

SISTEMA DE DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO DE TRICHINELLOSIS PORCINA ANTE-MORTEM

Eduardo Guanera, Silvio Krivokapich, José Peralta, Enrique Trabattoni, Carlos Paoletti, Antonio Baravalle, Florencia Bono, Viviana Molina. 2006.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Parasitosis porcinos](#)

INTRODUCCIÓN

La Trichinellosis es una zoonosis parasitaria endémica en la República Argentina y Chile. Los dos países ocupan el extremo austral de América del Sur.

Es una enfermedad sistémica producida por el nematode *Trichinella* sp. Que evoluciona en tres compartimentos orgánicos del mismo hospedador, el aparato digestivo, el aparato circulatorio y el sistema muscular esquelético. El duodeno y el yeyuno están parasitados por los ejemplares adultos y las larvas de los estadios L1, L2, L3, y L4, el sistema circulatorio es el órgano de diseminación de las larvas recién nacidas o “new born” y el tejido muscular esquelético aloja las larvas L1 musculares, que son las infectivas. El ejemplar que contiene larvas enquistadas en su musculatura estriada, se convierte en fuente de infección y puede continuar el ciclo parasitario a condición que sea ingerido por animales carnívoros o carroñeros.

El género *Trichinella* está constituido por 11 genotipos que presentan una distribución cosmopolita e infectan principalmente a mamíferos con hábitos carroñeros y caníbales. En nuestro país, se encontraron infecciones por larvas musculares de *trichinella* en ratas, gatos, perros, armadillos, pumas y liebres. Sin embargo, el número de animales analizados fue escaso y muy pocos de estos aislamientos de *Trichinella* fueron analizados a nivel especie, donde todos fueron identificados como *Trichinella spiralis*. Los animales selváticos y sinantrópicos pueden cumplir un rol importante como reservorios de la trichinellosis en la naturaleza y como fuente alternativa de infecciones humanas. El riesgo para el hombre, se relaciona con la ingestión de carnes de cerdo o de caza parasitadas e insuficientemente cocidas. Ribicich M (1), demostró en una infección experimental de cerdos, que la enfermedad es asintomática en animales que tienen densidades parasitarias de 3, 6 y 40 larvas/gramo, sin embargo estas cargas son suficientes para producir la enfermedad en el hombre. Una carga de 286 larvas/gramo da síntomas respiratorios y caquexia que pueden matar el animal, estos cerdos con carga muy alta tienen signos y síntomas de enfermedad que disminuyen la probabilidad de que sean enviados a consumo.

La falta de indicadores que sugieran cuántos y cuáles son los animales del rebaño enfermos, impulsaron la estrategia de control basada en el despoblamiento de la piara, esta medida tiene la finalidad de eliminar a los animales enfermos y a los convivientes sanos que se consideran de alto riesgo. El Servicio Nacional de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (SENASA) tiene responsabilidad primaria en el control de la Trichinellosis y el saneamiento de las pias infectadas. Está facultada para enviar al frigorífico a todos los animales que integran un rebaño con ejemplares enfermos (Resolución 193/96 SENASA). En el frigorífico se realiza el examen post-mortem mediante la digestión artificial de 5 g de músculo diafragma, las reses parasitológicamente negativas pasan al consumo mientras que las parasitadas se envían al digestor. Con la aplicación de esta estrategia al productor le sacrifican compulsivamente todos los cerdos.

El objetivo del presente trabajo es determinar un sistema de diagnóstico inmunológico aplicado a los cerdos ante-mortem, con la finalidad de identificar a los animales sospechosos y confirmar a los que están verdaderamente parasitados en su propio campo de cría. Esta alternativa está dirigida a sacrificar solamente a los animales parasitados dejando que los convivientes sanos continúen los ciclos establecidos por el productor. Su aplicación reduciría las pérdidas del sector ganadero y brindaría seguridad alimentaria a los consumidores de carnes de porcino controlados inmunológicamente.

ESTADO ACTUAL DE TRICHINELLOSIS EN LA REPÚBLICA ARGENTINA

En el Ministerio de Salud hay registros de casos desde el año 1974. En el decenio que abarca hasta 1983 se registraron 894 casos humanos en 15 provincias (62.5 % de las jurisdicciones nacionales) (2).

Las tres provincias que presentaron el mayor registro de enfermos fueron Buenos Aires, Córdoba y Río Negro con 718 casos, (80.3 % del total). Estas tres jurisdicciones, comprenden el área productora de porcinos más importantes del país. En el decenio de 1984-1992 fueron denunciados 1.223 casos distribuidos en 14 provincias (58.3 % de las jurisdicciones) (3).

En el período 1993-1999 se produjo un fuerte avance de la enfermedad. El número de enfermos alcanzó a 4.769 personas por lo cual aumentó el 281 por ciento con respecto al período anterior. En este lapso se incorporó

la provincia de Tucumán que hasta la fecha nunca había tenido brotes de Trichinellosis (4). En este período el 71 % de las provincias presentaron casos humanos de la enfermedad.

En el período 2000-2001 se conocieron 725 enfermos y se incorporó a la Provincia de Jujuy que hasta la fecha nunca había denunciado casos humanos de la enfermedad.

Diecinueve provincias denunciaron casos, 79.1 % de las jurisdicciones nacionales.

La Trichinellosis es de notificación médica obligatoria por ley nacional desde el año 1960 (5). En el año 1993 se efectuó una revisión, de las enfermedades notificables y se incluyó en el grupo de las que tienen posibilidad de control a través de acciones sobre el foco.

En el Cuadro I se presentan los enfermos por año y las jurisdicciones afectadas.

En el Cuadros II como se puede observar, se conocieron 179 focos de Trichinellosis que originaron 3.164 casos humanos lo que significa una relación de 18 enfermos/foco.

Los brotes epidémicos más importantes se debieron al consumo de carne fresca y chorizos que ingresaron clandestinamente en el circuito comercial de áreas rurales alejadas y que infectaron a 390 y más de 300 personas respectivamente (8-9).

En el cuadro II, se observa las provincias de la República Argentina con mayor prevalencia y las tasas de incidencia de la Trichinellosis humana por 100.000 habitantes.

Cuadro I.- Casos de Trichinellosis en personas. Distribución según provincias. Período 1993-2001. INEI, ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". República Argentina. 2003

Provincias	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	TOTAL
Buenos Aires	217	383	556	543	774	135	231	136	54	2999
Capital Federal		3		2						5
Catamarca						13	2			15
Córdoba	100	227	180	79	70	36	1	96	56	845
Corrientes	1	10				2		1		14
Chubut	14	1					89			104
Jujuy								2		2
La Pampa	8		7	21						36
La Rioja							3			3
Mendoza							1			1
Neuquén	17	6	1		8		24	3	1	60
Río Negro		7		80	3		2			92
San Luis		1	1	10		7	63	3	20	105
San Juan					4		7			11
Santa Cruz		1				6	1			8
S.del Estero				1						1
Santa Fe	3	387	84	124	157	68	15	221	88	1147
Tucumán	1									1
Tierra del Fuego					1			5	39	45
TOTAL	361	1026	829	860	987	267	439	467	258	5494

Fuente: boletín de Vigilancia Epidemiológica Nacional años 1994 a 2001

Cuadro II: Tasa de incidencia de Trichinellosis humana (por 100.000 habitantes) en las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe. República Argentina. Período 1993-2001

Prov.	población en riesgo*	1993 casos tasa	1994 casos tasa	1995 casos tasa	1996 casos tasa	1997 casos tasa	1998 casos tasa	1999 casos tasa	2000 casos tasa	2001 casos tasa
Bs. As.	1.489.968	217 14.5	378 25.3	556 37.3	442 29.6	744 49.9	135 4.7	231 15.5	136 9.1	54 3.6
Córdoba	1.543.732	100 6.4	227 14.7	180 11.6	79 5.1	70 4.5	36 2.3	1 0.06	96 6.2	56 3.6
Santa Fé	1.608.145	3 0.1	387 24.0	84 5.2	124 7.7	157 9.7	68 4.2	15 0.9	221 13.7	88 5.4

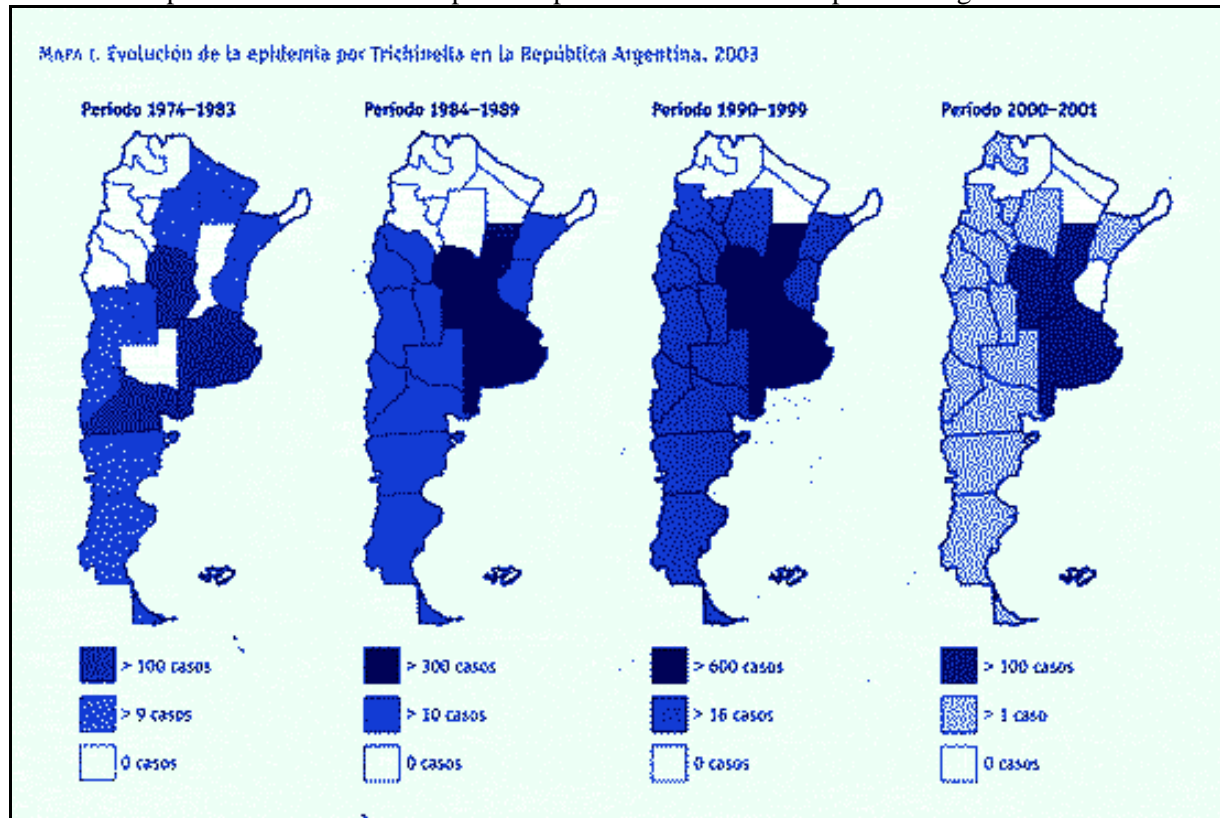
(*)Censo Nacional año 1991

Cuadro III.- Casos humanos de Trichinellosis en relación con los focos conocidos.
Buenos Aires. República Argentina. Período 1990-1999

1990*		1991*		1992*		1993*		1994*		1995		1996		1997		1998		1999	
Foc	Cas	Foc	Cas	Foc	Cas	Foc	Cas	Foc	Cas	Foc	Cas	Foc	Cas	Foc	Cas	Foc	Cas	Foc	Cas
11	158	2	44	11	153	8	217	14	383	34	556	28	543	36	744	16	135	19	231

(*) Hasta semana epidemiológica Nro. 40.

Mapa 1.- Evolución de la epidemia por Trichinella en la República Argentina. 2003



Período 1974-1983 Período 1984-1989 Período 1990-1999 Período 2000-2001
 >100 casos >300 casos >600 casos >100 casos
 >9 casos >10 casos >16 casos >1 caso
 0 casos 0 casos 0 casos 0 casos

FUENTE DE INFECCIÓN

El análisis del alimento infectante en 85 focos ocurridos en la Provincia de Buenos Aires muestra que el 97 % (83 focos) se debieron a la ingesta de carne de cerdo cruda, seca o ahumada preparadas artesanalmente como chorizos o distintos embutidos.

Dos brotes epidémicos (3 %) se debieron al consumo de carne fresca de cerdo. En otras provincias el origen fue carne de puma ahumada (5) y carne fresca de cerdo.

En general, los brotes de las provincias tradicionalmente productoras de porcinos se deben a la elaboración de alimentos con cerdos criados artesanalmente y sin inspección veterinaria. En las provincias con poca experiencia en porcicultura y Trichinellosis los casos se producen por la ingesta de carne fresca de puercos de transpatio que no fueron oficialmente liberados al consumo. En la República Argentina la inspección por carnes de fauna silvestre tiene muy poca incidencia. Aunque, en el período 1984-1996 en la provincia de La Pampa que es el coto de caza principal de cerdos salvajes y jabalíes no se identificó ningún ejemplar parasitado (6), en nuestro laboratorio se identificó infección por *Trichinella spiralis* en el 56 % de 19 animales estudiados (Trabajo en prensa).

LETALIDAD

En la República Argentina desde el año 1974 a 1999 se denunciaron 6.886 casos humanos de Trichinellosis. En este período se registró un fallecimiento, lo que dio lugar a que la tasa de letalidad fuera del 0,014 %.

Trichinellosis en animales

En el período 1987-1998 se faenaron en la República Argentina 20.855.809 cerdos en frigoríficos con inspección veterinaria. Estos animales que son producidos de manera industrial con sanidad adecuada no produjeron brotes de trichinellosis humana (11).

El promedio anual de la faena irregular sería de aproximadamente el 30 por ciento de esa cantidad, lo cual sugiere que anualmente se sacrifican aproximadamente 500.000 cerdos en el domicilio del poblador rural. Estos animales que son los de importancia epidemiológica se consumen como carne fresca (20 %) y en forma de productos elaborados (80 %).

Los pobladores rurales de las áreas endémicas tienen el hábito de solicitar el examen parasitológico de animales a las veterinarias particulares o a los servicios de bromatología de las municipalidades.

En los años 1994 y 1995 se denunciaron los focos que se presentan en el cuadro IV.

Cuadro IV.- Focos de Trichinellosis porcina en la República Argentina. Período 1994-1995

Focos	Cerdos	Cerdos/foco	Provincias con Focos	Localidades con Focos
31	4132	133	6	30
24	1517	63	6	24
2	90	45	2	2
5	198	40	3	6
8	1481	185	4	8
4	411	101	4	4
*Focos estudiados por el Depto de Parasitología, INEI, ANILIS "Dr. Carlos G. Malbrán"				

En el distrito de Tandil, provincia de Buenos Aires, entre los años 1992-1994 se analizaron 706 muestras procedentes de cerdos criados de manera artesanal. Para el diagnóstico se empleó la triquinoscopia con muestras de músculos diafragmáticos, maceteros e intercostales. Con este procedimiento se obtuvieron 681 muestras negativas y 25 positivas (3.5 %) (9). Si esta muestra fuera representativa del estado sanitario de la población de cerdos producidos fuera del circuito comercial, la prevalencia de Trichinellosis en los animales de producción familiar, que son los de mayor importancia epidemiológica, sería de 35.4 por 1.000 animales.

En el año 1998, en la provincia de Buenos Aires, se produjeron 66 focos de Trichinellosis que involucraron a 3.010 cerdos que significaron 45 cerdos/foco.

De esta población, se sacrificaron por medida de saneamiento 1.584 animales de los cuales fueron positivos por digestión 123 (7.7 %) (10). De acuerdo con estos resultados, la prevalencia entre cerdos de producción familiar, en 31 partidos de la provincia de Buenos Aires, sería en el año 1998 de 77.6 por 1.000 cerdos.

MATERIAL Y MÉTODOS

La estrategia del diagnóstico inmunológico de Trichinellosis implica la detección de anticuerpos anti-Trichinella circulantes. La reactividad de los animales se midió por un sistema inmunológico en serie empleando dos técnicas de diagnóstico: el ensayo inmunoenzimático ELISA con antígenos excretores/secretores de larvas L1 y el diagnóstico molecular western-blot. La producción de los antígenos larvarios y ambas técnicas de diagnóstico, fueron adaptadas y modificadas de Gamble y col, 1988 y de Shin y col. 1990 en el Departamento de Parasitología del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI), perteneciente a la Administración Nacional de Laboratorios y Servicios de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos G. Malbrán". La confirmación parasitología de Trichinellosis se hará empleando la digestión artificial según determina la OIE, 1998 (13).

Mantenimiento de los parásitos y producción de los antígenos

Las larvas de Trichinella spiralis (cepa de referencia ISS-643) se mantuvieron en ratones CF1 (Shin y Prestwood, 1990). Los ratones se sacrificaron con métodos piadosos, se evisceran y las carcasas se trituraron en un procesador (MR Molinex). El músculo preparado se dirigió en fluido digestivo artificial según Kohler y col. 1974. Las larvas en estado de pureza se cultivaron 18 hs. en medio DMEM suplementado con HEPES y antibióticos, en una estufa a 37 °C con 5 % de anhídrido carbónico. El sobrenadante filtrado con membranas de 0.2 um y concentrado bajo presión en concentradores de peso molecular 10.000, es el antígeno que se empleó en ELISA y western blot.

Test de ELISA

En el diagnóstico de Trichinellosis por enzimoimmunoensayo (ELISA) se utilizaron antígenos excretores/secretores recogidos de larvas de *T. spiralis* (ISS 643). La técnica se realizó sobre un soporte sólido de polivinilo con pocillos de fondo plano (Maxisorp). Los pocillos se sensibilizaron con 100 ul de antígeno diluido a una concentración de 5 ug/ml en buffer carbonato-bicarbonato pH 9,6. La placa con el antígeno diluido se incubó toda la noche a 4°C. Después se lavaron 3 veces durante 10 minutos con solución de lavado (PBS-Tween 20 al 0.05 %). Luego de los lavados se colocó la solución de bloqueo (100 ul/pocillo de PBS/Tween 20/albumina 3 %) y se incubó 30 minutos a 37 °C. Se repitieron los 3 enjuagues con la solución de lavado y la placa quedó en condiciones de uso. Para la prueba se colocaron 100 ul de suero incógnita diluido 1/250 en PBS/Tween 20 al 0.05 %/albumina 3 % y se incubaron 30 minutos a 37 °C.

Se lavaron nuevamente 3 veces como se indicó anteriormente. Se adicionó en cada pocillo 100 ul/de suero de conejo anti-cerdo IgG total, marcada con peroxidasa (Sigma A-5670) diluido 1/3000 en PBS/Tween 20 al 0.05% albumina 3 % se incubó 30 minutos a 37 °C. Se lavó nuevamente 3 veces. La reacción de color se desarrolló a temperatura ambiente por agregado de 100 ul/pocillo de 0.04 % de orthophenyldiamina (OPD) y 0.04 % de H2O2) en citrato, buffer fosfato, pH 5, (5 mg OPD, 12 ml de buffer citrato y 12 ul H2O2). Después se incubó 5 minutos en box sin luz.

La placa se leyó en un lector de ELISA a 450 nm.

El Dpto. de Parasitología determinó el cut off de ELISA basado en la media de la densidad óptica (DO) de sueros comprobadamente negativos más tres desvíos standard. Se emplearon los sueros de 120 cerdos de un criadero tecnificado y controlados parasitológicamente por digestión artificial. Para el diagnóstico de Trichinellosis porcina el resultado de ELISA se expresó como Relación de Positividad (RP). RP es un número sin unidades que se obtiene del cociente entre la Densidad Óptica (DO) de la muestra incógnita y el cut off de la prueba.

Método de western blot

Las proteínas del antígeno excretor/secretor fueron separadas por electroforesis usando una cuba (MR Biorad Miniprotein Slab cell) y transferidas a una membrana de nitrocelulosa a voltaje constante de 100 V por 1 hora. Luego la membrana se bloqueó con PBS leche 5 % y Tween 20 al 0.05 % toda la noche. La membrana transferida se cortó en tiras de 2 mm y se incubó con el suero porcino del animal incógnita, diluido 1:100, durante 1 hora con agitación permanente. Las tiras se lavaron 3 veces 10' con solución de lavado (PBS-Tween 20 al 0.05 %). Luego se hicieron reaccionar con suero de conejo anti-cerdo IgG total conjugado con peroxidasa (Sigma A-5670) diluido 1/8000, 1 hora a temperatura ambiente con agitación permanente. Se lavaron nuevamente con solución de lavado 2 veces durante 10 minutos. Las membranas marcadas se revelaron con solución DAB (Di amino bencidina 0.012 g, PBS 1x, 20 ml y H2O2 ul). El western blot se consideró positivo cuando se evidenciaron los 3 grupos de antígenos principales identificados por los pesos moleculares de 49, 52 y 54 KDa.

EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE INMUNODIAGNÓSTICO EN CERDOS

El sistema de diagnóstico se evaluó en una piara de 293 cerdos de la localidad de Santa Clara de Saguier, Provincia de Santa Fe por personal docente de las Cátedras de Parasitología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral. Los cerdos se encuentran en un establecimiento con muy poca tecnificación y escasa sanidad, el canibalismo es frecuente, también se observan cuevas de peludos, nidos de ratas, y árboles viejos ahuecados donde hay comadrejas. El basurero municipal a cielo abierto se encuentra a 1000 metros de la chacra.

El estudio inmunológico se realizó en el período enero de 2002, abril de 2003. Ciento cincuenta y ocho animales fueron menores de 6 meses de edad (53.9 %) y 135 mayores (46.1 %). Se realizaron 4 tomas de sangre dentro del período de estudio: enero, octubre y diciembre de 2002 y abril de 2003.

La extracción de sangre se hizo según el procedimiento de Peralta (Facultad de Ciencias Veterinarias de Esperanza), ingresando con la aguja de la jeringa por debajo del tercer párpado hacia el ángulo nasal del ojo. Este procedimiento permite la toma de 6 cm de sangre sin ningún inconveniente.

La estrategia de utilizar un sistema inmunológico para diagnosticar Trichinellosis en las piaras, se basa en la complementariedad de la combinación de ELISA para la identificación de animales sospechosos y western blot para confirmación inmunológica del diagnóstico positivo, el par reactivo le da identidad a los animales verdaderamente parasitados.

El sistema de diagnóstico se interpreta negativo cuando ELISA es negativo ($RP < 1$), es indeterminado cuando ELISA es positivo y el western blot negativo ($RP > 1$ y wb -) y el sistema es positivo cuando ELISA y western blot son ambos positivos ($RP > 1$ y wb +). Las técnicas se evaluarán por la sensibilidad, especificidad, los valores predictivos de los resultados positivos y negativos y la eficiencia global.

En el año 1998 se realizó un estudio previo para conocer el comportamiento de las técnicas en condiciones de campo, para esto se analizó una piara infectada en Carmen de Patagones y enviada al frigorífico por SENASA con triquinoscopia, ELISA, western blot y digestión artificial.

Con este conocimiento se analizaron los 293 cerdos de Santa Clara de Saguier que ingresaron al estudio. En el cuadro V se observa el comportamiento del sistema en los cerdos distribuidos según el número de exámenes que se le hicieron a cada animal.

Cuadro V.- Estudio inmunológico en 293 cerdos distribuidos según el número de exámenes y el resultado del sistema de diagnóstico. INEI, ANLIS "Malbrán" 2003

Nº de exámenes por cerdo	total de cerdos	Sistema de diagnóstico		
		negativo	indiferenciado	positivo
0	6	-	-	-
1	98	60	37	1
2	73	47	23	3
3	109	53	45	11
4	7	3	3	1
total	293	163 (56.8)	108 (37.6 %)	16 (5.6%)

En el cuadro VI se observa la distribución de los cerdos según dos grupos de edad: menores de 6 meses y mayores de esa edad y los resultados del sistema de diagnóstico en cada grupo.

Cuadro VI.- Sistema de diagnóstico en 293 cerdos estratificados según la edad en menores y mayores de 6 meses de edad. INEI, ANLIS "Malbrán". 2003

Edad (en meses)	Sistema de diagnóstico		
	negativo	indiferenciado	positivo
< 6	70 (44 %)	76 (48 %)	12 (8 %)
> 6	96 (71.1 %)	31 (23.1 %)	8 (5.8 %)

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

La eficacia de los sistemas de diagnóstico se basan en la capacidad que tienen para identificar a los cerdos que están verdaderamente parasitados con larvas de trichinella spiralis. Como la Trichinellosis porcina es una enfermedad asintomática, es imprescindible que el resultado negativo sea absolutamente confiable, por lo tanto no es aceptable que las técnicas que se utilizan para el diagnóstico produzcan resultados serológicos falsos negativos. Por el contrario se requiere que el resultado positivo sugiera con una probabilidad elevada que el cerdo alberga larvas del nematode.

En otro trabajo, Molina y col. 2003, donde procesaron sueros de cerdos que padecieron una infección experimental, demostraron que la performance de las pruebas de diagnóstico guardaban relación con la densidad de parásitos que tenían en el tejido muscular, así los sueros de cerdos que albergaban más de 7 larvas por gramo, por ELISA y western blot y sus carnes por digestión artificial, tuvieron una eficiencia del 100 %, lo cual equivale a que cualquiera de las tres pruebas fue apta para identificar a los cerdos parasitados, mientras que en los cerdos que tuvieron 1 o 2 larvas por gramo, solamente ELISA fue 100 % efectiva para diagnosticar Trichinellosis. Western blot y la digestión artificial, en cerdos con baja carga de larvas, tienen baja sensibilidad y un valor predictivo del resultado negativo bajo y si hubieran sido las técnicas de elección habrían dejado pasar al consumo cerdos que eran falsos negativos.

El comportamiento individual de las pruebas del sistema es disímil, ELISA es el método de preferencia por ser fácil, sencilla y muy sensible, se estima que detecta los anticuerpos que genera 1 larva en 100 g de músculo estriado, además permite elaborar simultáneamente un número grande de sueros con buena performance.

La conducta del western blot sugeriría que si los cerdos están parasitados con pocas larvas, las proteínas que detectan no siempre están presentes o lo están de manera irregular, sin embargo generarían anticuerpos que son altamente específicos y cuando están presentes confirman el diagnóstico. La digestión artificial es también un método poco sensible pero sin embargo es el único que permite la confirmación parasitológica de la Trichinellosis.

Es el análisis de los test de diagnóstico inmunológico el valor de la prevalencia no influye en la sensibilidad y especificidad de las pruebas, pero incide sobre los resultados de los valores predictivos positivos y negativos que son la medida de los exámenes incorrectos que se deben ajustar. Esto impedirá que pasen al consumo cerdos parasitados que fueron falsos negativos inmunológicos.

Si bien los cerdos están reunidos en piaras, la Trichinellosis es un problema de diagnóstico individual, por lo tanto interesa conocer las propiedades intrínsecas de cada ensayo y su comportamiento en condiciones de campo. Paoletti y col. Analizaron el comportamiento de las pruebas de diagnóstico, en 27 cerdos con infección natural integrantes de una piara de 30 animales en Carmen de Patagones (comunicación personal). En el cuadro VII se muestran sus resultados.

Cuadro VII.- Evaluación de los test de diagnóstico en Trichinellosis porcina con infección natural. INEI, ANLIS "Malbrán". 2003

	Triquinoscopía	Digestión artificial	ELISA	Westernblot
Sensibilidad	70.3%	100%	100%	100%
Especificidad	100%	100%	66.6%	100%
Valor Predictivo+	100%	100%	96.4%	100%
Valor Predictivo-	27.2%	100%	100%	100%
Efectividad	73%	100%	96.6%	100%

De los 27 animales positivos, hubo 24 donde el número de parásitos varió entre 10 y 461 larvas/gramo y en los 3 restantes entre 3 y 6 larvas/gramo, este nivel de parásitos explica porque la digestión artificial y el western blot fueron el 100 % positivos en todas las evaluaciones de cada prueba.

Otro aspecto importante de las técnicas inmunológicas es que se establece un período de latencia entre el momento de la ingestión de la comida infectante y la aparición de los anticuerpos circulantes, a este lapso se le llama "período de ventana" (Smith y col. 1989), ELISA tiene un período que varía de acuerdo con la densidad parasitaria entre 21 y 63 días. El período de ventana del western blot se determinó por primera vez en el año 2003 por Molina y col., (trabajo en prensa). Observaron que sobre 11 animales con infección controlada el período nunca fue más corto que el de ELISA, pero si se desagregan por la densidad parasitaria, el suero de los cerdos con carga alta tuvieron el mismo período ventana por ELISA y western blot, mientras que los animales con cargas bajas dieron el western blot negativo o se hizo positivo 2 o 3 semanas después de ELISA.

Con el conocimiento de estas experiencias previas, se consideraron los resultados del sistema de identificación/confirmación en los 293 cerdos de Santa Clara de Saguier. Los 163 cerdos (56.8 %) que fueron ELISA negativos, se asumió que no estaban parasitados o tenían menos de 1 larva/gramo de músculo, por consiguiente su ingesta no entrañó ningún riesgo sanitario. Los 16 animales (5.6 %) que fueron positivos a los dos ensayos del sistema, se los consideró verdaderamente parasitados y por tanto el digestor fue su destino inmediato. La interpretación compleja de los resultados se planteó con los 108 cerdos (37,6 %) que tenían ELISA positivo/western blot negativo. El resultado discordante entre estas dos técnicas produce un diagnóstico que se denomina indeterminado.

Para interpretar esta discordancia de los resultados en condiciones de campo, se debe tener en cuenta que hay circunstancias desconocidas que son decisivas para evaluar correctamente los resultados, hay determinantes biológicas, parasitológicas, e inmunológicas tales como, el momento en que se produjo la infección, la carga parasitaria de la comida infectante, las infecciones concomitantes por otros nematodos y helmintos, el peso del efecto dilución, entendiendo como tal el aumento de la masa muscular y la volemia sin aumento correlativo del número de larvas que produjeron la infección, las infecciones repetidas por *Trichinella*, y el nivel de la respuesta inmune de cada animal.

También se deben tener en cuenta los factores inherentes a las técnicas de diagnóstico, entre los que se destacan las cualidades propias del ensayo, así ELISA es una técnica de muy alta sensibilidad y baja especificidad, tiene la desventaja que sobrestima los resultados positivos, dando resultados falsos positivos, western blot tiene muy alta especificidad y baja sensibilidad, tiene la limitación que sobrestima los resultados negativos, dando resultados falsos negativos. El sistema de diagnóstico ELISA/western blot toma las ventajas de cada prueba para minimizar los resultados falsos.

La mayor dificultad para interpretar los resultados de campo es el desconocimiento de la densidad de larvas que albergan los cerdos positivos.

Si bien tienen menos de 2 larvas por gramo de músculo pueden ser ELISA positivo pero el western blot será negativo.

Finalmente interesa la consideración del período de ventana dado que es posible que la toma de sangre se realice en algún momento de este período de silencio inmunológico, lo cual influirá en la secuencia del diagnóstico final.

Esta suma de variables aconseja que los cerdos con resultado indiferenciado se consideren de alto riesgo, en cuyo caso el procedimiento sanitario sería en envío al frigorífico para que el examen parasitológico post-mortem decida el destino final de las reses.

La serología de los cerdos hace un aporte sustancial al conocimiento del riesgo potencial de sus carnes, una prueba de ELISA negativa asegura que los animales estuvieron libres de la enfermedad por lo menos hasta los últimos 63 días y si la carga hubiera sido alta fueron negativos hasta los últimos 21 días. En el primer caso la magnitud de la población de *Trichinella* y los tiempos de evolución del parásito al estadio L1 infectante, sugieren que hacia el último tercio del período de ventana la localización muscular podría estar estabilizada y producir enfermedad. En las infecciones con carga alta, la densidad y el tiempo de transformación en larvas L1 infectantes, están su máxima actividad, dado que el período de ventana es de solo 21 días de los cuales serían parasitológicamente útiles 15 o 16. Esto significa que las larvas se encuentran penetrando en el músculo, desarrolladas o formando los quistes parasitarios, por lo que la carne de estos animales si bien es positiva, el número de larvas L1 infectantes es bajo.

Si el western blot es positivo confirma que el animal es positivo y se deriva al digestor. Si western blot es negativo con ELISA positivo, se trata de un animal de riesgo sanitario, al que habría que repetirle los estudios o enviarlo a la faena para que la digestión artificial determine su destino ulterior.

La aplicación de la estrategia del despoblamiento sanitario, hubiera conducido al sacrificio de toda la piara por los resultados de la primera sangría, donde hubo un cerdo serológicamente positivo (el resultado se confirmó post mortem por digestión artificial), más aún se hubiera despoblado con la segunda sangría donde se diagnosticaron 3 cerdos positivos, sin embargo el análisis inmunológico de todos los animales de la piara identificó a 108 cerdos indeterminados que se podrían enviar ordenadamente al frigorífico, para sacrificarlos respetando los intereses del productor y los derechos a las carnes seguras que tiene la comunidad. Los 163 cerdos negativos se pueden disponer libremente para que completen los ciclos ganaderos y económicos que establezcan sus dueños.

Si se estableciera una unidad meses/cerdos/con seguridad alimentaria, en los cerdos de Santa Clara de Sagüier, se obtendría un valor de 1.830 meses/cerdos seguros, como resultado de la suma de los meses de todos los cerdos que en las 4 determinaciones serológicas se revelaron no reactivos.

Aún cuando no se valore el producto que generan los 108 cerdos indeterminados, la ganancia del sistema inmunológico para diagnóstico in vivo de la *Trichinellosis* porcina son los 163 animales que no se sacrificaron y que equivalen a 1.830 meses/cerdo con disponibilidad de carne segura.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Ribicich M. (1999) Triquinelosis. Estudio de la infección experimental en cerdos. Importancia económica y sanitaria del diagnóstico temprano. Tesina. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Buenos Aires.
- 2) Boletín de Vigilancia Epidemiológica. Ministerio de Salud Pública y Acción Social 1994.
- 3) Dirección de Estadísticas Vitales. Ministerio de Salud Pública. República Argentina. 1985
- 4) Dirección de Estadísticas Vitales. Ministerio de Salud Pública y Acción Social. República Argentina. 1994
- 5) Estudio de una epidemia de trichinellosis por ingestión de cerdo en 25 pacientes procedentes de Nogales, Dpto. Tafi, Tucumán, Agosto 1997. Antonio S., Recupero G., Ruiz O. y Gutiérrez G. 2º Congreso Argentino de Zoonosis y 1º Congreso Argentino y Latinoamericano de Enfermedades Emergentes, Bs.As. República Argentina, abril 1998.
- 6) Epidemiología descriptiva de focos de *Trichinellosis* en la provincia de La Pampa, durante 13 años. Otavianoni Luis Alberto. 2º Congreso Argentino de Zoonosis y 1º Congreso Argentino y Latinoamericano de Enfermedades Emergentes, Bs.As. República Argentina, abril 1998.
- 7) *Trichinellosis* en Tandil, provincia de Buenos Aires, República Argentina. González G., Gil S., Galufa I., Fernández A.S. 2º Congreso Argentino de Zoonosis y 1º Congreso Argentino y Latinoamericano de Enfermedades Emergentes, Bs.As. República Argentina, abril 1998.
- 8) Aspectos Epidemiológicos de la presentación de casos de *Trichinellosis* humana de origen comercial en la ciudad de Bahía Blanca (mayo-junio 1997). Giménez R., Caminoa R., Ledezma R., Maurizi D., Barberio P. 2º Congreso Argentino de Zoonosis y 1º Congreso Argentino y Latinoamericano de Enfermedades Emergentes, Bs.As. República Argentina, abril 1998.
- 9) Estudio de las Fuentes de Infección en un brote de Triquinelosis de la ciudad de El Trébol, Santa Fé. Goizueta J., Negro P., Roffinott D., Arduzzo G., Guspario E., Pagano F., Gazzera M., Bonifacio D., Gramaglia J., Givolici C. 1º Congreso Argentino y 1º Congreso Latinoamericano de Zoonosis, Bs.As. República Argentina, agosto 1995.
- 10) Triquinosis: Casuística de Muestras procedentes de faunas domésticas del partido de Tandil, Villalobo M.C. y Mallo R.A. 1º Congreso Argentino y 1º Congreso Latinoamericano de Zoonosis, Bs.As. República Argentina, agosto 1995.
- 11) Situación epidemiológica de la Triquinosis en la Provincia de Buenos Aires (informe preliminar 1998) Gustavo Montali y Marian Pouzo. Boletín veterinario. Septiembre 1999
- 12) Servicio Nacional de Seguridad Agroalimentaria, (SENASA) Anuarios 1993 y 1999. Ministerio de Economía. República Argentina.

[Volver a: Parasitosis porcinos](#)