## IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO SEROLÓGICAS EN TRICHINELLOSIS PORCINA: TÉCNICA INMUNOENZIMÁTICA DE DIAGNÓSTICO (ELISA)

Marcela L. Ruiz y Gabriel Morici. 2009. Veterinaria Argentina, 26(258). Del Libro Temas de Zoonosis IV, Editorial Asociación Argentina de Zoonosis, Cap. 44. www.produccion-animal.com.ar

## Volver a: Enf. parasitarias de los porcinos

La trichinellosis es una enfermedad transmitida por los alimentos que puede afectar al hombre cuando consume productos procesados sin cocción que contienen carne de cerdos infectada con larvas musculares de *Trichinella spiralis*<sup>1</sup>.

Entre los animales, la enfermedad se transmite por predación o por consumo de carroña.

Las dosis infectivas que pueden ocurrir en la naturaleza no producen signos de enfermedad clínica ni de pérdidas de producción en los cerdos<sup>2</sup>. Por esta razón la enfermedad es difícil de detectar aún en crianzas donde exista una observación frecuente de los animales. La forma de asegurar que la carne de cerdos que se comercializa no contenga larvas *T. spiralis* es mediante la realización de la técnica diagnóstica de digestión enzimática en las plantas de faena<sup>3</sup>.

Los cerdos que son criados por las familias rurales como una actividad que ayuda a su economía o a su subsistencia, usualmente no son alimentados en forma segura. Existe la creencia que el cerdo puede convertir cualquier cosa que consuma en carne y en grasa. Es frecuente entonces que se los alimente con residuos de industrias alimentarias, con restos de faena, con residuos recolectados de domicilios, y hasta con animales muertos de cualquier especie. Estos alimentos se proveen a los animales sin la cocción previa que podría eliminar el peligro de infección por *T. spiralis* y por otros agentes patógenos. Esto es así debido a pautas culturales y desconocimiento, pero también porque los combustibles necesarios para cocinar esos alimentos son caros y en algunas zonas, escasos. La desidia lleva en ocasiones a no eliminar los cadáveres de los cerdos que mueren por cualquier causa, dado que el resto los aprovechará como alimento.

En general, los cerdos criados en estas condiciones no acceden al circuito comercial y por lo tanto su carne no es controlada por la técnica de digestión enzimática. Cuando esto ocurre en provincias cuyo clima no es adecuado para la maduración y conservación de alimentos cárneos sin refrigeración y por lo tanto no está difundida la costumbre de preparar chacinados y salazones que luego se consumen sin cocción, no ocurren casos humanos de triquinosis. No obstante, la infección por *T. spiralis* puede estar presente en la población porcina y ser de difícil control, ya que las medidas de los programas sanitarios no llegan a las crianzas que están fuera del circuito comercial. En las provincias con mayor infraestructura, los productores de cerdos a nivel familiar que se hallan cercanos a los centros poblados, pueden llevar muestras de los cerdos faenados a los laboratorios de los municipios o de veterinarios privados para asegurarse que la carne que van a utilizar para elaborar sus chacinados no tenga larvas de *T. spiralis*<sup>4</sup>.

La única herramienta que permitiría conocer la difusión de la infección por *T. spiralis* en el circuito no comercial de crianza de cerdos es el diagnóstico serológico. Este se puede hacer a través de la aplicación de la técnica de ELISA con antígeno de ES y su confirmación por Western blot<sup>5</sup>. El conocimiento de la difusión geográfica de la infección, nos permitiría estudiar en forma más precisa la epidemiología de la enfermedad, no sólo en los porcinos sino también en la fauna sinantrópica y silvestre que puede actuar como reservorio. Con estos datos sería posible aplicar mejoras en la crianza tendientes a disminuir los factores de riesgo en las zonas afectadas<sup>4</sup>.

Algunas pruebas preliminares llevadas a cabo por nuestro laboratorio sobre un muestreo realizado por el SENASA en 2005 y 2006, nos han permitido detectar, por ejemplo, que en las crianzas familiares y para subsistencia, la infección se halla presente en algunas localidades afectando a animales de corta edad. Este es un hallazgo que nunca se podría haber conseguido en base a la aplicación de técnicas de diagnóstico directo post mortem y cuya importancia para el mantenimiento de la enfermedad en el ambiente y para un nivel mayor o menor de transmisión tenemos que continuar evaluando<sup>6</sup>.

El ensayo inmunoenzimático: "Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay" (ELISA) está ampliamente difundido para el diagnóstico serológico de muchas enfermedades.

Se basa en el uso de antígenos o de anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática pudiendo ser revelada mediante la adición de un

substrato específico que, en contacto con la enzima, produce un color observable a simple vista y cuantificable por un lector de densidad óptica.

La técnica de ELISA se caracteriza por presentar alta sensibilidad, especificidad, rapidez y economía, permitiendo analizar un gran número de muestras de manera sencilla y sin mayor infraestructura.

Debido a su sensibilidad, se pueden identificar animales positivos aún con infecciones tan bajas como una larva por cada 100 gramos de músculo<sup>1</sup>.

Los antígenos de excreción-secreción, se obtienen a partir de larvas musculares de *T. spiralis* colocadas en medio DMEM durante 18 horas a 37° C y en una atmósfera con 10% de CO<sub>2</sub>. En estas condiciones, las larvas liberan glicoproteínas contenidas en los gránulos de los esticocitos, un grupo de células que se hallan alrededor del esófago y con cuyo lumen se conectan a través de conductos. Los animales infectados tienen anticuerpos que reaccionan con estos antígenos porque son los mismos que las larvas infectivas liberan durante la fase intestinal y los que las nuevas larvas que infectarán sus músculos elaborarán y verterán en la célula nodriza para asegurar su permanencia. Estos antígenos corresponden a un grupo de glicoproteínas relacionadas con un peso molecular aproximado de 45-55 kDa<sup>7</sup>. Su utilización provee mayor especificidad que los antígenos de vermes adultos y que los antígenos somáticos utilizados anteriormente.<sup>8</sup>

Al igual que otras pruebas diagnósticas, ésta puede proveer resultados falsos negativos. Eso ocurre durante los períodos tempranos de la infección con *Trichinella* en lo que se denomina "período ventana", situación en la que los anticuerpos específicos no pueden ser detectados en el animal infectado. Nockler y col. en 2005 determinaron que el tiempo necesario para la seroconversión está relacionado con la dosis infectiva.

Por la técnica de ELISA la seroconversión en cerdos experimentalmente infectados con 100, 500 y 2.500 larvas de *T. spiralis* se evidenció a las 5-7, 4-5 y 4 semanas post infección respectivamente. Dosis mayores a 8.000 larvas produjeron seroconversiones tempranas: 2.5 a 3 semanas post infección.

Los anticuerpos séricos lgG, con una vida media de 23 días, declinan lentamente luego del pico de seroconversión. Cerdos infectados experimentalmente han mantenido reactividad positiva al ELISA por 80 a 130 semanas<sup>10</sup>.

Los sueros de los animales reactores positivos a ELISA se deben examinar, además, con la técnica de Western blot. Esta técnica posibilita la identificación de bandas polipeptídicas específicas por la unión de los anticuerpos presentes en los sueros positivos analizados. Se ha identificado un triplete característico de bandas localizadas entre 42 a 60 KDa en la membrana de nitrocelulosa, cuya presencia o ausencia es utilizada en la confirmación de los resultados obtenidos por ELISA.

La detección de lgG anti-trichinella en sueros de cerdos debería incluirse entre los diagnósticos que se realizan a los muestreos efectuados por los servicios de sanidad animal para conocer el estado sanitario respecto de otras enfermedades (Enfermedad de Aujeszky, peste porcina, etc.).

Su aplicación podría ser de utilidad para establecer áreas de riesgo en las que se deberían intensificar las medidas de control y áreas libres de *Trichinella* que, entre otras ventajas, podrían ofrecer al consumidor un producto diferenciado en la boca de expendio.<sup>4</sup>

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Pozio E, KD Murrell. Systematics and Epidemiology of Trichinella. Advances in Parasitology 2006; 63: 367-439.
- 2. Campbell WC, AC Cuckler. Further studies on the effect of thiabendazole on trichinosis in swine, with notes on the biology of the infection. J. Parasitol. 1966; 52: 260-279.
- 3. Gamble H, R Bessonov y col. International Commission on Trichinellosis: Recomendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. Veterinary Parasitology 2000; 93:393-408.
- 4. Caracostantogolo J; Steffan y col. Mejoramiento del control de la trichinellosis en Argentina: Proyecto TCP ARG 3003 entre la FAO y el Gobierno Argentino. En: *Mejoramiento del control de la trichinellosis*. FAO América Latina y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma 2007, 3-66.
- 5. Ruiz M, R Castaño Zubieta y col. Guía de procedimientos para el diagnóstico de Trichinellosis en Medicina Veterinaria. En: *Mejoramiento del control de la trichinellosis*. FAO América Latina y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma 2007.
- 6. Ruiz ML, M Martínez y col. (2008). Trichinellosis en Cerdos de Producciones Familiares de la Provincia de Buenos Aires: Estudio Serológico. II Congreso Latinoamericano de Zoonosis VI Congreso Argentino de Zoonosis. 18 al 20 de julio de 2008. Universidad Pontificia Católica Argentina. Buenos Aires. Argentina.
- 7. Gamble HR, WR Anderson, CE Graham, KD Murrell. Diagnosis of swine trichinosis by enzime-linked immunoabsorbent assay (ELISA) using an excretory/secretory antigen. Vet. Parasitol. 1983; 13, 349-361.
- 8. Murrell KD, Anderson y col. Field evatuation of the enzyme-linked immunoabsorbent assay for swine trichinosis: Efficacy of the excretory-secretory antigen. American Journal of Veterinary Research. 1986; 47(5): 1046-1049.
- 9. Smith HJ. Evaluation of the ELISA for the serological diagnosis of trichinosis in canadian swine. Canadian Journal of Veterinary Research. 1987; 51: 194-197.
- 10. Nöckler K, FJ Serrano, Boireau y col. Experimental Studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. Veterinary Parasitology. 2005; 132: 85-90.