Investigación Científica UAZ 1993. 1:17-28.
10. Ribicich M, Molina A, Blangiardi V, Basso G, Franco N. Comparación entre la digestión Artificial y la trichinoscopía para la detección de *Trichinella spiralis* en carne porcina. Investigación Veterinaria 2000. 81-85.
11. Hudson L, Hay F. Ouchterlony double diffusion , antibody interaction with antigen. En: Practical Immunology, Blacwell Scientific Publications, Great Britain 1991. p 233-235.
12. Aguilar Figueroa B R, Bautista G, Rojas J, De Nova M E, Ixta O, Martínez F. Experimental Swine Trichinellosis: Use of Dot_ELISA and Western Blot with Excretion /Secretion Antigens (ES) from Infective Larvae to Detect Anti-*Trichinella spiralis* Antibodies. Revista Latinoamericana de Microbiología. 2000. 42:57- 62.
13. Silva M, Vargas D, Vega F, Sepúlveda R. Técnicas inmunoenzimáticas en el diagnóstico de la Trichinellosis porcina. Parasitol al Día 1997. 21:25-30.
- 14.-Secretaria de Salud S.S.A. Casos acumulados por entidad federativa de enfermedades zoonoticas hasta la semana epidemiológica 31. Sistema único de información nacional de vigilancia epidemiológica. 2002.33.19,33.
15. Del Río A., Herrera D R.M. Primer hallazgo de *Trichinella spiralis* en el diafragma de un cadáver en Zacatecas, Salud Pública De México. 1984. 26 (6) 596-598.
16. Muñoz E.JJ., Saldivar E.S., Reveles H.R.G., Muñoz M.Y, Moreno G.M.A. Características de la célula nodriza en diferentes modelos experimentales infectados con *Trichinella spiralis*. RED VET 2007. Vol VIII, No. 1. 1-12. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010107.html>
17. Manual of Histologic and special staining technique. Armed Forces . Institute of Pathology Washington, D C 1957. Chapter 2 p. 7-16 .
18. Oucherlony O. Diffusion in gel method. For immunochemical analysis in Progress Allergy. ed. Kellos, P. Basel. New York. 1958. Vol5.p123.
19. Towbin H T, Stahelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrilamide gel to Nitrocellulose sheets. Procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1979. 76:4350- 4354.

[Volver a: Parasitarias en porcino](#)