

55
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

“SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS
ANTI -TRICHINELLA SPIRALIS Y SU
ASOCIACION A FACTORES DE RIESGO
EN CERRITOS, S. L. P.”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

ENRIQUETA PADILLA LOPEZ

ASESORES:

M. EN IBB. JORGE LUIS DE LA ROSA ARANA

DRA. DOLORES CORREA BELTRAN

M. V. Z. PABLO MARTINEZ LABAT

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO. 1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

262733



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES, N. A. M.

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

ATN: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Seroprevalencia de anticuerpos anti Trichinella spiralis y su asociación a factores de riesgo en Carritos, S.L.P.

que presenta la pasante: Enriqueta Padilla López
con número de cuenta: 8853623-3 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Biológica

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlan Izcalli, Edo. de Méx., a 30 de enero de 1998

PRESIDENTE	<u>M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez</u>	
VOCAL	<u>M.V.Z. Pablo Martínez Labat</u>	
SECRETARIO	<u>M.en C. Víctor M. Zendejas Buitrago</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>O.F.B. Hector Coss Garduño</u>	<u>H.P. Coss</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M.V.Z. Angel G. Martínez Sos</u>	

DEDICATORIAS

- A mi madre la señora **Modesta López**, ya que por ella llegué a cumplir ésta meta anhelada desde niña. Por tu gran ayuda, ejemplo, apoyo, y comprensión durante todo el tiempo muchas gracias mamá. Te quiero mucho.
- A mi padre el señor **Javier Padilla**, de quien he recibido apoyo en estos momentos. Te quiero mucho.
- A mi hija **Jackie Ana Pili**, por ser el gran tesoro y el pilar fundamental que la vida me ha dado, por quien siempre voy a tratar de ser mejor y triunfar en la vida. Te adoro.
- A mis hermanos **Heriberto, Victor, Alfonso, Nelly y Alejandro**, con los cuales he compartido grandes penas, momentos felices y satisfacciones en la vida, pero de quienes también he recibido apoyo y comprensión en los momentos clave. Gracias por ser parte de mi familia.
- A todas mis tías, tíos, mi abuelito y primos con quien siempre comparto buenos momentos en la vida.
- A toda mi familia, con quien he vivido todos estos años momentos de alegría, tensión y todo lo bueno y malo que siempre ocurre en una familia como lo es nuestra gran familia **Padilla**.
- A **Balbi y Elias** por su apoyo para que este trabajo fuera una realidad. Gracias.
- A la memoria de **Luis** por ser parte importante en mi vida y de quien guardo gratos recuerdos, dedico triunfante este trabajo, como algún día se lo prometí.
- A **Martín**, que aunque nuestras vidas han tomado rumbos diferentes, no olvido los momentos vividos.
- A todos aquellos que de alguna manera han influido en parte de mi vida. Gracias

AGRADECIMIENTOS

- A la **M. en IBB. Dolores Correa** por aceptarme en tu laboratorio, ya que con tu gran ayuda y apoyo fue que pude ver realizado este objetivo. Muchas gracias Lola.
- Al **M. en IBB. Jorge Luis de la Rosa** a quien tengo que agradecer infinitamente tu gran apoyo, dedicación, ayuda y enseñanza durante el desarrollo de este trabajo, ya que sin él no se hubiese podido desarrollar ni concluir. A ti te debo lo que aprendí. Muchas gracias Jorge.
- Al **epidemiólogo Juan G. Aranda** por obsequiarnos las muestras de suero y, además el análisis estadístico en este estudio epidemiológico. Gracias.
- A **Raquel**, ya que gracias a ti pude incorporarme al grupo de trabajo de Lola en el Departamento de Inmunoparasitología. Gracias por brindarme tu amistad, y ser mi amiga desde la FES-Cuautitlán.
- A mis **amigas del INDRE**: Isabel Alcántara, América Mandujano, Zoila Morales, por todas las dudas que me resolvieron en el laboratorio del Departamento de Inmunoparasitología.
- A todos mis demás **compañeros del INDRE**, con quienes conviví mucho durante el desarrollo de ésta tesis.
- A mis **sinodales**: M.V.Z. Gerardo Cruz, M.V.Z. Pablo Martínez Labat, M. en C. Victor Zendejas, M.V.Z. Angel Martínez, por sus observaciones y porque de ellos aprendí que materias como la microbiología, inmunología y parasitología son realmente excepcionales e interesantes. Gracias por sus comentarios.
- A mis **amigas de FES-Cuautitlán**: Lupita Canseco, Lupita Godínez, Coco, Raquel, Alma, Verónica, Edith Soriano, Margarita Zaragoza, Margarita Solano, Norma, por todos los momentos felices, por los momentos de desesperación y tensión nerviosa que pasamos juntas principalmente en exámenes, pero que ahora sólo son anécdotas en nuestra vida, porque todas culminemos con la meta que en algún momento nos planteámos. Gracias por ser mis amigas.

INDICE	
Glosario	i
Indice de cuadros y figuras	ii
Resumen	iii
1.0 Introducción	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Biología	3
1.2.1 Clasificación taxonómica del género <i>Trichinella</i>	5
1.2.2 Morfología de <i>Trichinella spiralis</i>	6
1.2.3 Ciclo de vida de <i>Trichinella spiralis</i>	8
1.3 Inmunobiología	11
1.4 La enfermedad	12
1.4.1 Signos y síntomas	12
1.4.2 Diagnóstico de la triquinosis	13
1.4.3 Tratamiento de la triquinosis	15
2.0 Epidemiología	16
3.0 Justificación	23
4.0 Objetivos	24
5.0 Materiales y métodos	25
5.1 Población del estudio epidemiológico	25
5.2 Mantenimiento de la cepa de <i>Trichinella spiralis</i>	27
5.3 Digestión artificial	27
5.4 Preparación del extracto soluble antigénico	28
5.5 Preparación de los productos de excreción y secreción	28
5.6 Técnicas inmunoenzimáticas	29
5.6.1 ELISA	29
5.6.1.1 Punto de corte en el ELISA	30
5.6.2 IET	31
5.7 Análisis estadístico	34
6.0 Resultados	35
6.1 Producción de antígenos	35
6.2 Estudio epidemiológico en Cerritos, S.L.P.	36
6.2.1 Detección de anticuerpos por ELISA empleando ESA	36
6.2.2 Reactividad de los sueros positivos hacia el ESA por IET	37
6.2.3 Reactividad de los sueros positivos hacia los PES por ELISA	41
6.2.4 Reactividad de los sueros positivos hacia los PES por IET	41
6.2.5 Análisis de los factores de riesgo	46
7.0 Discusión	49
8.0 Conclusiones	54
9.0 Referencias	55

GLOSARIO

A	absorbancia	PBS	amortiguador de fosfatos 0.01M, NaCl 0.15M, pH 7.2
α -	<i>anti</i> -, haciendo referencia a anticuerpos	PBS-tween	amortiguador de fosfatos/salina (PBS) con polioxietilensorbital monolaurato (tween 20) al 0.5%
ac	anticuerpo	PES	productos de excreción y secreción obtenidos del cultivo <i>in vitro</i> de la larva infectiva
ag	antígeno	pH	potencial de Hidrógeno
dpi	días post infección	PM	peso molecular
ELISA	ensayo inmunoenzimático (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)	PMSF	fenil metil sulfonil fluoruro ó α -toluenosulfonil fluorido, inhibidor de serina-proteasas y cisteína-proteasas.
ESA	extracto soluble antigénico de la larva infectiva, enriquecido con componentes de superficie y esticosoma	RPMI	medio de cultivo para células eucariotas; contiene aminoácidos, vitaminas, sales inorgánicas, glucosa, hepes, glutation y rojo fenol
g	gramos	TLCK	N- α -p-tosil-lisina clorometil cetona, inhibidor competitivo de tripsina y de papaina
h	horas	TPCK	L-1-tosilamida 2 feniletíl clorometil cetona, inhibidor competitivo de quimi tripsina y de papaina
hpi	horas post infección	tris-base	tris hidroximetil aminometano
H ₂ O ₂	peróxido de hidrógeno	tween 20	polioxietilensorbital monolaurato
H ₂ SO ₄	ácido sulfúrico	U/mL	unidades por mililitro
HCl	ácido clorhídrico	xg	gravedades
IET	inmunolectrotransferencia ó Western blot		
IgG	inmunoglobulina de la clase G		
kDa	kilo Dalton		
L ₁	larva infectiva de <i>Trichinella</i> , estado en que se encuentra encapsulada en una célula nodriza en el músculo del hospedero		
LRN	larva recién nacida de <i>Trichinella</i>		
M	molaridad		
mA	miliamperes		
μ g	microgramos		
mg	miligramos		
μ g/mL	microgramos por mililitro		
MgCl ₂ ·6H ₂ O	cloruro de magnesio hexahidratado		
min	minutos		
μ L	microlitros		
mL	mililitros		
mm	milímetro		
mM	milimolar		
N	normalidad		
NaCl	cloruro de sodio		
NaOH	hidróxido de sodio		
°C	grados centígrados		

CUADROS

FIGURAS

Número	contenido	página	Número	contenido	página
01	Distribución geográfica e infectividad de los grupos genéticos de <i>Trichinella</i>	4	01	Distribución mundial del género <i>Trichinella</i>	4
02	Estudios de autopsias desde 1939 hasta 1974	17	02	Esquema de la morfología de <i>Trichinella spiralis</i>	7
03	Brotos oficiales reportados en México desde 1978-1995	18	03	Ciclo de vida de <i>Trichinella spiralis</i>	10
04	Soluciones para preparar el gel inferior (separador) de electroforesis	31	04	Brotos y casos de triquinelosis oficialmente registrados en la República Mexicana	22
05	Soluciones para preparar el gel superior (concentrador) de electroforesis	32	05	Electroforesis en geles de poliacrilamida del ESA y de los PES de la larva infectiva	35
06	Frecuencia del reconocimiento antigénico de las bandas de los sueros ELISA/ESA positivos por IET	39	06	Distribución de frecuencia de la absorbancias de los sueros de Cerritos, S.L.P.	36
07	Frecuencia del reconocimiento antigénico de las bandas de los sueros ELISA/PES positivos por IET	43	07	Reactividad de los sueros positivos por IET hacia el ESA	38
08	Número de sueros positivos reconocidos en los ensayos ELISA/ESA/PES e IET/ESA/PES.	44	08	Frecuencia del reconocimiento antigénico de los sueros ELISA/ESA positivos en IET	40
09	Seroprevalencia en Cerritos, S.L.P según técnicas y antígenos utilizados	45	09	Reactividad de los sueros positivos por IET hacia los PES	42
10	Variables observadas en la encuesta epidemiológica (análisis univariado)	46	10	Frecuencia del reconocimiento antigénico de los sueros ELISA/PES positivos en IET	44
11	Factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos en ELISA/ESA	47			

RESUMEN

La triquinosis es una zoonosis cosmopolita causada por la larva infectiva (L1) del nemátodo *Trichinella*. El hospedador potencial se infecta cuando consume carne cruda o insuficientemente cocida que alberga a la larva infectiva. El ciclo de vida del helminto se lleva a cabo en el mismo hospedador e involucra dos fases: una entérica y otra parenteral. En el caso de la triquinosis humana, la diversidad de signos y síntomas que se presentan durante ambas fases incluyen fiebre, diarrea, mialgia, edema facial, entre otros, los cuales pueden confundir el diagnóstico clínico de triquinosis con otras enfermedades como fiebre tifoidea, brucelosis, faringitis, cisticercosis, entre otros.

Para apoyar el diagnóstico clínico de la triquinosis, se han empleado varios métodos que permiten detectar la presencia de anticuerpos anti-*Trichinella*; los cuales abarcan desde los más generales, hasta los más sensibles y específicos, como el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y la inmunoelectrotransferencia (IET). Sin embargo y a pesar de la existencia de estas técnicas, aún no se han realizado estudios que estimen la prevalencia de anticuerpos anti-*T. spiralis* a nivel nacional, aunque se tiene conocimiento de la existencia de varios reportes clínicos que involucran casos aislados o brotes. Hasta la fecha, sólo se dispone de la información obtenida antes de la década de los años 80's mediante la inspección del músculo esquelético de cadáveres humanos y de animales. Algunos estudios que involucraron métodos inmunológicos realizados en la cd. de México y en Chiapas, reportaron una prevalencia de anticuerpos del 14.4% (Perrin, 1942) y 2.88% (Cabrera, 1977) respectivamente.

Considerando en este trabajo la ausencia virtual de reacciones cruzadas en el inmunodiagnóstico de triquinosis, se efectuó un estudio epidemiológico de corte transversal en una población semirural sana de San Luis Potosí (n = 954), empleando como prueba preliminar el ELISA sensibilizado con un extracto soluble antigénico de la larva infectiva (ESA), con el cual se observó una positividad del 1.9% (n=18). Las muestras positivas y 90 sueros negativos seleccionados de manera aleatoria (10% del total de sueros), se sometieron a IET utilizando el ESA como antígeno; los sueros positivos reaccionaron con el antígeno y adicionalmente se observó que una muestra del grupo negativo reconoció una banda de 59 kDa. Con la finalidad de realizar el inmunodiagnóstico con un antígeno específico de *Trichinella spiralis* se utilizaron los productos de excreción y secreción (PES) de la larva infectiva en el ELISA, en el cual se confirmaron 10 de los 18 sueros positivos y no hubo ninguna muestra positiva del grupo de los 90 sueros negativos. Usando los PES como antígeno en la IET, 15 de los 18 sueros positivos reaccionaron con el antígeno; el suero negativo que reaccionó con el ESA por IET, también reaccionó con los PES. Los factores de riesgo que se asociaron con la presencia de anticuerpos fueron pertenecer al sexo femenino ($\chi^2 = 5.66$) y comer moronga ($\chi^2 = 3.31$). Estos resultados apoyan la presencia de triquinosis endémica en la región. Además los factores de riesgo encontrados son los clásicamente asociados a triquinosis confirmada en brotes epidémicos y en estudios de necropsias, lo cual nos sugiere que probablemente la triquinosis esté subestimada debido a la presencia de casos asintomáticos o mal diagnosticados en esa población.

1. INTRODUCCION

1.1 ANTECEDENTES

La triquinelosis es una zoonosis de origen alimentario causada por la larva infectiva del nemátodo *Trichinella*, la cual parasita el músculo esquelético de un gran número de especies de mamíferos, incluyendo al ser humano (Despommier, 1983; Martínez-Marañón, 1985). El estudio de *Trichinella spiralis* se inició entre los años 1828 a 1835 en Europa cuando Peacock (1828) descubrió helmintos encapsulados en el músculo esquelético de cadáveres humanos, de la misma manera que lo hicieron Hilton en 1833 y Paget en 1835. Richard Owen (1835) fué quien primero describió y dió nombre a estos helmintos denominándolos *Trichinella spiralis*, debido a la forma en espiral en que éstos se disponían al estar alojados en las fibras musculares. En 1846 Leidy demostró la presencia de larvas enquistadas en carne de cerdo, remarcando la similitud de éstas con las encontradas en el humano. Posteriormente las investigaciones de Leuckart (1853-1860) y de Virchow (1858-1860) lograron reproducir el ciclo vital de *Trichinella spiralis* en animales de experimentación y, en el mismo año (1860), Friedrich Von Zenker al realizar una autopsia en el cadáver de una campesina alemana que había muerto de tifoidea atípica encontró la fase intestinal y muscular del parásito, de esta manera se reconoció por primera vez la patogenicidad de *Trichinella spiralis*. En 1897, Brown demostró que la hipereosinofilia es sugestiva de triquinelosis (Beaver *et al.*, 1990). Posteriormente hubo la descripción de otros casos y a finales del siglo XIX y principios del XX la enfermedad producida por este parásito denominada triquinelosis fué reconocida como un problema de salud pública (Campbell, 1983).

Se ha observado la presencia de estas larvas en estudios de corte efectuados en animales sinantrópicos como perros, gatos y cerdos (Arriaga *et al.*, 1989; Dame *et al.*, 1989; Mazzotti y Nuñez, 1948), así como en ratas capturadas en mercados públicos de la ciudad de México (Mazzotti y Alcántar, 1954) y en granjas porcícolas de los Estados Unidos (Leiby *et al.*, 1990). También se han encontrado en caballos procedentes del Zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México (Yépez, 1994b). En animales silvestres los hallazgos de *Trichinella* sp. son frecuentes (Kapel, 1995).

En la actualidad, la prevalencia de esta parasitosis en los países industrializados es baja, ya que cuentan con una estrecha vigilancia epidemiológica (CDC, 1991;

McAuley *et al.*, 1991); sin embargo, en los países en vías de desarrollo, como México, aún no se han documentado datos precisos sobre la prevalencia y distribución de la triquinelosis, pero existen estudios sobre la aparición de casos clínicos y brotes en algunos estados, los cuales sugieren que es un importante problema de salud pública (Hernández *et al.*, 1992; Kim, 1983; Kolata, 1985; Martínez-Marañón *et al.*, 1979; Sarti *et al.*, 1986). En México, esta parasitosis sólo se diagnostica clínica y oportunamente en algunas entidades como el Estado de México, Chihuahua, Zacatecas y el Distrito Federal (Fragoso, 1981; Martínez-Marañón, 1979). De manera general, la triquinelosis en México, es diagnosticada incorrectamente y confundida con otras enfermedades como brucelosis, fiebre tifoidea, intoxicación alimentaria, entre otras (Martínez-Marañón *et al.*, 1979; Martínez-Marañón, 1985; Fragoso, 1981; Cabral *et al.*, 1989).

Este trabajo de tesis constituye un estudio de corte transversal para determinar la seroprevalencia de anticuerpos específicos contra la larva infectiva de *Trichinella spiralis* en muestras de suero procedentes de sangre periférica de individuos pertenecientes a una población semirural del Estado de San Luis Potosí, mediante métodos inmunoenzimáticos (ELISA e INMUNOELECTROTRANSFERENCIA), además, se analizan los factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos.

1.2 BIOLOGIA

Se sabe que el género *Trichinella* tiene distribución mundial y cuenta con ocho tipos genéticos, T1 a T8 (Cuadro 1), porque entre ellos se presentan diferencias de aspecto isoenzimático, de infectividad en cerdos, ratas y pájaros, de fertilidad; de presencia/ausencia de célula nodriza, de resistencia al congelamiento, y de inducibilidad de choque anafiláctico. De los ocho grupos genéticos, cinco han sido clasificados como especies porque, además de las diferencias en las características anteriores, se ha observado que algunos genes tienen secuencias diferentes: *T. spiralis* (T1), *T. nativa* (T2), *T. britovi* (T3), *T. pseudospiralis* (T4) y *T. nelsoni* (T7). A causa de que las relaciones filogenéticas de los tipos genéticos T5, T6 y T8 no han sido esclarecidas, aún no se les ha asignado la categoría de especie. En estudios de biología molecular, no se han observado diferencias en las secuencias génicas de estos grupos, de hecho, las secuencias de los genes estudiados se parecen a los de *T. nativa*, lo cual, en términos filogenéticos, los ubicaría más cerca de esta especie que de cualquier otra del género *Trichinella* (Mikhail *et al.*, 1994; Pozio *et al.*, 1992; Snyder *et al.*, 1993).

Aunque la distribución del género *Trichinella* es cosmopolita, cada una de las especies y tipos genéticos son infectivas para el hombre y se distribuyen de manera particular en el mundo (Fig. 1) : *T. spiralis* y *T. pseudoespiralis* son cosmopolitas, *T. nativa* se encuentra en las zonas árticas y subárticas, *T. nelsoni* en África tropical y *T. britovi* en la zona templada del paleártico (Belosevic y Dick, 1979; Pozio *et al.*, 1989a).

Cuadro 1: Distribución geográfica e infectividad de los grupos genéticos de *Trichinella*.

Especie	Genotipo (T1- T8)	Distribución Geográfica	Características Biológicas
<i>T. spiralis</i>	T1	Cosmopolita	Alta infectividad en roedores y cerdos.
<i>T. pseudospiralis</i>	T4	Cosmopolita	Infecta aves; no forma célula nodriza.
<i>T. nelsoni</i>	T7	África Tropical	Baja infectividad en ratas y cerdos; lento desarrollo de célula nodriza; no resiste la refrigeración.
<i>T. nativa</i>	T2	Ártico y Subártico	Alta resistencia a la refrigeración.
<i>T. britovi</i>	T3	Zona Templada del Paleártico	Baja infectividad en ratas y ratones; baja resistencia a la refrigeración.
<i>Trichinella</i>	T5	Región Norártico	Fenotipo de <i>T. britovi</i> .
<i>Trichinella</i>	T6	Área Subártica	Fenotipo de <i>T. nativa</i> .
<i>Trichinella</i>	T8	África Subtropical	Fenotipo de <i>T. britovi</i> .

(Adaptado de Daniels *et al*, 1996; y Wakelin y Goyal, 1996)



Fig. 1 Distribución mundial del género *Trichinella*. Tomado de Pozio *et al*, 1989.

1.2.1 Clasificación taxonómica del género *Trichinella*¹

REINO	<i>Animalia</i>
SUBREINO	<i>Metazoa</i>
RAMA	<i>Eumetazoa</i>
GRADO	<i>Bilateria</i>
DIVISION	<i>Protostomia</i>
SUBDIVISION	<i>Pseudocoelelomata</i>
SUPERPHYLUM	<i>Aschelminthes</i>
PHYLUM	<i>Nematoda</i>
CLASE	<i>Afasmidia</i>
ORDEN	<i>Enoplida</i>
SUBORDEN	<i>Enoplina</i>
SUPERFAMILIA	<i>Trichinelloidea</i>
FAMILIA	<i>Trichinellidae</i> (Ward 1907)

Trichinella spiralis (Owen, 1835).

Trichinella pseudoespiralis (Garkavi, 1972).

Trichinella nativa (Britov y Boev 1972).

Trichinella britovi (Pozio *et al.*, 1992).

Trichinella nelsoni (Pozio *et al.*, 1992).

Tipo genético T5.

Tipo genético T6.

Tipo genético T8.

¹ Adaptada de Lamothe y Garcia, 1988; Olsen, 1974; Pozio *et al.*, 1992.

1.2.2 Morfología de *Trichinella spiralis*

Trichinella spiralis es un helminto que tiene la parte posterior ligeramente más ancha que la parte anterior. El esófago consiste de una parte anterior pequeña y musculosa y una parte posterior más ancha y glandular llamada esticosoma, las células que constituyen el esticosoma, esticocitos, poseen gránulos secretores antigénicos que descargan en la luz del esófago. Los esticocitos se dividen en α y β dependiendo del tamaño de la secreción del gránulo (los esticocitos α secretan polipéptidos mayores a 50/55 kDa y los β secretan un polipéptido de 48 kDa), de la morfología y del gradiente de sedimentación del gránulo. El intestino del helminto es de tipo tubular y se abre en un ano casi terminal (Silberstein y Despommier, 1985).

Los machos miden entre 1.4 y 1.6 mm de longitud por 40 μm de diámetro. Las hembras miden de 3.0 a 4.0 mm de longitud por 60 μm de diámetro, las hembras pueden diferenciarse de los machos por presentar el extremo posterior romo y redondeado, mientras que los segundos presentan dos apéndices caudales lobulados y, como carácter distintivo del grupo, no presentan espículas copulatrices (Olsen, 1974; Lamothe y García, 1988). Las hembras presentan la vulva cerca de la mitad del esticosoma y poseen un solo ovario localizado en la parte posterior, el cual, produce óvulos de aproximadamente 25 μm de diámetro; cada óvulo presenta 36 cromosomas. Los machos producen espermatozoides de 2 o 3 cromosomas y no son flagelados, por lo que es éste quien determina el sexo de la descendencia: las células somáticas de las hembras tienen 6 cromosomas y las de los machos 5. Las larvas recién nacidas (LRN), miden 120 μm de longitud por 7 μm de diámetro y ellas representan la fase de invasión al músculo, una hembra adulta puede parir en promedio 1500 larvas en 3 o 4 semanas. La larva infectiva (L_1) se localiza en el músculo esquelético, mide aproximadamente 1.2 mm de longitud por 40 μm de diámetro y se encuentra rodeada de una cápsula de colágena (Despommier, 1983; Noble y Noble, 1965). En la figura 2 se muestra un esquema de la hembra y de la larva infectiva.

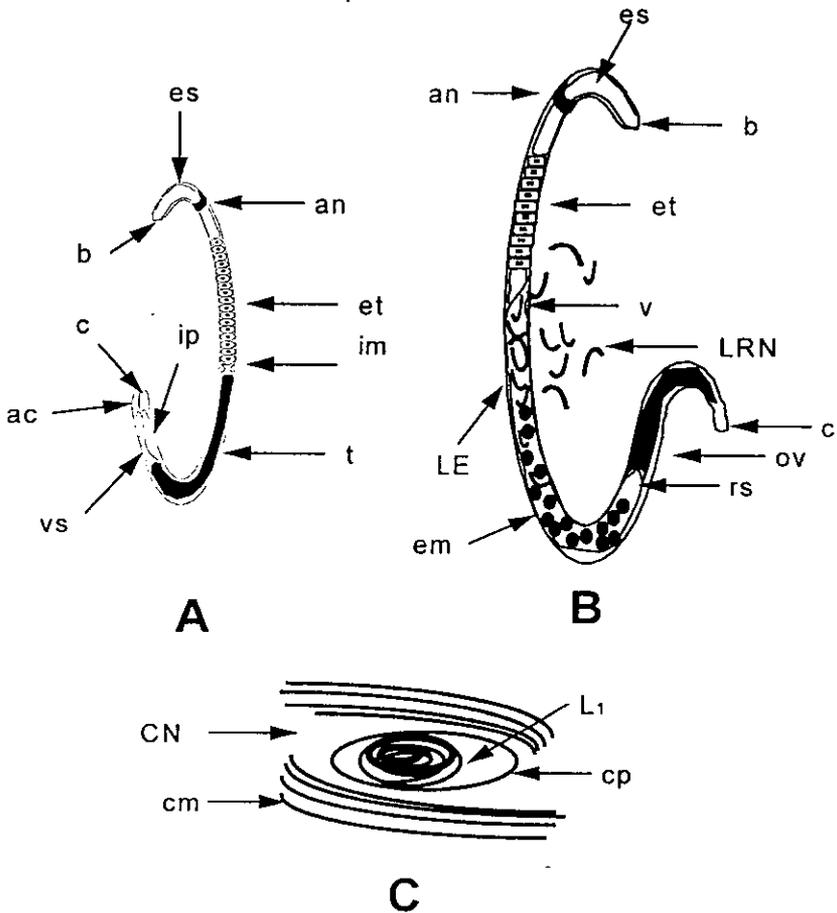


Figura 2. Esquema de la morfología de *Trichinella spiralis*. En A) se representa al macho, en B) a la hembra y a las larvas recién nacidas (LRN), en C) a la larva infectiva (L₁). Anillo nervioso (an), boca (b), cápsula (cp), célula muscular (cm), célula nodriza (CN), cloaca (c), embriones (em), esófago (es), esticosoma (et), intestino medio (im), intestino posterior (ip), larva infectiva (L₁), larvas en embriogénesis (LE), ovario (ov), receptáculo seminal (rs), testículo (t), vulva (v).

1.2.3 Ciclo de vida de *Trichinella spiralis*

Trichinella spiralis es considerado un parásito intracelular en el que todos sus estados de desarrollo ocurren en un solo hospedador. El ciclo de vida de este parásito se caracteriza por presentar dos fases: la entérica, donde pasa por cuatro estadios larvarios y el adulto; y la fase parenteral que incluye la migración de la larva recién nacida (LRN) y el establecimiento de la larva infectiva (L₁) en el músculo esquelético (Despommier, 1977; Stewart y Giannini, 1982).

Fase entérica.

El hombre, al igual que cualquier otro hospedador potencial, se infecta al ingerir carne cruda o insuficientemente cocida que alberga a la larva infectiva; en el estómago, estas larvas son liberadas del músculo esquelético por acción de los jugos gástricos. Una vez que las larvas han sido liberadas, ocupan aproximadamente diez minutos en emigrar e invadir el epitelio columnar y la lámina propia del intestino delgado. A pesar de que *T. spiralis* es capaz de ocupar cualquier parte del intestino delgado, generalmente se sitúa en el duodeno (Dick y Silver, 1980).

Treinta horas *post* infección (30 hpi), la larva infectiva sufre cuatro mudas (de L₂ a L₅) hasta convertirse en adulto; durante esta etapa de cambio, pasa por una morfogénesis extensa, remodelando la cutícula, células glandulares hipodérmicas, músculos, sistema nervioso, primordio genital, aparato digestivo y esticosoma. Finalmente, el hábitat del adulto consiste en una hilera de células epiteliales columnares del intestino, por lo que esta etapa es *intracelular*. A los cinco días *post* infección (5 dpi), la hembra llega a invadir hasta 425 células y el macho 152, pero no hay desintegración de las células del hospedero como resultado de la penetración del helminto (Despommier, 1983).

La cópula se efectúa presumiblemente dentro del nicho intracelular dentro de las siguientes 40 h (160 hpi); en este sentido, se ha identificado que, *in vitro*, las hembras producen una feromona que atrae con mayor intensidad a los machos que a las hembras (Belosevic y Dick, 1980). Los machos reptan hasta ocupar una hilera de células adyacentes a las que ocupan las hembras con las cuales van a copular. Se tiene estimado que un macho puede inseminar a dos hembras, ya que el promedio de adultos recuperados de infecciones experimentales es de dos hembras por macho (Olsen, 1974). Después de la inseminación, los machos mueren y son expelidos, mientras que las hembras aumentan de tamaño y penetran la mucosa intestinal, llegando, incluso al peritoneo y a los ganglios linfáticos mesentéricos.

Fase parenteral

Después de 90 horas de embriogénesis, las larvas recién nacidas (LRN) son paridas (11 dpi) y se introducen inmediatamente en la lámina propia y entran a la circulación arterial vía conducto torácico; pasan por el corazón y los pulmones hasta llegar a invadir las células del músculo esquelético, donde se establecen definitivamente. En estas células, las larvas inician un periodo de desarrollo *post* embrionario creciendo exponencialmente, la diferenciación ocurre entre los 4 y los 20 días después de la penetración (entre los 15 y 30 dpi). En esta etapa las larvas comienzan a enrollarse (de ahí el nombre de la especie: *Trichinella spiralis*) y a diferenciarse sexualmente. El helminto induce cambios profundos en los miocitos, en los que las estrias desaparecen y los filamentos contráctiles se desorganizan, se incrementa el número de mitocondrias y aumenta la actividad catalítica, así como aumenta el tamaño del núcleo y se reubica al centro de la célula, el glicocálix se hipertrofia y se transforma en una capa gruesa de colágena (cápsula o mal llamado quiste). La transformación de la célula muscular en célula nodriza (miocito molecular) dura aproximadamente 20 días (Despommier, 1990; Despommier *et al.*, 1991; Stewart y Giannini, 1982).

Finalmente la célula nodriza es rodeada de vénulas que servirán como medio de transporte desde y hacia el interior de la célula. En el desarrollo y mantenimiento de la

célula nodriza, se ha propuesto que la participación de una molécula de secreción de 43 kDa es fundamental, ya que se ha observado su presencia desde el día 8 *post* penetración y hasta después de seis meses *post* infección en el núcleo y en el citoplasma de la célula nodriza; aunque la función biológica de esta proteína no se conoce, se ha propuesto que interacciona directamente con el genoma de la célula, ya que el primer día que se detecta coincide con el aumento máximo del núcleo y del nucleólo (Despommier, 1990; Despommier *et al.*, 1991; Stewart y Giannini, 1982).

Se ha argumentado que la formación de la cápsula podría proteger a la larva de la respuesta inmunológica del hospedero (Bagheri *et al.*, 1986) y que además le podría conferir resistencia al congelamiento (Pozio *et al.*, 1989b). En algunos hospederos de vida no longeva, la célula nodriza mantiene viva a la larva infectiva durante toda la vida del animal; pero, en el ser humano se ha observado que la célula nodriza se calcifica y la larva L₁ muere en un tiempo indeterminado (Martínez-Marañón *et al.*, 1974). El ciclo se inicia nuevamente cuando la larva infectiva es transmitida a otro hospedero de la misma u otra especie (Despommier, 1983)(figura 3).

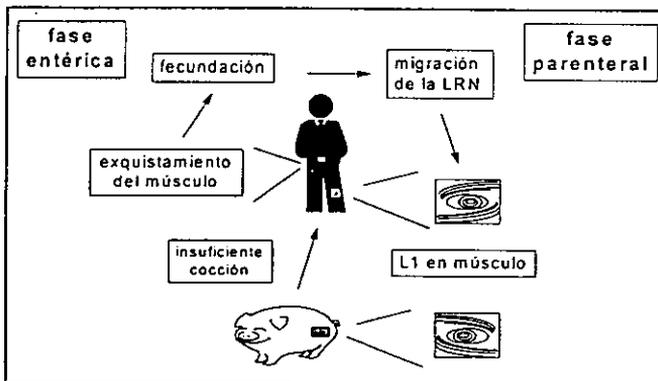


Figura 3. Ciclo de vida de *Trichinella spiralis*.

1.3 INMUNOBIOLOGÍA

La respuesta inmunológica hacia *Trichinella* ha sido ampliamente estudiada en diferentes condiciones y modelos experimentales (Almond *et al.*, 1986; Ortega-Pierres *et al.*, 1989; Parkhouse y Ortega-Pierres, 1984; Silberstein, 1983); de manera particular, el estudio de la *respuesta celular* se ha enfocado hacia la forma en que actúa sobre los estados entéricos (L2 a L5 y adulto).

Se ha observado que los linfocitos TH₂, al producir interleucinas 3, 4 y 5 regulan la reacción de inflamación en el intestino delgado; por un lado favorecen la infiltración y el aumento del número de células cebadas y eosinófilos y por el otro, aumentan las concentraciones de histamina, leucotrienos y algunas enzimas, con lo cual, la mucosa del intestino delgado se daña y se estimulan las contracciones peristálticas, que culminan con la expulsión de los helmintos. Este fenómeno causa la inhibición del desarrollo de los estados entéricos y la disminución de la fecundidad de las hembras (Despommier *et al.*, 1977; Wakelin y Wilson, 1980). También se ha observado en estudios *in vitro* que las células de la lámina propia del intestino (particularmente el duodeno, que es el primer sitio de contacto) se adhieren fuertemente a la superficie del helminto, bloqueando de esta manera la sobrevivencia de la larva recién nacida en el tejido muscular para transformarse en célula nodriza (Lee y Befus, 1989).

En el estudio de la *respuesta humoral* de los pacientes con triquinosis se han detectado anticuerpos de las clases IgE, IgA, IgM e IgG, donde la IgG es la clase principal de inmunoglobulina que se manifiesta durante el curso de la infección. En orden secuencial de aparición primero aparece la IgG1, luego la IgG3 y finalmente la IgG4. Esta última subclase de inmunoglobulina se ha asociado con una respuesta crónica, aunque su presencia no correlaciona con la de IgE, la cual puede ser inespecífica (Ljungstrom *et al.*, 1988). Mediante el uso de la inmunoelectrotransferencia (IET) se ha observado que los sueros de pacientes con triquinosis y los de cerdos, ratas y ratones infectados, así como los sueros de conejos hiperinmunes, reconocen el mismo grupo de antígenos de un extracto crudo de la larva infectiva enriquecidos con componentes de superficie del esticosoma (Takahashi *et al.*, 1990b).

Los sueros de los pacientes con triquinosis reaccionan principalmente con ocho antígenos de superficie de alto peso molecular (104, 93, 77, 73, 63, 59, 54, 38),

aunque la frecuencia de reconocimiento de cada antígeno es independiente: las bandas de 38 y 104 kDa son reconocidas por el 40% de los sueros, las de 59 y 63 kDa por el 80%, y las de 54, 73, 77 y 93 kDa por el 90% de los casos (Alcántara y Correa, 1993; Appleton *et al*, 1990 ; 1986; Arriaga *et al*, 1989; Ortega-Pierres *et al*, 1989; McLaren *et al*, 1987; Almond *et al*, 1986).

Recientemente se ha mostrado que el epítipo responsable de la inmunodominancia de los antígenos encontrados en los componentes de superficie, esticosoma y en los productos de excreción y secreción de la larva infectiva, corresponde a un carbohidrato denominado tivelosa (Reason *et al.*, 1994).

1.4 LA ENFERMEDAD

1.4.1 Signos y síntomas

El cuadro clínico de la triquinosis se presenta del primero al quinto día *post* infección (dpi). Los principales signos y síntomas son dolor abdominal intenso, diarrea, cefalea, náuseas, vómito, astenia, fiebre, escalofrío, anorexia y eosinofilia. También se ha observado que aumenta la creatinina fosfocinasa sérica y que el malestar general es notorio; algunos síntomas persisten durante los siguientes 15 días y después el cuadro clínico puede agravarse (entre los 20 y 30 dpi), presentándose entonces, edema facial, dolor muscular, artralgias, contracciones musculares, pérdida de peso, adinamia, sopor, ronchas máculo-papulares, fiebre mayor a 40°C, meningoencefalitis, miocarditis, soplo cardíaco, coma e inclusive muerte en las infecciones graves (Biagi, 1985; Compton *et al.*, 1993; Fragoso, 1981; Martínez-Marañón *et al.*, 1979).

Con base en la complejidad del cuadro clínico, la triquinosis puede clasificarse en: *asintomática* o *subclínica*, *oligosintomática* y *polisintomática*. La triquinosis polisintomática puede a su vez, clasificarse en leve, moderada y grave de acuerdo a la intensidad de la infección. En el caso de la triquinosis humana, se consideran infecciones leves aquellas en las que existen de 1 a 50 larvas por gramo de músculo, moderadas de 50 a 100 y graves de 100 a más (Martínez-Pantaleón *et al.*, 1986).

De manera general, en el desarrollo de esta parasitosis se distinguen tres periodos: *incubación*, *migración* y *encapsulación*. El primero ocurre durante la fase intestinal y consiste en la liberación de la larva infectiva del músculo esquelético, la

muda (de L₂ a L₅) durante el período larval y la penetración profunda de las hembras en la mucosa del duodeno y del yeyuno. En este periodo se presenta falta de apetito, pérdida de peso, mala absorción y mala digestión, inflamación del intestino, náuseas, vómito, diarrea, dolor intestinal y sudoración (Olsen, 1974).

El segundo periodo incluye el nacimiento de las larvas, su migración y la penetración de éstas en los tejidos musculares. Este periodo se asocia con dolor muscular durante la respiración, la conversación, el movimiento ocular o durante la masticación; edema de predominancia periorbital e inflamación de los gánglios linfáticos y en muchas ocasiones se presenta fiebre intermitente (Martínez-Marañón, 1979).

El tercer periodo comprende el encapsulamiento de la larva infectiva con sus efectos físicos y tóxicos, como deshidratación y dolor muscular. En las infecciones graves, la presión sanguínea puede abatirse y además pueden presentarse desórdenes nerviosos (encefalitis, parálisis e incluso coma) como resultado de que las larvas recién nacidas dañaron células nerviosas o nervios durante su migración (Biagi, 1985).

1.4.2 Diagnóstico de la triquinosis

En el caso de la triquinosis el diagnóstico clínico es difícil porque puede presentarse como una infección individual o de grupo, ya que puede tener varios niveles de gravedad y porque puede estar acompañada de un gran número de signos y síntomas que enmascaran la enfermedad (deshidratación, diarrea, dolor abdominal, fiebre, dolor muscular, soplos cardiacos, encefalitis y parálisis); además, las pruebas de laboratorio como la biometría hemática (más de 500 eosinófilos/mm³), las enzimáticas (presencia de 1, 6-difosfofructoaldosa y deshidrogenasa láctica) y las serológicas (ensayos enzimáticos, hemaglutinación e inmunofluorescencia indirecta) son positivas hasta los 15 días después de haberse iniciado la infección (Cabral *et al.*, 1990; Pawlowski, 1983).

Los estudios que se han encaminado a detectar la triquinosis en la fase entérica son escasos, ya que por un lado, en esta fase, el síndrome se confunde con otros padecimientos como fiebre tifoidea, brucelosis e intoxicación alimentaria (Cabral *et al.*, 1989; Martínez-Marañón, 1985) y por otro, los ensayos que se han instrumentado para detectar a los adultos son de baja sensibilidad y especificidad (Chapa, 1991).

Algunos aspectos que apoyan el diagnóstico clínico-etiológico, son los antecedentes epidemiológicos de la región, el consumo de carne o productos de cerdo, la identificación de miositis y/o de larvas infectivas en biopsia y las pruebas positivas de laboratorio, (Cabral *et al.*, 1989). En los lugares donde el diagnóstico es exclusivamente clínico, la triquinosis puede ser confundida con intoxicación alimentaria, fiebre tifoidea, cisticercosis, faringitis, nefritis, reumatismo, glomerulonefritis, amigdalitis, escarlatina, pielonefritis y brucelosis (Cabral *et al.*, 1989; Fragoso, 1981; Martínez-Marañón, 1985; Martínez-Marañón *et al.*, 1979).

Para realizar el diagnóstico etiológico de la triquinosis se han empleado diferentes técnicas como: la triquinoscopia, la digestión del tejido muscular y el xenodiagnóstico; pero, no siempre es posible obtener una biopsia, debido a que el procedimiento es traumático y al riesgo de infecciones posteriores en o a través de la herida (Kolata, 1985; Pastrana, 1943; Zimmermann, 1983). Algunos estudios comparativos han documentado que la sensibilidad del diagnóstico etiológico es del 56% con respecto a la detección de anticuerpos (Au *et al.*, 1983).

El inmunodiagnóstico para la detección de anticuerpos ha sido de gran valor para apoyar el diagnóstico clínico y para realizar estudios epidemiológicos. Debido a la versatilidad de esta metodología, se han empleado varias técnicas como: las pruebas intradérmicas, la floculación de bentonita, la fijación del complemento (sensibilidad 23%), la hemaglutinación indirecta (sensibilidad 86%), la inmunofluorescencia indirecta (sensibilidad 95%), la contraelectroforesis y los ensayos inmunoenzimáticos (sensibilidad 99%; revisado en Alcántara *et al.*, 1992). Sin embargo, como el uso de técnicas de baja especificidad pueden producir reacciones cruzadas entre extractos

crudos y anticuerpos inespecíficos (Barriga, 1977; Weiner y Price, 1956), se ha planteado que el uso de exoantígenos (Gamble, 1984), de antígenos recombinantes (Yépez *et al.*, 1995) o del polisacárido tivelosa (Ortega-Pierres *et al.*, 1996) pueden disminuir las reacciones falso positivas.

Actualmente, los estudios del diagnóstico de triquinelosis se enfocan a tratar de detectar productos circulantes de la larva infectiva (Arriaga *et al.*, 1995; Ivanoska *et al.*, 1989; Nishiyama *et al.*, 1992), lo cual tiene una implicación importante, ya que la detección de antígenos puede emplearse para evaluar tratamientos o para evidenciar casos asintomáticos. A nivel epidemiológico, la detección de antígenos podría dar a conocer áreas geográficas con baja, mediana o alta prevalencia; sin embargo, los ensayos instrumentados no tienen la sensibilidad ni la especificidad adecuada para ser una prueba de rutina. (Arriaga *et al.*; 1995; Ko R.C, 1995; Ko *et al.*, 1994).

1.4.3 Tratamiento de la triquinelosis

Para la erradicación de los helmintos en la fase intestinal, se ha empleado el pamoato de pirantel (10 mg/kg, durante cuatro días), el mebendazol (200 mg durante cuatro días o 250-400 mg tres veces al día durante tres semanas) y el albendazol (400 mg/día/tres días).

Para tratar la fase parenteral, se ha usado de manera exitosa el tiabendazol en dosis de 50 mg/kg/día y el albendazol en dosis de 25 mg/kg/dos veces al día/10 días. Otras drogas como el mebendazol y el fluconazole no han sido útiles para la erradicación del helminto, aunque el primero se ha utilizado a dosis de 200-400 mg/kg/cada 8 h/10 días (Biagi, 1985; Velasco, 1991). El tratamiento que se usa es igual para niños y adultos, pero está contraindicado en mujeres embarazadas y pacientes que han experimentado reacción alérgica al fármaco de elección (Compton *et al.*, 1993; Pawlowski, 1983). En los vivarios se ha empleado el albendazol (1mg/kg/tres días) de manera rutinaria para la desparasitación de los animales de laboratorio (Owen, 1990).

Para prevenir el choque anafiláctico que pueda resultar del número de larvas muertas en el tejido muscular, se han usado corticoesteroides (debido a su acción antiinflamatoria, antialérgica y antichoque) durante la etapa inicial del tratamiento antihelmíntico (Andrews *et al.*, 1994). La dexametasona se ha empleado en dosis de 0.5 mg/kg/día durante cinco días sucesivos (Martínez-Pantaleón *et al.*, 1986) y la prednisona a razón de 40 mg/día/dos semanas (Compton *et al.*, 1993). Sin embargo, se ha observado que la administración de corticosteroides para tratar la miositis, incrementa con frecuencia la viabilidad de las hembras adultas con lo cual, la larviposición puede aumentar y con ello una infección masiva (Velasco, 1991).

2.0 EPIDEMIOLOGIA

La triquinelosis humana tiene distribución mundial. La infección en humanos por *Trichinella spiralis* ha disminuido en los países industrializados, pero prevalece en países subdesarrollados, en los cuales las bajas condiciones socioeconómicas, la inadecuada higiene e infraestructura sanitaria, así como la precaria educación a la comunidad y los deficientes servicios médicos favorecen su transmisión (Campbell, 1983; Di Bari *et al.*, 1990). En México no existen datos precisos sobre la prevalencia y distribución de esta parasitosis.

Desde 1876, año en que se identificó a la larva infectiva en una necropsia humana, se han descrito casos clínicos y verificaciones en autopsias para buscar a la larva infectiva de manera rutinaria en todo el mundo (revisado en Campbell, 1983; Mazzotti y Chavira, 1943); también se han realizado estudios antropológicos en momias americanas, en las que se han puesto en evidencia restos que sugieren la presencia de *Trichinella* sp. (Reinhard, 1991). Muchos de los estudios que se han realizado para buscar de manera directa *T. spiralis* se han hecho en cadáveres de seres humanos y animales peridomésticos (Martínez-Marañón *et al.*, 1974; Mazzotti, 1944; Mazzotti y Alcántar, 1954; Mazzotti y Chavira, 1943; Mazzotti y Nuñez, 1948). Algunos estudios se han encaminado a buscar la presencia de anticuerpos contra la L1 mediante pruebas intradérmicas en humanos (Mazzotti y Lozano, 1944; Perrin, 1942), así como pruebas de diagnóstico serológico como la floculación con bentonita (Cabrera, 1977). Recientemente se han instrumentado técnicas de Biología Molecular para

Para prevenir el choque anafiláctico que pueda resultar del número de larvas muertas en el tejido muscular, se han usado corticoesteroides (debido a su acción antiinflamatoria, antialérgica y antichoque) durante la etapa inicial del tratamiento antihelmíntico (Andrews *et al.*, 1994). La dexametasona se ha empleado en dosis de 0.5 mg/kg/día durante cinco días sucesivos (Martínez-Pantaleón *et al.*, 1986) y la prednisona a razón de 40 mg/día/dos semanas (Compton *et al.*, 1993). Sin embargo, se ha observado que la administración de corticosteroides para tratar la miositis, incrementa con frecuencia la viabilidad de las hembras adultas con lo cual, la larviposición puede aumentar y con ello una infección masiva (Velasco, 1991).

2.0 EPIDEMIOLOGIA

La triquinelosis humana tiene distribución mundial. La infección en humanos por *Trichinella spiralis* ha disminuido en los países industrializados, pero prevalece en países subdesarrollados, en los cuales las bajas condiciones socioeconómicas, la inadecuada higiene e infraestructura sanitaria, así como la precaria educación a la comunidad y los deficientes servicios médicos favorecen su transmisión (Campbell, 1983; Di Bari *et al.*, 1990). En México no existen datos precisos sobre la prevalencia y distribución de esta parasitosis.

Desde 1876, año en que se identificó a la larva infectiva en una necropsia humana, se han descrito casos clínicos y verificaciones en autopsias para buscar a la larva infectiva de manera rutinaria en todo el mundo (revisado en Campbell, 1983; Mazzotti y Chavira, 1943); también se han realizado estudios antropológicos en momias americanas, en las que se han puesto en evidencia restos que sugieren la presencia de *Trichinella* sp. (Reinhard, 1991). Muchos de los estudios que se han realizado para buscar de manera directa *T. spiralis* se han hecho en cadáveres de seres humanos y animales peridomésticos (Martínez-Marañón *et al.*, 1974; Mazzotti, 1944; Mazzotti y Alcántar, 1954; Mazzotti y Chavira, 1943; Mazzotti y Nuñez, 1948). Algunos estudios se han encaminado a buscar la presencia de anticuerpos contra la L1 mediante pruebas intradérmicas en humanos (Mazzotti y Lozano, 1944; Perrin, 1942), así como pruebas de diagnóstico serológico como la floculación con bentonita (Cabrera, 1977). Recientemente se han instrumentado técnicas de Biología Molecular para

detectar ácidos nucleicos en muestras de suero de caballos infectados naturalmente (Yepez, 1996 b).

En México, el primer hallazgo de *Trichinella* se realizó durante una autopsia practicada en la Escuela Nacional de Medicina en el año de 1891 (revisado en Mazzotti y Nuñez, 1948). Posteriormente, en 1939, Perrin describió 25 casos con larvas L1 en el diafragma de 200 cadáveres, encontrando una proporción más alta en hombres que en mujeres, todos mayores de 19 años, desde entonces se han conocido verificaciones en autopsias (Cuadro 2), casos clínicos y brotes de triquinelosis humana en diferentes estados de la República (Cuadro 3). Entre los estados donde se han documentado casos de triquinelosis se encuentran: Chihuahua, Zacatecas, Jalisco y Estado de México. Los estados donde se conoce la existencia de la enfermedad, pero no se ha documentado son: Durango, San Luis Potosí, Michoacán, Chiapas y Morelos; sin embargo es hasta la década de los años 70 en se que inició el estudio de la triquinelosis de manera sistemática con los estudios de Martínez-Marañón.

Cuadro 2: Estudios de Autopsias desde 1939 hasta 1974.

Año	Tamaño de la muestra	Casos/Prevalencia (n)	Hombre/ Mujer proporción	Edad	Referencia
1939	200	25 (12.5)	7.5/ 5.0	19- 87	Perrin, 1939
1943	600	30 (5.0)	ND	ND	Mazzotti y Chavira, 1943
1944	400	46 (11.5)	ND	ND	Mazzotti, 1944
1974	1000	42 (4.2)	2.8/ 10.0	10 - 70	Martínez-Marañón et al., 1974

ND: No Determinado

Fuente: Correa et al. En prensa.

Cuadro 3: Brotes Oficiales Reportados en México desde 1978-1995.

Período	Número de brotes	Total de individuos	Casos clínicos	Diagnóstico serológico (porcentaje)	Casos confirmados (porcentaje)	Hombre-Mujer (proporción)	Edad (proporción)	Referencia
1978-1980	1	7	4	ND	25%	1.00	niños y adultos	Martínez-Marañón, 1979
1981-1985	8	96	96	ND	25%	1.19	15-44 años	*
1986-1990	9	250	250	100%. (Efectuado en 1 brote)	100%. (Efectuado en 3 brotes)	0.86	< 14-44	*
1991-1995	7	282	175	27%. (Efectuado en 3 brotes)	47%. (Efectuado en 4 brotes)	0.52	< 9-44	*

*Boletín de la Dirección General de Epidemiología y Publicaciones científicas: Álvarez-Chacón *et al* 1992; Cabral-Soto *et al* 1989, 1990; Frago-Uribe 1981; Hernández *et al* 1992; Martínez-Marañón, 1983, 1985; Martínez-Marañón *et al* 1979; Martínez-Pantaleón *et al* 1986; Salinas-Tobón *et al* 1994; Santos-Durán *et al* 1992; Sarti-Gutiérrez *et al* 1988; Zamora Chavez *et al* 1990.

Fuente: Correa *et al*. En prensa

Las evidencias de que la parasitosis se distribuye a nivel nacional y que es más frecuente en las regiones rurales que en las ciudades, son amplias (Cabrera, 1977; Correa *et al.*, datos no publicados; Martínez-Marañón, 1979; Hernández *et al.*, 1992).

Algunos autores han propuesto que la triquinosis es un problema de salud pública porque el número de casos registrados (más de 363 entre 1981 y 1990) podrían colocarla como una de las parasitosis más importantes del país (Martínez-Marañón, 1985; Yépez y Ortega-Pierres, 1995); sin embargo aún existen áreas dentro de la República Mexicana que no han informado de la presencia de esta parasitosis (figura 4).

Según una revisión de Martínez-Marañón (1985), en la Ciudad de México, entre 1891 y 1973 se diagnosticaron por serología, biopsia o clínica 53 casos, en los cuales hubo una asociación entre el consumo de carne de cerdo/embutidos y la enfermedad.

Esa revisión indica que los brotes que se presentaron en 1947, se asociaron con el consumo de salchichas crudas. Entre 1975 y 1982 ocurrieron brotes en el estado de Zacatecas, en los cuales se involucraron 108 casos con seis defunciones; los casos se asociaron con el consumo de chorizo crudo. En 1975, un brote en la Ciudad de México se asoció con el consumo de cecina preparada en Yautepec, Morelos (Martínez-Marañón, 1985).

A mediados de 1978, en Naucalpan, Estado de México, hubo un brote que afectó a cuatro de siete integrantes de una familia, quienes consumieron chorizo crudo procedente del estado de Durango; el diagnóstico etiológico reveló larvas infectivas en la biopsia y en el chorizo que no se consumió (Martínez-Marañón, 1979).

Entre 1974 y 1986 ocurrieron varios brotes en diferentes entidades de la República Mexicana y en el Distrito Federal. En este lapso se registraron 160 casos y nueve defunciones, la mayoría de los casos se confirmaron por biopsia y se asociaron con el consumo de carne de cerdo procesada en forma de chorizo o "al pastor" (Fragoso, 1981; Martínez-Marañón, 1979).

Muestras de suero procedentes de sangre periférica de individuos que estuvieron involucradas en varios brotes entre 1985 y 1989 en diversos lugares del país, se remitieron al INDRE, SSA, para realizar la búsqueda de anticuerpos contra la larva infectiva de *Trichinella spiralis*; 69 de los 163 casos fueron positivos en un inmunoensayo (Alcántara *et al.*, 1989).

En 1989, ocurrió un brote en Toluca, Estado de México, el cual se asoció con el consumo de chorizo. En este estudio se detectaron anticuerpos contra la larva en el 100% de los casos desde la tercera semana *post* infección. También se detectaron anticuerpos anti-adulto y anti-LRN en el 43% y en el 68% de los sueros respectivamente (Salinas, 1994).

Uno de los brotes más recientes (1991) ocurrió en Ciudad Delicias, Chihuahua, el cual, se asoció con el consumo de chorizo preparado con carne de un cerdo que fue certificada con el sello de inspección sanitaria. En este brote hubo una sola defunción de entre 167 personas afectadas, de las cuales, el 86% cursaron con mialgias, el 73% con edema facial, el 75% con leucocitosis, el 60% con eosinofilia y todos con malestar general. El 86% de 21 pacientes cursaron con electromiografía anormal. El diagnóstico se realizó clínicamente y mediante biopsia en 59 pacientes (Hernández *et al.*, 1992).

En mayo de 1994 se presentó un brote en Chalco, Estado de México, para apoyar el diagnóstico clínico se remitieron al INDRE 48 sueros de individuos involucrados, 12 con sospecha clínica y 36 de convivientes. En los sueros de los individuos con sospecha clínica, se detectaron anticuerpos en siete de ellos por ELISA e IET y en tres sólo por IET; dos sueros fueron negativos por ambas técnicas. En los sueros de los convivientes, se detectaron anticuerpos en dos por ELISA e IET y en uno por IET, los 33 sueros restantes fueron negativos (Correa *et al.*, datos no publicados).

Aunque existe una gran diferencia entre el número de casos diagnosticados por periodo y región, el hecho es que la presencia de brotes de triquinosis es común en México: de 1891 a 1973, 55 casos (en 80 años); de 1974 a 1983, más de 250 (en 9 años); de 1985 a 1989, 69 casos (Alcántara *et al.*; 1989); de 1989 a 1994, más de 250 (Alcántara *et al.*, 1989; Correa *et al.*, datos no publicados; Martínez- Maraño, 1985; Salinas, 1994).

Algunos estudios de prevalencia, llevados a cabo mediante el examen de muestras de músculos obtenidas en autopsias médico-legales efectuadas entre 1972 y 1973 en la Ciudad de México (Martínez-Maraño, 1974) y mediante la reacción de floculación con bentonita en Chiapas han indicado una prevalencia de 4.2 y de 2.4% respectivamente (Cabrera, 1977; Martínez-Maraño, 1974).

En México la triquinosis es una zoonosis que se considera como una enfermedad de tipo epidémico, porque se presenta en forma de brote; sin embargo,

aún no se han realizado estudios sistemáticos que consideren el contacto entre el ser humano y el helminto, por ello, estos antecedentes nos llevaron a plantear los objetivos para la realización de este trabajo.

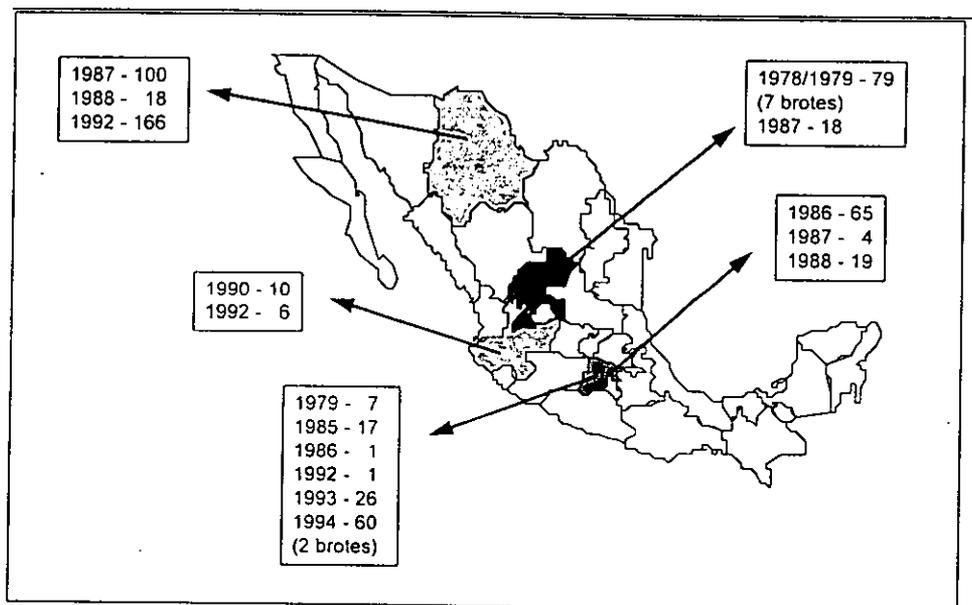


Figura 4. Brotes y casos de triquinelosis en la República Mexicana. En la figura se muestra el números de personas involucradas en brotes de triquinelosis oficialmente registrados en forma de artículos científicos o como reportes de epidemia en la Dirección General de Epidemiología, de la Secretaría de Salud (México), durante el periodo comprendido entre el año de 1978 al año de 1994. La figura es una modificación de la originalmente reportada por Correa y colaboradores (en prensa).

3.0 JUSTIFICACION

Considerando que en México el consumo de carne de cerdo y de animales silvestres es generalizado, que las condiciones de crianza son deficientes y que la matanza clandestina es muy frecuente, es posible suponer que la transmisión de *Trichinella spiralis*

podría ser mucho más frecuente de lo que se tiene registrado, por lo que la realización de un estudio epidemiológico de corte transversal para detectar anticuerpos contra la larva infectiva de *Trichinella spiralis* en una región rural y porcícola como Cerritos en el estado de SLP podría dar evidencia del contacto entre el ser humano y el helminto; esto es porque se tiene el conocimiento de que en dicho municipio la cría de cerdos a nivel familiar es una práctica común, cuenta con un rastro municipal pero no con inspección sanitaria, la crianza y venta clandestina de cerdo es común y además las condiciones de saneamiento básico son deficientes.

4.0 OBJETIVOS

- ◆ Determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra la larva infectiva de *Trichinella spiralis* en una población aparentemente sana de San Luis Potosí, mediante un estudio epidemiológico de corte transversal, usando un ensayo inmunoenzimático (ELISA) como prueba tamiz, y como prueba confirmatoria inmunoelectrotransferencia (IET).
- ◆ Detectar los factores biológicos, socioeconómicos o culturales de la población en el estudio epidemiológico que se encuentren asociados con la presencia de anticuerpos contra la larva infectiva de *Trichinella spiralis*.

5.0 MATERIALES Y METODOS

5.1 POBLACION DEL ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO

Ubicación del municipio

El municipio de Cerritos, San Luis Potosí, se localiza en las coordenadas geográficas latitud norte 22°15' a 22°36', longitud oeste 100°01' a 101°31' a una altura de 1,553 metros sobre el nivel del mar. Colinda al norte con el municipio de Guadalcázar, al sur con Villa Juárez, al este con Ciudad del Maíz, al oeste con Villa Hidalgo, al suroeste con Armadillo y San Nicolás Tolentino. Cuenta con 39 localidades, de las cuales las más importantes por su población son: Cerritos, Joya de Luna, Ojo de Agua, Derramaderos, El Sauz, San Pedro, Palo Seco, Mezquites, Tepetate, San Bartolomé, Puerta del Río, El Tepozán, Estación Montaña y Estación Villar (revisado en Alcántara, 1995).

Obtención de Muestras de Suero a Partir de Sangre Periférica

La sangre se obtuvo a partir de un muestreo aleatorio de individuos voluntarios, residentes de la población de Cerritos por más de un año, excluyendo a las personas menores de 14 años. Se obtuvieron por venopunción 5 mL. de sangre de cada participante, después se separó el suero del coágulo por centrifugación a 1200 xg y se congeló a -20°C hasta su uso. La toma de muestra se llevó a cabo de manera domiciliaria, en las secundarias y en los centros de salud de las diferentes localidades. El cálculo para estimar el tamaño de la muestra representativa de la población, lo realizó el epidemiólogo Juan Aranda¹, mediante el uso del programa epidemiológico Epi-Info (Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, CDC), quien estimó que la población residente era de 14,000 habitantes, de acuerdo al censo de Población y Vivienda de 1993 y suponiendo una prevalencia de triquinelosis igual al 2%, (la mitad de la prevalencia reportada en los estudios epidemiológicos realizados por Martínez-Marañón en cadáveres en 1974= 4.2%), el tamaño de muestra fue de 800 participantes, pero se muestreó a 954 individuos por razones de donación y porque se tuvo el acceso para realizarlo.

¹Juan Aranda, M. C., epidemiólogo de la Subjefatura de Servicios de Salud Pública del IMSS.

Encuesta Epidemiológica.

Los sueros fueron colectados por el epidemiólogo, quien aplicó un cuestionario de aspecto socio-económico a cada uno de los participantes. El cuestionario, además de contemplar datos de identificación, características de la vivienda y síntomas sugerentes de la parasitosis, también consideró algunos eventos que se asocian a la transmisión de parásitos. Esta encuesta se realizó con la finalidad de buscar asociación entre la positividad al inmunoensayo y algún evento socioeconómico o biológico, como se describe a continuación:

Factores socioculturales.

Incluyen el tiempo de residencia en la zona, las condiciones de la vivienda, el contar con drenaje u otro y el hacinamiento.

Factores biológicos.

Incluyen la edad, sexo, el tipo de alimentación, el estado de salud al momento de la encuesta y la convivencia con cerdos.

Factores de sanidad.

Incluye la práctica de fecalismo al aire libre y los hábitos higiénicos.

Criterios de selección, inclusión y exclusión de la muestra.

Criterios de Inclusión.

- Ser mayor de 14 años al momento de la toma de muestra.
- Tener por lo menos un año de residencia en la zona al momento de la toma de muestra.
- Ser derechohabiente al programa IMSS-Solidaridad.
- Responder a la encuesta.

Criterios de Exclusión.

- Ser menor de 14 años.
- No aceptar la toma de muestra.
- No responder a la encuesta.
- Individuos con muestra insuficiente.
- Individuos con muestra pero sin haber respondido a la encuesta.
- Individuos con encuesta pero sin muestra.

5.2 MANTENIMIENTO DE *Trichinella spiralis*

El ciclo de vida de *Trichinella spiralis* se mantuvo en 5 ratas macho Wistar de 3 meses de edad y 300 gramos de peso, las cuales fueron criadas en el vivario del INDRE. Los animales se alojaron en jaulas de plástico de 1.20 m x 0.70 m x 0.40 m con aserrín estéril; se alimentaron *ad libitum* con agua y alimento condensado ambos estériles. Cada animal se infectó con 7,000 L1 por vía oral, obtenidas a partir de la digestión del músculo esquelético de una rata infectada previamente.

Una rata sin inocular fue colocada dentro de cada una de las cajas de las ratas infectadas, como testigo negativo. A los 35 dpi cada una de las ratas se anestesió con cloroformo y se sangraron a blanco por punción cardiaca; mediante necropsia, se disectó la cabeza, las vísceras y la piel, la lengua y el músculo esquelético se prepararon para someterse a la digestión enzimática para obtener las larvas. Adicionalmente, para realizar la triquinoscopia a cada animal se le retiró un gramo de diafragma, el cual se comprimó entre dos vidrios de 10cm x 5cm x 0.2cm y se observó en un microscopio estereoscópico a 100X para identificar la presencia de larvas.

5.3 DIGESTION ARTIFICIAL

Para esta técnica se hizo lo siguiente:

Se mezclaron 0.1 g de pepsina, 0.1 mL de HCl con una pureza de 38% (densidad 1.19g/cm³ a 25°C) y 10 mL de agua destilada por cada gramo de carne (fragmentos de aproximadamente 0.3 cm³) y se agitaron de manera continua durante 4 h a 37°C. Luego, el material digerido se filtró a través de una gasa colocada en la boca de una copa de precipitación. Después de 30 minutos se colectaron las larvas sedimentadas, las cuales se lavaron varias veces con una solución amortiguadora de fosfatos 0.01 M con NaCl 0.015 M pH 7.2 (PBS). Para descartar el sobrenadante, se centrifugó a 1,613 xg durante 5 min. a temperatura ambiente; con una pipeta Pasteur se extrajo el excedente de tejido. Finalmente, las larvas se sometieron a un gradiente trifásico de dextrosa (20, 40 y 80%) y se dejaron reposar por 15 min. para purificarlas de los restos de tejido de la rata. Las larvas se obtuvieron de la interfase de 20-40% y se repitieron los lavados con PBS para eliminar el exceso de dextrosa. Las larvas se suspendieron en 10 mL de PBS y se tomaron 10 µL para contarlas, el promedio de tres cuentas se intrapoló para conocer el número total de larvas.

5.4 PREPARACION DEL EXTRACTO SOLUBLE ANTIGÉNICO (ESA)

Se prepara siguiendo la técnica descrita por Parkhouse *et al* 1981. El antígeno de *Trichinella spiralis* es un extracto soluble total de la larva infectiva (ESA); para preparar el antígeno, se obtuvieron mediante la digestión artificial del músculo esquelético de una rata infectada experimentalmente, doscientos cincuenta mil larvas, estas se resuspendieron en 4.0 mL de tris hidroximetil aminometano (tris-base; Bio Rad) 10 mM pH 8, que contenía 200 µg de L-1-tosilamida 2-feniletil clorometil cetona (TPCK; Sigma), 200 µg de N-α-p-tosil-lisina clorometil cetona (TLCK; Sigma) y 40 µL de fenil metil sulfonyl fluoruro (PMSF; Lakeside) 100 mM.

Las larvas se homogenizaron con un triturador de tejidos manual en frío durante 15 min. se agregaron 960 µL de desoxicolato de sodio (Gibco) 10% en tris-base 10 mM pH 8 y se homogenizó durante 15 min. más. Se dejó reposar en frío durante 20 min. y finalmente se centrifugó a 15,000 xg a 4°C durante 30 min. Se tomó el sobrenadante y se cuantificó la concentración de proteínas mediante el método colorimétrico de Bradford (Bradford, 1976). El antígeno se almacenó a -20°C y luego a -70°C hasta su uso.

5.5 PRODUCTOS DE EXCRECION Y SECRECION DE LA LARVA INFECTIVA

Las larvas se aislaron por digestión artificial con pepsina-HCl 1% como se hizo para el ESA; después de contarlas y purificarlas se hicieron cinco lavados con PBS estéril que contenía una mezcla de antibióticos (500 U/mL de penicilina y 500 µg/mL de estreptomina por litro de PBS), centrifugando a 1,613 xg durante 5 min a temperatura ambiente, descartando el sobrenadante en cada ocasión. Después, se hicieron dos lavados con medio de cultivo RPMI 1640 (Gibco) que contenía 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina por litro de medio.

Se cultivaron 10,000 larvas en 100 µL de medio de cultivo por pozo en placas para cultivo de 96 pozos (Corning), a 37°C en una atmósfera de 95% de aire y 5% de CO₂ durante 48 h. Se revisó al microscopio diariamente el cultivo para verificar que no existiera contaminación bacteriana; cada 24 h el medio de cultivo se recuperaba según virara de naranja a ambar y se sustituyó con medio fresco. La recuperación de medio

se realizó de cuatro a cinco veces, dependiendo de la motilidad e integridad de las larvas.

Todo el medio recuperado se juntó y concentró por ósmosis contra azúcar, luego se dializó contra PBS por una noche y se determinó concentración de proteínas. Se adicionaron 200 µg de TPCK, 200 µg de TLCK y 40 µL PMSF por cada 4 mL de productos de excreción y secreción (PES). El antígeno se almacenó primero a -20°C y luego a -70°C hasta su uso.

5.6 TECNICAS INMUNOENZIMATICAS

5.6.1 Ensayo inmunoenzimático para la detección de anticuerpos (ELISA)

Esta técnica se realizó de acuerdo a la descrita por Voller *et al.* (1974) y modificada por Alcántara *et al.* (1989) para el diagnóstico de triquinosis humana. Los pozos de las placas de microtitulación (ELISA) (Costar) se sensibilizaron toda una noche a 4°C con 100 µL por pozo de una solución de antígeno diluido en una solución amortiguadora de carbonatos 0.1 M pH 9.6. Cuando se utilizó el antígeno ESA, este se diluyó a 5 µg/mL y cuando se utilizaron los PES, estos se diluyeron a 1 µg/mL.

Entre cada incubación los pozos se lavaron con PBS-tween 200 µL/pozo, cuatro veces durante cuatro minutos en cada ocasión. Los sitios libres de los pozos, se bloquearon con una solución de albúmina sérica bovina (Sigma) diluida al 1% en PBS-tween durante 2 h a 37°C.

Posteriormente se colocaron 100 µL/pozo de cada suero problema así como los de los sueros testigo negativos y positivos por duplicado a una dilución 1:2000 en PBS-Tween y se incubaron durante 2 h a 37°C.

Se colocaron 100 µL/pozo del conjugado de cabra anti-IgG humana acoplados con fosfatasa alcalina (Sigma) y se incubó a 37°C durante 2 h.

Para revelar el conjugado de fosfatasa, se agregaron 100 µL/pozo de una solución que contenía 7.5 mL de dietanolamina (dietanolamina al 10% 97 mL, MgCl₂·6H₂O 0.1 g y agua destilada 800 ml, pH 9.8), dos tabletas de 5 mg de p-

nitrofenilfosfato (Sigma) y 2.5 mL de agua destilada. Se incubó a 37°C, durante 30 min. La reacción se detuvo agregando 100 µL/pozo de NaOH 1 N. Los valores de absorbancia se tomaron en un lector para ELISA a 405 nm.

5.6.1.1 Punto de corte en el ELISA.

Para diferenciar entre muestras negativas y positivas se obtuvo un punto de corte, el cual es un valor que marca esa diferencia para el estudio epidemiológico. El punto de corte se consideró como el promedio de los valores de absorbancia de 90 sueros donantes sanos provenientes de la zona de estudio, al cual se le adicionó el valor de 3 desviaciones estándar ($\bar{x}+3\sigma-1$), con lo cual se consideró que el 99.74% de la población muestreada presentaba absorbancias menores o iguales al valor así calculado (De groot, 1988). Todas las muestras con valores iguales o mayores al valor de corte se consideraron positivas.

5.6.2 Inmunolectrotransferencia

Electroforesis en geles de poliacrilamida:

El antígeno se sometió a electroforesis en geles preparativos de poliacridamida-dodecil sulfato de sodio al 12% en condiciones reductoras, de acuerdo a la técnica descrita por Laemmli (1970). Se utilizó un sistema discontinuo de dos geles; el primer gel (gel superior) concentra la muestra y el segundo (gel inferior) separa las proteínas.

Para preparar el gel separador, se mezclaron las soluciones en un matraz Erlen-Meyer, tal y como se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 4. Soluciones para preparar el gel separador de poliacrilamida

GEL SEPARADOR	
<i>solución</i>	<i>volumen (mL)</i>
acrilamida 30%-n,n'-metileno-bis-acrilamida 0.8%	11.00
tris hidroximetil aminometano 2 M pH 8.8	6.00
sds al 10%	0.30
agua destilada	11.75
persulfato de amonio (10 mg/mL)	0.50
n,n,n'-tretametilendiamina	0.030

Se colocaron aproximadamente 10 mL de esta mezcla entre dos cristales de 7.3 x 10.2 cm usando separadores de 1.5 mm de espesor, evitando la formación de burbujas. Después de la polimerización del gel, se eliminó el exceso de solución no polimerizada con papel filtro y se colocó un peine de plástico de 2 carriles, uno para el marcador de pesos moleculares (Bio-Rad) y el otro para el antígeno.

Para preparar el gel concentrador, se mezclaron en un matraz Erlen-Meyer las soluciones tal y como se muestra en el cuadro 5.

Cuadro 5. Soluciones para preparar el gel concentrador de poli(acrilamida).

GEL CONCENTRADOR	
solución	volumen (mL)
acrilamida 30% - bis 0.8%	3.50
tris hidroximetil aminometano hidrocólorido 2M pH 6.8	0.65
sds al 10%	0.10
agua destilada	11.50
persulfato de amonio (10 mg/mL)	0.20
n,n,n'-tretametilendiamina	0.010

La mezcla se colocó sobre el gel separador, procurando evitar la formación de burbujas. Después de la polimerización se quitó el peine y se eliminó el exceso de solución no polimerizada, dejando secos los carriles para colocar las muestras.

Se emplearon 500 µg de preparación de antígeno (ESA o PES), diluidos en un volumen igual de una solución para separar las proteínas (SDS 10%, 1 mL; ácido etilendinitrilotetraacético, 7.4 mg; glicerina, 1 mL; tris hidrocólorido 2 M pH 6.8, 250 µL; azul de bromofenol y agua destilada para completar 10 mL). Cada mililitro de la solución para separar las proteínas, se mezcló con 100 µL de β-mercaptoetanol (Bio Rad) y se procedió a hervir en baño maría por 10 min.

La electroforesis se efectuó en una cámara para electroforesis Mini-Protean II (Bio-Rad), en presencia de una solución amortiguadora (tris hidroximetil aminometano, 3.6 g; glicina, 27.6 g; SDS 10%, 12 mL; agua destilada, 1,500 mL), aplicando una corriente de 10 mA por gel durante 3 h en refrigeración.

Electrotransferencia:

Después de la electroforesis, la transferencia se llevó a cabo de acuerdo con el método descrito por Towbin *et al.* (1979). El gel se colocó en un recipiente con el amortiguador de transferencia (tris hidroximetil aminometano, 3.08 g; glicina, 14.48 g; metanol, 200 mL; agua destilada, 800 mL) durante 15 min. En el mismo recipiente se colocó el papel de nitrocelulosa (NC) de 0.45 µm de poro (Schleicher and Schuell) y aditamentos de la cámara de transferencia (Sigma). La transferencia se llevó al cabo con una corriente de 400 mA, durante 70 min a 4°C.

La membrana se tiñó con rojo de Ponceau (Sigma) al 0.2% en ácido tricloroacético 0.3% (Merck) para observar si la transferencia de las proteínas fue adecuada y la tira con los marcadores de peso molecular se cortó; se lavó con agua destilada para eliminar el exceso de colorante y se bloqueó con leche descremada (Sveltes, Nestlé®) al 5% en PBS-tween por toda una noche a 4°C.

Ensayo Inmunoenzimático:

La membrana de nitrocelulosa se lavó tres veces con PBS-tween y dos veces con PBS durante cinco minutos en cada ocasión. Se cortaron tiras en sentido vertical de 0.4 mm de ancho y cada una se incubó en una cámara para microincubaciones (Bio Rad) con un suero diluido 1:50 en PBS-tween durante 2 h a temperatura ambiente en agitación continua. Después de realizar los lavados, las tiras se incubaron con un conjugado de anticuerpos de cabra anti-gama globulinas totales de humano acoplados con peroxidasa (Sigma) diluido 1:1000 en PBS-tween.

Después de los lavados, la reacción se reveló empleando 50 mg de 4-cloro-1-naftol (Sigma) diluido en 10 mL de metanol, 50 mL de PBS y 5 μ L de H₂O₂ al 30%. Una vez que aparecieron las bandas, el sustrato se retiró y la reacción se detuvo con agua destilada. Las tiras se secaron sobre papel filtro.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para realizar el análisis estadístico tanto para elegir el tamaño de muestra, como para evaluar los factores de riesgo asociados a triquinosis, se utilizó el programa de cómputo epidemiológico Epi-Info (Centro para el Control de Enfermedades, CDC Atlanta) y el programa comercial Egret; tomando como criterios de asociación el cálculo de intervalos de confianza al 95% y la Razón de Momios (RM), el cual es un parámetro dado por un rango cuya función es estimar la asociación en estudios de corte transversal. El criterio a seguir es que si RM es mayor a 1, el factor tiene asociación estadística positiva con la variable en estudio (positividad a anticuerpos en este caso) y conforme se incrementa su valor, la asociación también crece. Cuando se obtienen valores menores a 1, indica que no hay asociación o puede decirse que la posesión del factor tiene un efecto protector frente a la variable en estudio.

El modelo matemático que sigue la Razón de Momios es el siguiente:

$$RM = (P1/q1) (P2/q2) = P1q2/P2q1 = ad/bc$$

donde, si un suceso tiene lugar con una probabilidad P, la razón P/q significa la probabilidad que existe a favor de que tal suceso tenga lugar, por tanto, $q=1-P$. En este caso, la probabilidad de enfermedad entre animales expuestos es $P1/q1$ y la probabilidad entre no expuestos es $P2/q2$ (revisado en Tapia, 1995)

En el estudio epidemiológico se buscó asociar la presencia de anticuerpos con eventos biológicos y socioeconómicos a través de un análisis univariado para conocer las variables de mayor asociación. Después, para comparar los resultados serológicos positivos con los eventos (factores) asociados a anticuerpos se usó un análisis logístico o bivariado, el cual utiliza la razón de momios con intervalos de confianza al 95% y las pruebas de Fisher exacta y X^2 corregida por Mantel- Haenzel.

6.0 RESULTADOS

6.1 PRODUCCION DE ANTIGENOS

Se produjeron en el laboratorio dos tipos de antígenos: uno es un extracto soluble antigénico (ESA) y otro son los productos de excreción y secreción (PES) de la larva infectiva para ser utilizados como antígenos en las técnicas inmunoenzimáticas. El corrimiento electroforético en geles de poliacrilamida-SDS al 12% del ESA y de los PES, reveló la presencia de más de 20 bandas proteicas en la primera preparación y más de 10 en la segunda; en ambos casos, las proteínas se distribuyeron entre los 14 y 97 kDa (figura 5). En los PES se observó una banda de aproximadamente 62 kDa que, aunque muy abundante, no fue antigénica.



Figura 5. Perfil proteínico de componentes del extracto soluble antigénico y los productos de excreción y secreción de la larva infectiva de *Trichinella spiralis*. Las proteínas del extracto soluble antigénico (ESA) y de los productos de excreción y secreción de la larva infectiva, se separaron en geles de poliacrilamida SDS al 12%, de acuerdo a lo descrito en la sección de Materiales y Métodos. Las proteínas se tiñeron con solución de plata 1040(3750)(Bio Rad). El peso molecular de los marcadores empleados como estándares, se indica a la izquierda de la figura.

6.2 ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO

6.2.1 Detección de anticuerpos por ELISA empleando ESA

Por este ensayo se encontró que 18 de 954 muestras reaccionaron con el antígeno. En la figura 6 se muestra la distribución de la frecuencia de las absorbancias de los 954 sueros, en donde se observan dos poblaciones, la primera de mayor tamaño que corresponde a los sueros cuyas absorbancias eran menores al punto de corte (0.1435); la segunda corresponde al grupo de los 18 sueros positivos. Con estos datos se calculó una prevalencia de anticuerpos contra *Trichinella spiralis* del 1.9% (cuadro 8).

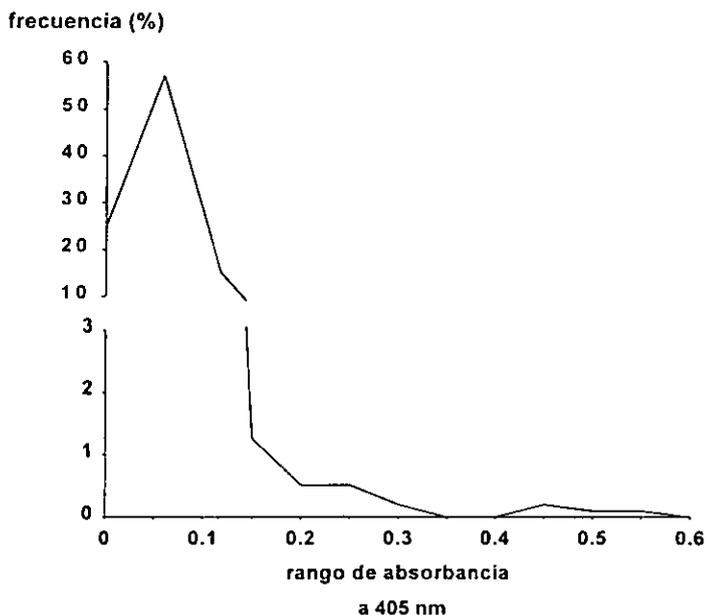


Figura 6. Distribución de la frecuencia de las absorbancias a 405 nm de 954 sueros provenientes del municipio de Cerritos, SLP. Las muestras de suero se analizaron por ELISA, empleando un extracto crudo (ESA) de la larva infectiva de *Trichinella spiralis*. Dieciocho sueros reaccionaron con este extracto (Absorbancia > 0.1435).

6.2.2 Reactividad de los sueros positivos hacia el ESA por IET

La reactividad de los 18 sueros ELISA/ESA positivos junto con el 10% de los sueros ELISA/ESA negativos (96 sueros seleccionados de manera aleatoria) se evaluó por IET, confrontándolos con el ESA (figura 7). Los sueros positivos reaccionaron con bandas de entre 38 y 104 kDa, las cuales correspondieron con el peso molecular de las bandas antigénicas del patrón que caracteriza la respuesta humoral de los pacientes con triquinosis, descrito previamente por Alcántara y Correa (1993). El cuadro 6, muestra que el mayor número de bandas reconocidas por los sueros positivos fue de nueve y el menor de dos. No se encontró correlación entre los valores de absorbancia de las muestras ELISA/ESA positivas y el número de bandas reconocidas ($r^2=0.164$). Sólo un suero del grupo de negativos reaccionó con el antígeno, el cual reconoció una banda de 59 kDa (figura 7; carril 6 de izquierda a derecha del grupo "negativos").

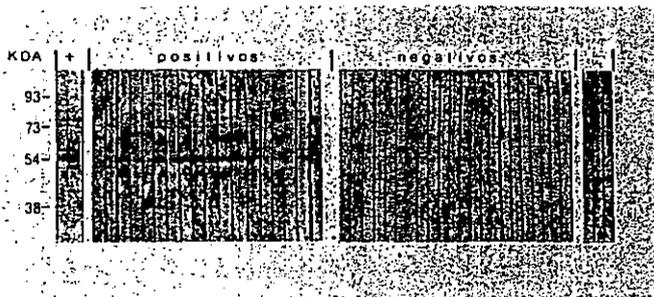


Figura 7. Inmunolectrotransferencia de los sueros ELISA/ESA positivos y de algunas muestras ELISA/ESA negativas. La reactividad de los sueros se analizó, empleando un extracto crudo de la larva infectiva de *Trichinella spiralis*. Los sueros ELISA/ESA positivos se muestran en el grupo "positivos", algunos sueros del grupo ELISA/ESA negativos se agrupan en "negativos". Del lado izquierdo de la figura se muestran dos sueros de pacientes con triquinelosis (+) y del lado derecho de personas sanas (-). En el grupo "negativos" se observa que un suero reconoció una banda de 59 kDa (carril 6, asterisco). Los pesos moleculares de referencia se indican a la izquierda de la figura.

Cuadro 6. Número y peso molecular de las bandas reconocidas en IET/ESA por los sueros del estudio epidemiológico en relación a su absorbancia a 405 nm en ELISA/ESA (presenta el mismo orden de la fotografía)

ELISA/ESA	SUERO	BANDAS RECONOCIDAS EN EL ESA POR IET	TOTAL DE BANDAS	ABSORBANCIA A 405nm
positivos	97	93, 59, 54, 52, 50, 42	6	0.211
	100	66, 59, 54, 50	4	0.183
	139	77, 66, 54	3	0.167
	173	63, 54	2	0.535
	211	73, 63, 59, 54,	4	0.178
	296	66, 59, 54, 50	4	0.358
	358	77, 73, 66, 54, 50, 42, 38	7	0.776
	362	77, 73, 66, 54, 50, 42, 38	7	0.559
	465	77, 73, 63, 54, 38	5	0.337
	476	63, 54, 50, 42, 38	5	0.259
	558	93, 77, 73, 63, 59, 54, 52, 50, 38	9	0.158
	559	93, 77, 73, 63, 38	5	0.294
	581	54, 42	2	0.337
	623	54, 50	2	0.180
	659	54, 50, 42,	4	0.201
	665	59, 54, 52	3	0.468
	671	66, 52	2	0.284
705	63, 52	2	0.281	
negativos	320	59	1	<0.1435

ELISA= ensayo inmunoenzimático

ESA= extracto soluble antigénico

IET= inmunoelectrotransferencia

Con base en los datos del cuadro 6, se construyó un gráfico de frecuencia de reconocimiento de bandas, en el que se observa que el 83.3% de los sueros ELISA/ESA positivos reconocieron la banda de 54 kDa. La banda de 93 kDa fue la menos reconocida (16.6%), mientras que la banda de 104 kDa, no fue reconocida (figura 8).

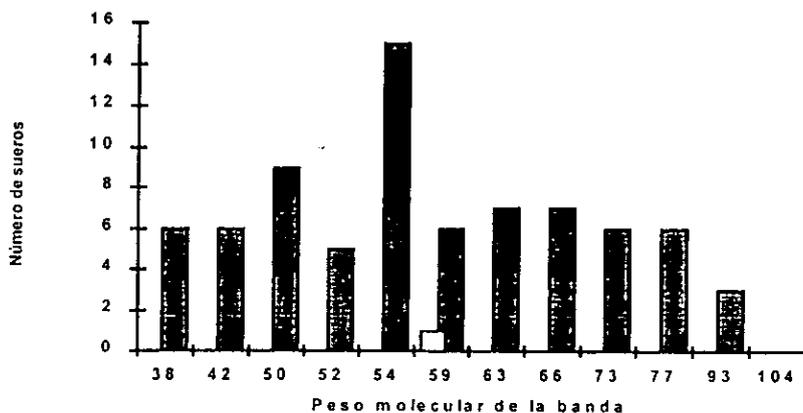


Figura 8. Frecuencia de reconocimiento de antígenos de *Trichinella spiralis* por IET. El análisis de frecuencia se realizó con base en el número de sueros que reconocieron una determinada banda en el extracto crudo de la larva L₁. Las barras oscuras corresponden al grupo de sueros ELISA/ESA positivos (n=18), las barras blancas corresponden al grupo de sueros ELISA/ESA negativos (n=94).

La sensibilidad y la especificidad de la IET, con respecto al ELISA empleando ESA fue del 100 y del 99%, respectivamente ya que, por un lado, todos los sueros ELISA/ESA positivos reconocieron al antígeno (cuadro 8) y, por el otro, no se descarta la presencia de anticuerpos de reacción cruzada en el suero ELISA/ESA negativo. Con estos resultados, se calculó que la prevalencia de anticuerpos sería similar a la que se calculó por ELISA (cuadro 9).

6.2.3 Reactividad de los sueros positivos hacia los PES por ELISA

Con esta técnica se analizaron los 18 sueros ELISA/ESA positivos y 10% de las muestras ELISA/ESA negativas, 10 sueros del primer grupo fueron positivos y ninguno de los sueros que integró el segundo grupo fue positivo (cuadro 8). No hubo correlación entre las absorbancias de las muestras ELISA/ESA positivas y las ELISA/PES positivas ($r^2=0.55$). Para este ensayo, se calculó una sensibilidad del 55.6% y una especificidad del 100% con respecto al ELISA/ESA. Con esta combinación de técnica y antígeno se calculó una seroprevalencia de 1.0% (cuadro 9).

6.2.4 Reactividad de los sueros positivos hacia los PES por IET

Quince de los 18 sueros ELISA/ESA positivos (cuadro 8), reconocieron un duplete de 59 y 54 kDa y/o una banda de 38 kDa; el suero IET/ESA positivo del grupo ELISA/ESA negativos reconoció una banda de 38 kDa. El resto de los sueros del grupo negativo no reaccionó con los PES (figura 9).

Para analizar la frecuencia de reconocimiento de las bandas antigénicas de los PES en IET se elaboraron el cuadro 7 y la figura 10, en las cuales se observó que el 82% de los sueros positivos por IET/PES reaccionaron con un duplete de 54 y 59 kDa, aunque solamente el 45% de ellos reconoció de manera exclusiva este duplete. No hubo correlación entre los valores de absorbancia por ELISA/PES de las muestras y el número de bandas reconocidas por IET/PES.

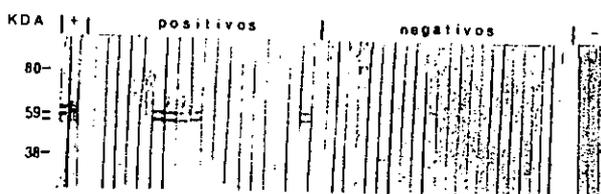


Figura 9. Patrón de reconocimiento antigénico de los productos de excreción y secreción de la larva infectiva de *Trichinella spiralis* por los sueros ELISA/ESA positivos y los sueros ELISA/ESA negativos. La reactividad de los sueros se analizó por IET, de acuerdo a la técnica descrita en la sección de Materiales y Métodos. Los sueros ELISA/ESA positivos se agruparon como "positivos" y solo se muestran alguno de los sueros ELISA/ESA negativos, agrupados como "negativos". En la figura se observa que un suero negativo reaccionó con una banda de 38 kDa (carril 6 de izquierda a derecha). Del lado izquierdo de la figura se observa la reacción de dos sueros de pacientes con triquinelosis (+) y del lado derecho la reacción de cinco sueros de personas sanas (-). El peso molecular de las proteínas que se utilizaron como estándar se indica a la izquierda de la figura.

Cuadro 7. Número y peso molecular de las bandas reconocidas en IET/PES por los sueros del estudio epidemiológico en relación a su absorbancia a 405 nm en ELISA/PES (presenta el mismo orden de la fotografía).

MUESTRA ELISA/ESA	SUERO	BANDAS RECONOCIDAS EN EL ESA POR IET/ES	TOTAL DE BANDAS	ABSORBANCIA A 405nm ELISA/ES
positivos	97	59,54	2	0.062
	100	59,54	2	0.008
	139		0	0.063
	173	59,54	2	0.446
	211	59,54	2	0.062
	296	38	1	0.223
	358		0	0.269
	362	38	1	0.346
	465	63,59,54	3	0.162
	476	63,59,54, 38	4	0.046
	558	63,59,54	3	0.123
	559	63,59,54	3	0.031
	581		0	0.138
	623		0	0.146
	659	50	1	0.000
665	42,38	2	0.023	
671	59,54	2	0.254	
705	42,38	2	0.146	
negativos	320	38	1	<0.092

ELISA= ensayo inmunoenzimático

ESA= extracto soluble antigénico

IET= inmunoelectrotransferencia

Como solo 15 de 18 sueros ELISA/ESA positivos, se confirmaron en IET/PES (cuadro 8), se estimó que la correlación entre estos ensayos/antígenos es del 83%. El suero ELISA/ESA negativo que reconoció una banda en el IET/ESA, reconoció una banda de 38 kDa por IET/PES (figura 9; tira 6 de izquierda a derecha del grupo "negativos"), con lo cual se calculó que la especificidad del ensayo sería del 99%. Con estos datos se calculó que la prevalencia de anticuerpos sería del 1.6% (cuadro 9).

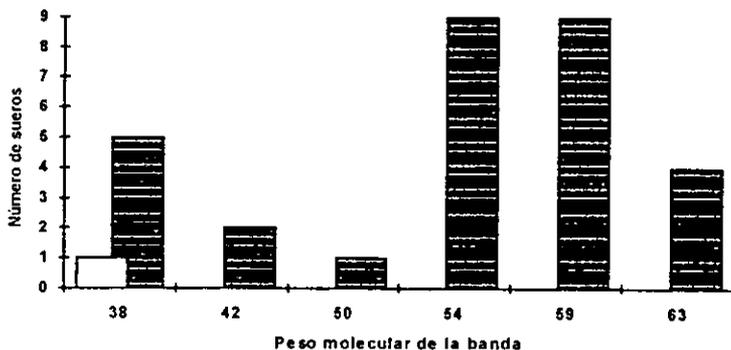


Figura 10. Frecuencia de reconocimiento de antígenos de los productos de excreción y secreción de la larva infectiva *Trichinella spiralis* por IET. El análisis de frecuencia se realizó con base en el número de sueros que reconocieron una determinada banda en los productos de excreción y secreción. Las barras oscuras corresponden al grupo de sueros ELISA/ESA positivos (n=18), las barras blancas corresponden al grupo de sueros ELISA/ESA negativos (n=94).

Cuadro 8. Número de sueros positivos reconocidos en los ensayos ELISA/ESA/PES y en IET/ESA/PES del total de 954 sueros del estudio epidemiológico.

ENSAYO/ANTIGENO	SUEROS POSITIVOS (+)	SUEROS DEL GRUPO NEGATIVOS (96)
ELISA -ESA	18 +	-
ELISA- PES	10 +	-
IET-ESA	18 +	1 +
IET-PES	15 +	-

ELISA= ensayo inmunoenzimático. ESA= extracto soluble antigénico
IET= inmunoelectrotransferencia. PES= productos de excreción secreción.

Cuadro 9. Prevalencia de anticuerpos α -*Trichinella* en Cerritos, SLP empleando dos preparaciones antigénicas de la larva infectiva y dos técnicas inmunoenzimáticas.

Ensayo/antígeno	sensibilidad	especificidad	prevalencia
ELISA-ESA *	-	-	1.9
ELISA-PES	55.56	100	1.0
IET-ESA	100	98.89	1.9
IET-PES	83	98.89	1.6

Los datos se presentan en porcentaje

ELISA= ensayo inmunoenzimático

ESA= extracto soluble antigénico de la larva infectiva

IET= inmunoelectrotransferencia.

PES= productos de excreción y secreción de la larva infectiva.

* Ensayo estandarizado con sueros de individuos que presentaron ELISA-ESA positivo/ biopsia positiva, así como sueros de individuos ELISA-ESA negativo/biopsia negativo.

6.2.5 Análisis de los factores de riesgo

Para la obtención de los factores de riesgo, se analizó la encuesta aplicada al total de los participantes para así conocer las variables de mayor asociación a anticuerpos contra *Trichinella spiralis* mediante un *análisis univariado*; de esta manera la encuesta reveló lo siguiente: la mayor parte de la población en estudio es joven (edad entre los 17 y 40 años) del sexo femenino, cuya principal actividad es el hogar, aproximadamente el 50% cría cerdos en sus casas, de los cuales cerca de la tercera parte deambula libremente y además la ingesta de cerdo es frecuente entre la población (cuadro 10).

Cuadro 10. Variables de interés observadas en la encuesta epidemiológica.

variable	valor observado
edad (x+/- d.s.s)	33.6+/-17.14
sexo femenino (%)	76.0
crianza de cerdos (%)	50.2
cerdos en libertad (%)	21.5
ingesta frecuente de cerdo (%)	90.3
anticuerpos contra triquinela en suero (%)	2.0

Análisis univariado (Aranda 1994).

En este contexto, al examinar la relación de estos factores con la seropositividad a anticuerpos contra *Trichinella spiralis* mediante la comparación de los resultados serológicos positivos con los factores de mayor significado estadístico en el análisis de regresión logística o *análisis bivariado* realizado en el programa comercial Egret, se obtuvo lo siguiente:

Los factores de riesgo que se asociaron con la presencia de anticuerpos detectados por ELISA/ESA fueron género femenino y consumo de moronga (cuadro 11).

Cuadro 11. Análisis de los factores de riesgo asociados a la presencia de anticuerpos.

factor de riesgo	frecuencia ¹		razón de momios	95% limite de confianza	p
	femenino	masculino			
sexo	2.36%	0.45%	5.66	0.79-114.7	0.04*
	3.75%	1.16%	3.31	1.19-9.29	0.008**
consumo de moronga	expuestos	no-expuestos			

*Fisher exacta

** χ^2 corregida por Mantel-Haenzel

¹ Frecuencia se define como el porcentaje de muestras positivas para el ELISA de detección de anticuerpos por grupo de riesgo. Para calcular la frecuencia se empleó la siguiente fórmula:

$$Frecuencia = \frac{\text{número de muestras positivas del grupo de riesgo}}{\text{número total de muestras del grupo de riesgo}} \times 100$$

Los valores de razón de momios e intervalo de confianza al 95% para las variables sexo femenino y consumo de moronga fueron corregidos por el programa estadístico Epi- Info, contemplando de ésta manera igual número de hombres y mujeres en el estudio

Razón de momios (RM): Parámetro dado por un rango cuya función es estimar la asociación en éste estudio.

Criterio: Si $RM > 1$, el factor tiene asociación estadística positiva con la variable en estudio (positividad a anticuerpos).

Si $RM < 1$, no hay asociación estadística positiva a anticuerpos.

Modelo matemático de RM:

$$RM = \frac{(P1/q1) (P2/q2)}{P1q2/P2/q10} \text{ ad/bc}$$

En este caso, la RM para la variable sexo es de 5.66, y para el consumo de moronga es 3.31.

Intervalo de confianza al 95%: Parámetro usado como estimador de intervalo de la población en estudio, en el cual se dice que se tiene el 95% de confianza de que el intervalo único calculado contenga a la media de la población.

Modelo matemático: $\bar{x} \pm z(1 - \alpha/2) \delta x$

Donde: \bar{x} = media de la población del estudio.

Z = Coeficiente de confiabilidad para el intervalo de 95%.

$1 - \alpha = 0.95$, el intervalo recibe el nombre de intervalo de confianza al 95% para \bar{x} .

Z = valor de la distribución normal unitaria que indica dentro de cuántos errores estándar se encuentran aproximadamente el 95% de los valores posibles de \bar{x} (media de la población).

δx = error estándar o desviación estándar de la distribución de muestreo de \bar{x} .

En este caso, el intervalo de confianza al 95% corregido para la variable sexo es de 0.79 – 114.7 con una $p = 0.04$, y para consumo de moronga es 1.19-9.29 con una $p = 0.008$.

7.0. DISCUSION

La triquinelosis es una zoonosis cosmopolita de tipo epidémica cuyos signos y síntomas pueden dificultar el diagnóstico clínico al confundirlos con los producidos por otras enfermedades; por ello, se han implementado diversos métodos para detectar la parasitosis. Por ser los más sensibles y específicos, las técnicas inmunológicas han sido las más empleadas para detectar anticuerpos específicos, contra antígenos de la larva infectiva (Au *et al.*, 1983; Chapa *et al.*, 1992; Morakote *et al.*, 1991; Weiner y Price, 1956).

Actualmente las técnicas de mayor uso son el ELISA y la IET ; el primero es una técnica sencilla y de fácil ejecución que puede ser utilizada como herramienta en estudios epidemiológicos, debido a que con ella se puede realizar el diagnóstico de muchas muestras al mismo tiempo y, adicionalmente se ha observado que las reacciones cruzadas que se puedan presentar con el suero de otros agentes infecciosos es mínima o no existe (De la Rosa *et al.*, 1995). La segunda técnica aunque más compleja en su ejecución, puede utilizarse, como prueba confirmatoria, ya que los sueros de pacientes con triquinelosis reaccionan de manera característica cuando se confrontan con un extracto soluble antigénico enriquecido con componentes de superficie y esticosoma de la larva infectiva (Alcántara y Correa, 1993), de esta manera las reacciones cruzadas que se pudieran presentar quedarían en evidencia (De la Rosa *et al.*, 1995).

Considerando estos antecedentes, se planteó la realización de este estudio epidemiológico de corte transversal en una zona suburbana del estado de San Luis Potosí en donde se determinó la presencia de anticuerpos específicos contra *Trichinella spiralis* mediante la combinación del ELISA y de la IET empleando dos antígenos obtenidos de la larva infectiva, uno es un extracto enriquecido con componentes de superficie y esticosoma (ESA) y el otro son los productos de excreción y secreción (PES). El ELISA se empleó como prueba de rutina para la búsqueda de anticuerpos y asociarlos a los factores de riesgo y la IET como prueba confirmatoria. Para diferenciar entre muestras positivas y negativas en el ELISA, se estableció un punto de corte considerado como el promedio de las absorbancias de 90

sueros sanos más tres desviaciones estándar. Durante el estudio se examinaron con el ESA 954 sueros y se encontraron 18 muestras positivas, con lo que se calculó una prevalencia de anticuerpos del 1.9%. Por IET los 18 sueros positivos reaccionaron con dos o más componentes antigénicos del ESA y, adicionalmente se observó que uno de los 90 "sueros- negativos" reconoció una banda de 59 kDa (figura 7, carril 6 de izquierda a derecha del grupo "negativos"). Con estos datos se calculó que la seroprevalencia de anticuerpos sería del 1.9% y que la IET tiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 99% con respecto al ELISA (cuadro 9).

Con la finalidad de determinar con precisión la prevalencia de anticuerpos anti-*Trichinella spiralis* en las muestras de Cerritos, se planteó el uso de los PES para evaluar la reactividad de los 18 sueros positivos y de los 90 sueros negativo probados por IET. Por ELISA se observó que sólo 10 de los 18 sueros positivos reaccionaron con el antígeno y ninguno de los sueros negativos, incluyendo al suero que reaccionó con el ESA por IET; con estos datos se estimó que la prevalencia de anticuerpos es del 1% (cuadro 9).

Por IET se observó que 15 de los 18 sueros positivos (cuadro 8) reconocieron principalmente un duplete de 54 y 59 kDa; de los sueros negativos, el suero que reaccionó con el ESA, reconoció una banda de 38 kDa (figura 9, carril 6 de izquierda a derecha del grupo "negativos"). Si la reactividad de este suero negativo se considerara como reacción cruzada, la especificidad y la sensibilidad del IET, en comparación al ELISA con ESA, sería del 95% y del 83% respectivamente. Con esta consideración la seroprevalencia se estimaría en 1.6% (cuadro 9).

Estos resultados, son parecidos a los registrados en estudios de prevalencia que utilizan métodos inmunológicos; tal es el caso de Mazzotti y Lozano (1944), quienes observaron que el 2.2% de 1,000 personas residentes de la Ciudad de México reaccionaron con un extracto salino de la larva infectiva mediante el uso de la prueba intracutánea de Bachman. Cabrera (1977), empleando la floculación con bentonita, observó que el 2.88% de 800 sueros provenientes de residentes del Estado de Chiapas, reaccionaron con un extracto antigénico crudo (SASA) y con un extracto

antigénico parcialmente purificado (fracción ácido soluble de Melcher) de la larva infectiva. Estos datos, junto con los que se encontraron en los sueros de Cerritos, podrían hacer suponer que la seroprevalencia de anticuerpos anti-*Trichinella* sp. en la zona Centro-Sur del país es cercana al 2.0%. Sin embargo, estos datos de seroprevalencia, son menores a los hallados en estudios de necropsias humanas realizadas en cadáveres provenientes del servicio forense y hospitales de la Ciudad de México, en los cuales se observó que entre el 4.2 y 12% de los cadáveres albergaban larvas infectivas en el diafragma, aunque en el 75% de las observaciones las larvas se encontraron calcificadas indicando con ello que la parasitosis era muy antigua, además en la mayoría de los casos la carga parasitaria era menor a 10 L₁/g (Martínez-Marañón, 1974; Mazzotti 1944; Mazzotti y Chavira, 1943). De manera similar a otras enfermedades helmínticas, la severidad de la triquinelosis se relaciona a la carga parasitaria, por lo cual muchos casos pueden cursar como asintomáticos. Además, existen otras enfermedades cuyos síntomas aparentes pueden confundir la triquinelosis con brucelosis, fiebre tifoidea e intoxicación alimentaria (Cabral-Soto, 1990; Martínez- Marañón, 1985; Fragoso, 1981; Martínez- Marañón, 1979).

La diferencia entre los datos de seroprevalencia (2%) y los de diagnóstico etiológico (4.2 al 12%) podría explicarse en el sentido de que la sensibilidad del inmunodiagnóstico esta sujeta a la presencia de anticuerpos y a la calidad del antígeno, mientras que la sensibilidad del diagnóstico etiológico se ve favorecida en estudios de necropsia porque la larva infectiva permanece en el lugar donde se ha establecido y cuando se resuelve la parasitosis, la célula nodriza se calcifica, por lo que la "huella de la parasitosis" existe.

En brotes diversos ocurridos en la República Mexicana, se ha observado que la parasitosis afecta selectivamente a personas en edad reproductiva, entre 15 y 44 años (Cabral *et al*, 1989 ; Martínez- Marañón *et al*, 1979; 1982; 1985) en este contexto, en Cerritos no se encontró asociación entre la edad y la presencia de anticuerpos.

En lo que respecta al uso de los productos de excreción y secreción de la larva infectiva en los inmunoensayos, se ha observado que aunque su especificidad es

mayor, su sensibilidad es menor al de los extractos totales (ESA) porque los anticuerpos específicos sólo se detectan, si la carga parasitaria del diafragma es mayor a 1 larva por 10 gramos de peso (Gamble *et al.*, 1983).

Recientemente se ha propuesto que el inmunodiagnóstico podría mejorarse (incrementando la sensibilidad y especificidad) utilizando antígenos TsL-1, los cuales comparten un epitopo del carbohidrato tivelosa, el cual ha sido identificado como un epitopo inmunodominante de *Trichinella* (Wisnewski *et al.*, 1996).

Durante el análisis de los factores de riesgo en el estudio de Cerritos, se encontró que el riesgo de contraer la infección es mayor para las mujeres y que el consumo de moronga se asocia con la presencia de anticuerpos (cuadro 11), lo cual concuerda con otros estudios en los que se ha observado mayor prevalencia de larvas infectivas en los cadáveres femeninos que en los masculinos (Martínez-Marañón, 1974). Una posibilidad para explicar la asociación entre el género femenino y la presencia de larvas infectivas puede ser que, en las comunidades rurales, las mujeres preparan los alimentos y continuamente los "prueban" para condimentarlos, pero tampoco se descarta la posibilidad de que este fenómeno pueda estar ligado a susceptibilidad genética, aunque en esta materia no se han reportado estudios para resolver esta incógnita. Con respecto al consumo de moronga este podría tener intervención en la transmisión del helminto ya que, es un alimento preparado con sangre, carne e intestino de cerdo. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que los participantes del estudio pudieran haber confundido la moronga con otros alimentos de apariencia similar como la longaniza y el chorizo, en los cuales se ha observado la presencia de larvas infectivas (Quiroz y Landeros, 1988) y cuyo consumo se ha asociado con brotes de triquinosis (Sarti *et al.*, 1986).

Contradictorio a lo que se esperaba, el evento consumo de carne de cerdo, no se asoció con la presencia de anticuerpos, pese a que el análisis de los factores socioeconómicos de la población mostró que el 90% de la comunidad consume carne de cerdo frecuentemente (al menos una vez cada quince días) y que de ellos el 50% los crían como sustento familiar (21% permiten que sus cerdos deambulen con lo que

el cerdo podría tener contacto directo con roedores y quizás con restos de animales carroñeros portadores de *Trichinella spiralis*).

Al término del estudio se indagó sobre otros hábitos alimentarios no contemplados y se encontró que el consumo de "rata de campo" (*Rattus* sp.) es común entre la población, ya que la venta en el mercado de la comunidad es cotidiana, lo cual sugiere que la transmisión de *Trichinella* pudiera ser también a través del consumo de la carne de este animal.

8.0. CONCLUSIONES

En el estudio epidemiológico de Cerritos, SLP, se encontró una prevalencia de anticuerpos contra *Trichinella spiralis* del 1.9, 1.0, 1.9 y 1.6%, de acuerdo a la combinación del antígeno y técnica utilizados ELISA ESA/PES e IET ESA/PES respectivamente.

La presencia de anticuerpos contra *Trichinella spiralis* en esta población abierta se asoció con el *género femenino* y con el *consumo de moronga*. Por tanto, esta observación apoya la presencia de triquinelosis endémica en la región.

9.0. REFERENCIAS

- ALCANTARA I. (1995). Prevalencia de seroantígenos en una población abierta de San Luis Potosí, México. Tesis Biólogo. Fac. Ciencias, UNAM
- ALCANTARA P., CORREA D. (1993). Human humoral immune response against *Trichinella spiralis*. Int. J. Parasitology, 23: 657-660.
- ALCANTARA P., DE LA ROSA J. L., CORREA D. (1992). Triquinelosis: una parasitosis fuera de serie. Publicación técnica del INDRE-SS número 16. México. 56 pp.
- ALCANTARA P., GORODEZKY C., CORREA D., MARTINEZ M., MAGOS C., OLIVO A. (1989). Diagnosis of human trichinosis by the enzyme linked immunosorbent assay. Rev. Lat. Amer. Microbiol. 31: 227-230.
- ALMOND M., PARKHOUSE R. M. E., CHAPA R., GARCIA E. (1986). The response of humans to surface and secreted antigens of *Trichinella spiralis*. Trop. Med. Parasit. 37: 381-384.
- ANDREWS R. H., AINSWORTH R., ABERNETHY D. (1994). *Trichinella pseudospiralis* in humans: description of case and its treatment. Trans Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg. 88: 200-203.
- ARANDA A. J.; (1994). Seroprevalencia de Cisticercosis y factores de riesgo asociados en población solidariohabitante en Cerritos, S.L.P. Tesis de Especialidad en Epidemiología, IMSS-INDRE 36 pp.
- APPLETON J. A., BELL R. G., HOMAN W., VAN KNAPEN F. (1991). Consensus on *Trichinella spiralis* antigens and antibodies. Parasitology Today, 7: 190-192.
- ARRIAGA C., MUÑIZ E., MORILLA A., ORTEGA-PIERRES G. (1989). *Trichinella spiralis*: recognition of a muscle larva antigens during experimental infection of swine and its potential use in diagnosis. Exp. Parasitol. 69: 363-372.
- ARRIAGA C., YEPEZ L., MORILLA A., ORTEGA-PIERRES G. (1995). Detection of circulating *Trichinella spiralis* muscle larval antigens in serum samples of experimentally and naturally infected swine. Vet. Parasitol. 58: 319-326.
- AU C., KO C., SIMON W., RIDELL J., WONG T., TEMPLER J. (1983). Study of acute trichinosis in ghurkas: specificity and sensitivity of enzyme-linked immunosorbent assays for IgM and IgE antibodies to *Trichinella* larval antigens in diagnosis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 77: 412-415.
- BAGHERI A., UBELAKER J. E., STEWART G. L., WOOD B. (1986). Muscle fiber selectivity of *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis*. J. Parasitol. 72: 277-282.
- BARRIGA O.O. (1977). Reactivity and specificity of *Trichinella spiralis* fractions in cutaneous and serological test. J. Clin. Microbiol. 6: 274-279.
- BELOSEVIC M ; DICK T.A. (1979). *Trichinella spiralis*: Comparison of stages in host intestine with those of an Arctic *Trichinella* sp.. Exp. Parasitol. 48: 432-446.

- BELOSEVIC M., DICK T. A. (1980). Chemical attraction in the genus *Trichinella*. J. Parasitol. 66: 88-93.
- BIAGI F. (1985). Enfermedades parasitarias. 2a ed. La Prensa Médica Mexicana. México, D.F. pp. 376.
- BRADFORD M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry 72: 248-254.
- CABRAL S. J., VILICAÑA F. H., FRAGOSO U. R., CONTRERAS A. (1989). Triquinosis en Zacatecas: perfil epidemiológico 1978 a 1988. Infectología. 10: 627-636.
- CABRAL S. J., VILICAÑA F. H., FRAGOSO U. R., CONTRERAS A. (1990). Perfil epidemiológico de la triquinosis en el Estado de Zacatecas. Salud Pública, Mex., 32: 575- 582.
- CABRERA T. N. (1977). Encuesta serológica de la triquinosis en el Estado de Chiapas, México, utilizando la floculación con bentonita como prueba. Tesis Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM.
- CAMPBELL W. C. (1983). Historical Introduction EN: *Trichinella* and trichinosis. CAMPBELL W (ed). Plenum Press. New York. pp15-29.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). (1991). *Trichinella spiralis* infection. United States, 1990 MMWR. 40(4): 57-60.
- CHAPA R. (1991). Diagnóstico de triquinosis. En: Zoonosis parasitarias FMVZ, UNAM. pp202-204.
- CHAPA R., SALINAS-TOBON R., AGUILAR D. J., MARTÍNEZ-MARAÑÓN R. (1992). Recognition of *Trichinella spiralis* muscle larvae antigens by sera from human infected with this parasite and its potential use in diagnosis. Rev. Latinoam. Microbiol. 34: 95-99.
- CHESTER B. P; CLIFTON J.R. Parasitología Clínica. Salvat Editores, 2ª edición, (1990). México D.F. PP 251-260.
- COMPTON S., CELUM C., LEE C., THOMPSON D., SUMI S., FRITSCH T., COOMBS R. (1993). Trichinosis with ventilatory failure and persistent myocarditis. Clin. Inf. Diseases. 16: 500-504.
- CORREA D., ALCANTARA P., SARTI E. Triquinosis en Chalco (datos no publicados).
- CORREA D., DE LA ROSA J. L. ORTEGA-PIERRES G. Trichinellosis: human epidemiology data in Mexico from 1943 to 1995. Proceedings of the nine international conference on trichinellosis. México (en prensa)
- DAME J., MURREL K., WORLEY D., SCHAD G. (1989). *Trichinella spiralis*: genetic evidence for synanthropic subspecies in sylvatic hosts. Exp. Parasitol. 64:195-199
- DE LA ROSA J.L; ALCANTARA P; CORREA D. Investigation of cross-reaction against *Trichinella spiralis* antigens by ELISA and EIT assay in patients with other diseases. Clinical Diag Lab Immunol 1995 ; 2 : 122-124.

- DESPOMMIER D. D. (1977). Immunity to *Trichinella spiralis*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26:68-75.
- DESPOMMIER D. D. (1983). Biology. EN: *Trichinella* and trichinosis. CAMPBELL W. (ed). Plenum press. New York. pp 75-142.
- DESPOMMIER D. D. (1990). *Trichinella spiralis*.: the worm that would be virus Parasitol. Today. 6193-196.
- DESPOMMIER D. D., SYMMANS W. F., DELL R. (1991). Changes in nurse cell nuclei during synchronous infection with *Trichinella spiralis* trichinosis. J. Parasitol. 77: 290-295.
- DI BARI C; SANTAGADA G; POZIO E; SCHIRALDI O. (1990). Epidemiological research on trichinellosis in Apulia and Basilicata (southern Italy). Eur. J. Epidemiol. 0392-2990, vol. 6, No. 4: 412-415.
- DICK T., SILVER B. (1980). Intestinal distribution of *Trichinella spiralis* in rats. J. Parasitol. 66: 472-477.
- FRAGOSO R. (1981). Un brote de triquinosis en Villanueva, Zacatecas. Salud Pub. Mex. 23: 25-41.
- GAMBLE H. R. (1984). Application of hybridoma technology to the diagnosis of parasitic diseases. Vet. Parasit. 14: 251-261.
- GAMBLE H. R., ANDERSON W., GRAHAM C., MURREL K. D. (1983). Diagnosis of swine trichinosis by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an excretory-secretory antigen. Vet. Parasitol. 13: 349-361
- HERNANDEZ M., RAMOS-MARTINEZ E., CASCO-SANCHEZ E. J., MORALES-GOMEZ J. M. Triquinosis aguda (1992). Epidemia de 166 casos en Ciudad Delicias, Chih. Diagnóstico por compresión tisular y tinción. Gaceta Médica de México. 128:45-50.
- HOMAN W. L., VAN-KNAPEN F. (1992). Identification of diagnostic antigens from *Trichinella spiralis*. Parasitol. Research. 78: 112-119.
- IVANOSKA D., CUPERLOVIC K., GAMBLE H. R., MURRELL K. D. (1989). Comparative efficacy of antigen and antibody detection test for human trichinellosis J. Parasitol. 75:38-41.
- KAPEL C. M. (1995). *Trichinella* in the arctic, subarctic and temperate regions: greenland, the nordic countries, and the blatic states. Second seminar on food-borne parasitic zoonoses: current problems, epidemiology, food safety and control. Abstracts. Tailandia.
- KIM C. W. (1983). Epidemiology II: Geographic distribution and prevalence. EN: *Trichinella* and trichinosis. Campbell W.C. (ed) Plenum Press. New York. pp.445-487.
- KO R. C. (1995). A brief update on diagnosis of trichinellosis. Second seminar on food-borne parasitic zoonoses: current problems, epidemiology, food safety and control. Abstracts. Tailandia.

- KO R. C. FAN L. LEE DL. COMPTON H. (1994). Changes in host muscles induced by excretory secretory products of larval *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis*. Parasitology. 108:195-205.
- KOLATA G. (1985). Testing for trichinosis. Science. 227: 621-624.
- LAMOTHE R., GARCIA L. (1988). Helminthiasis del hombre en México. AGT. México, D.F. pp.74-77.
- LAEMMLI U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-685.
- LEE T., BEFUS D. (1989). Effects of rat and human intestinal lamina propria cells on viability and muscle establishment of *Trichinella spiralis* newborn larvae. J. Parasitol. 75 (1): 124-428.
- LEIBY A., DUFFY H., MURREL K. D., SCHAD G. 1990. *Trichinella spiralis* in an agricultural ecosystem: transmission in the rat population. J. parasitol. 76: 360-365.
- LJUNGSTROM. I., HAMMARSTROM. L. KOCIECKAW., SMITH E. (1988). The secuencial appearance of IgG subclasses and IgE during the course of *Trichinella spiralis* infection. Clin. Exp. Immunol. 75: 230-236.
- MARTINEZ-MARAÑÓN R. (1979). Un pequeño brote familiar de triquinosis en Naucalpan México. Salud Publ. Mex. 21: 161-165.
- MARTINEZ-MARAÑÓN R. (1985). ¿Está aumentando la triquinosis en México? ¿Podría ser una consecuencia inesperada de nuestro desarrollo?. Salud Pub. Mex. 27: 40-51.
- MARTINEZ-MARAÑÓN R., RUIZ F. M. FLORES M. O., GALLARDO H. J., LONGORIA M. A., ROJAS C. F., CORTES C. A., ESCOBAR L. M., DIAZ C. (1979). Triquinosis en Zacatecas, Zac. Estudio Epidemiológico y Clínico. Prensa Med. Mex. 11: 278-287.
- MARTINEZ-MARAÑÓN R., TREJO J., DELGADO-AGUIRRE B. (1974). Frecuencia de la Infección por *Trichinella spiralis* en 1000 diafragmas de cadáveres de la ciudad de México en 1972-1973. Rev. Inv. Salud Pública 34: 95-105.
- MARTINEZ-PANTALEÓN O., VIGUERAS-RENDÓN A., CARVAJAL-GUTIERREZ M., FLORES-PEREZA A., ABRAHAM-JALIL A. (1986). Triquinosis. Bol. Med. Hosp. Med. Infant. Mex. 43: 181-183.
- MAZZOTTI L. 1944. Examen de 400 diafragmas humanos en la ciudad de México para investigar triquinosis. Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop. 5: 157-161.
- MAZZOTTI L., ALCANTAR O. (1954). Incidencia de *Trichinella spiralis* en 900 ratas (*Rattus norvegicus*) en la ciudad de México. Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop. 15: 201-202.
- MAZZOTTI L., CHAVIRA C. (1943). Investigación de triquina en 600 diafragmas humanos de la ciudad de México. Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop. 4: 343-345.

- MAZZOTTI L., LOZANO E. (1944). La prueba intracutánea de Bachman para el diagnóstico de la triquina en 1,000 personas sanas de la ciudad de México. Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop. 5: 31-35.
- MAZZOTTI L., NUÑEZ C. (1948). Incidencia de triquinela en gatos de la ciudad de México. Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop. 9: 51-54.
- MCAULEY J., MICHELSON M., SCHANTZ P. (1991). *Trichinella* infections in travelers. J. Infect. Diseases. 164:1013-1016.
- MCLAREN D. J., ORTEGA-PIERRES G., PARKHOUSE R. M. E. (1987). *Trichinella spiralis*: Immunocytochemical localization surface and intracellular antigens using monoclonal antibody probes. Parasitol. 6:279-284.
- MIKHAIL E. M., MANSOUR N. S., AWADALLA H. N. (1994). Identification of *Trichinella* isolates from naturally infected stray dogs in Egypt. J. Parasitol. 80: 151-154.
- MORAKOTE N., KHAMBOONRUANG C., SIRIPRASERT V., SUPHAWITAYANUKUL S., MARCANTACHOTL S., THAMASONTHI W., (1991). The value of the enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human trichinosis. Trop. Med. Parasitol. 42: 172-174
- NISHIYAMA T., ARAKI T., MIZUNO N., WADA T., IDE T., YAMAGUCHI T. (1992). Detection of circulating antigens in human trichinellosis Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 86: 292-293.
- NOBLE E.R Y NOBLE G.A; (1965).Parasitología. Biología de los parásitos animales. Ed. Interamericana S.A. México. 2ª de. p.p 343.
- OLSEN O. W. (1974). Animal Parasites, Their Life Cycles and Ecology. University Park Press. Baltimore. pp 507-513.
- ORTEGA-PIERRES G., CHAYEN A., CLARK W. T., PARKHOUSE R. M. E. (1984). The occurrence of antibodies hidden and exposed determinants of surface antigens of *Trichinella spiralis*. Parasitol. 88: 359-69.
- ORTEGA-PIERRES G., MUÑIZ E., CORAL-VAZQUEZ R., PARKHOUSE R. M. E. (1989). Protection against *Trichinella spiralis* induced by purified stage-specific surface antigens of infective larvae. Parasitol. Reserch. 75: 563-569.
- ORTEGA-PIERRES G., YEPEZ L., HOMAN W., GAMBLE H. R., LIM P. L., TAKAHASHI Y., WASSOM D. L., APPLETON J. A. (1996). Workshop on a detailed characterization of *Trichinella spiralis* antigens: a platform for future studies on antigens and antibodies to this parasite. Parasite Immuno! 18: 273-284.
- OWEN D. (1990). Parasites of laboratory animal. The Royal Society of Medice Services Limited. London.
- PARKHOUSE R. M. E., ORTEGA-PIERRES G. (1984). Stage specific antigens of *Trichinella spiralis*. Parasitology. 88: 623-627.
- PARKHOUSE R. M. E. PHILIPP M. OGILVIE B. M. (1981). Characterization of surface antigens of

- Trichinella spiralis* infective larvae. Parasite Immunol. 3: 339-352.
- PAWLOWSKI Z. S. (1983). Clinical Aspects in Man. EN: *Trichinella* and trichinellosis. CAMPBELL W. (ed). Plenum Press. NEW YORK. pp 367.
- PERRIN, T.; (1939). Primeras observaciones sobre la frecuencia en México D.F. de triquinosis ignorados. Rev. Med. Hosp. Gral. 1: 437-443.
- PERRIN, T.; (1942). Algunos estudios sobre triquinosis ignorados. Ciencia 3: 108-114.
- POZIO E., LA ROSA G., MURRELL K. D., LICHTENFELS J. R. (1992). Taxonomic revision of the genus *Trichinella*. J. Parasitol. 78: 654-659.
- POZIO E., LA ROSA G., ROSSI P. (1989^a). *Trichinella* reference centre. Parasitol. Today. 5: 169-170.
- POZIO E., LA ROSA G., ROSSI P., FICO R. (1989b). Survival of *Trichinella* muscle larvae in frozen wolf tissue in Italy. J. Parasitology. 75: 472-473.
- QUIROZ H., LANDEROS R. (1988). Valoración del tiempo de sobrevivencia de larvas de *Trichinella spiralis* en chorizo de cerdo. Rev. Mex. Parasitol. 1: 22-24.
- REASON J., ELLIS A., APPLETON J. A., WISNEWSKI N., GRIEVE B., MCHEIL M., WASSOM L., MORRIS R., DELL A. (1994). Novel tyvelose-containing tri-and-tetra-antennary N-glycans in the immunodominant antigens of the intracellular parasite *Trichinella spiralis*. Glycobiology. 4:593-603.
- REINHARD K. J. (1991). Recent contributions to new world archaeoparasitology. Parasitol. Today. 7: 81.
- SALINAS R. (1994). Análisis longitudinal de la respuesta inmune humoral humana hacia antígenos de los tres estadios de *Trichinella spiralis*. Tesis Doctor en Ciencias. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.
- SARTI E., GUTIERREZ O. I., KOOPMAN J. S. (1986). Brote de triquinosis ocurrido en una oficina de gobierno, México, D.F. 1985. Salud Pub. Mex. 28: 41-47.
- SILBERSTEIN D. S. (1983). Antigenes. EN: *Trichinella* and trichinosis. CAMPBELL W (ed). Plenum press. New York. pp 309.
- SILBERSTEIN D. S. DESPOMMIER D. D. (1985). Effects on *Trichinella spiralis* of host responses to purified antigens. Science. pp. 227: 948.
- SNYDER D. E., ZARLENGA D. S., LA ROSA G., POZIO E. (1993). Biochemical, biological and genetic characterization of a sylvatic isolate of *Trichinella*. J. Parasitol. 79: 347-352.
- STEWART G. L., GIANNINI S. H. (1982). *Sarcocystis, Trypanosoma, Toxoplasma, Brugia, Ancylostoma* and *Trichinella* sp.: A review of intracellular parasites of striated muscle. Exp. Parasitol. 53: 406-447.

- TAKAHASHI Y., UNO T., MIZUNO N., SUZUKI H., SHIMAZU K., ARAKI T. (1990b). *Trichinella spiralis*: The *in situ* localization of muscle larva antigens recognized by humans. *Exp. Parasitol.* 70: 107-110.
- TAPIA R., (1995). Seroprevalencia de anticuerpos anti-cisticerco de taenia solium en cerritos San Luis. Potosi. Tesis quimico farmaceutico biologico. FES-Cuautitlan, UNAM.
- TOWBIN H., STAEBELIN T., GORDON J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrilamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76: 4350-4354.
- VELASCO O. (1991). Triquinosis. EN: Zoonosis parasitarias. FMVZ, UNAM. México. pp. 200-201.
- VOLLER A., BIDWELL D. E., HULDT G., ENGVALL E. (1974). A microplate method of enzyme linked immunosorbent assay and its application to malaria. *Bull. WHO.* 51: 209-218
- WAYNE W. DANIEL. (1983). Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ª reimpression. LIMUSA, México. pp 119-327.
- WAKELIN D., WILSON M. M. (1980). Immunity to *Trichinella spiralis* in irradiate mice. *Int. J. Parasitol.* 10: 37-40.
- WEINER L. M., PRICE S. (1956). A study of antigenic relationships between *Trichinella spiralis* and *Salmonella thypi*. *J. Immunol.* 77: 111-114.
- WISNEWSKI N., ZHAG J., BUNDLE D. R., WASSOM D. L. (1996). Use of a novel synthetic β -tyvelose-galnac neoglycan in serological detection of *Trichinella spiralis* infection. Ninth Internacional Conference on Trichinellosis. México City.
- YEPEZ L., ARRIAGA C., ORTEGA-PIERRES G. (1994b). Detección de anticuerpos contra *Trichinella* en caballos y en animales de zoológico mediante ensayos de ELISA e inmunoelctrotransferencia. XI CONAPAR. Querétaro, México
- YEPEZ L., ORTEGA-PIERRES G. (1995). Trichinellosis EN: Parasitología, fascículo IV. FM, UNAM. México. pp 154-160.
- ZIMMERMANN W. J. (1983). Control II: Surveillance in swine and other animals by muscle examination. EN: *Trichinella* and trichinosis. CAMPBELL WC. (ed). Plenum Press. New York. pp 515-528.