

Trichinellosis: Aspectos múltiples de una zoonosis global

Riva, E.; Steffan, P. E. y Fiel, C. A.

Introducción

La trichinellosis es una enfermedad zoonótica provocada por parásitos pertenecientes al Phylum Nematoda, Clase Aphasmdia (Adenoforea), Orden Enoplida, Superfamilia Trichinelloidea, Familia Trichinellidae y género *Trichinella*.

El parásito fue descubierto por James Payer y Richard Owen en 1835 a partir de una autopsia de un paciente fallecido y por Joseph Leidy en 1846 en los músculos de un cerdo [29]. Primeramente fue descrito y denominado *Trichina spiralis* (Owen, 1835) pero debido a que el nombre genérico ya había sido utilizado para un género particular de moscas, se re clasificó como *Trichinella spiralis* (Owen, 1835; Raillet, 1895). Hasta 1972, el género *Trichinella* era considerado monoespecífico debido a la ausencia de características morfológicas distinguibles entre las cepas aisladas. Con el tiempo aparecieron caracteres biológicos que hicieron evidente la existencia de más de una especie, diferenciándose entonces cuatro especies *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. nelsoni* y *T. pseudoespiralis*. En 1992, estudios isoenzimáticos permitieron la clasificación del género en siete genotipos diferenciables [60, 61]. Hoy en día, a partir de datos procedentes de estudios moleculares se identifican once genotipos. Ocho de estos son reconocidos específicamente, con cinco especies encapsuladas que infectan solo a mamíferos (*T. spiralis*, *T. nativa*, *T. nelsoni*, *T. britovi* y *T. murreli*) y tres no encapsuladas que infectan mamíferos y aves (*T. pseudoespiralis*) o mamíferos y reptiles (*T. papuae*, *T. zimbabwensis*). Existen tres genotipos cuya posición taxonómica es aún incierta (T6, T8, T9).

Las especies de *Trichinella* son biológicamente definidas mediante experimentos de reproducción cruzada [64], pero actualmente las técnicas de PCR para la amplificación de ADN son los métodos de elección para la diagnosis ya que tienden a minimizar la subjetividad inherente a las características biológicas y morfológicas [100]. A partir de 1994, la Comisión Internacional en Trichinellosis (ICT) recomendó que los aislamientos de *Trichinella* sean caracterizados preferencialmente por medios genéticos [43 en: 100].

Teniendo en cuenta aspectos de significancia adaptativa como la distribución geográfica, la capacidad de encapsulamiento en músculo, la capacidad infectiva en el hospedador, la resistencia al congelamiento y además nuevas técnicas como el tamaño de los fragmentos de DNAr por múltiple PCR, Murrel et al. (2000) desarrollaron una clave diagnóstica para identificar las especies constituyentes del género.

Caracteres generales y morfológicos

Los adultos son blanquecinos y filiformes. La hembra mide de 3 a 4 mm y su diámetro es de 35 a 70 μm . Monovárica y vivípara con capacidad de parir entre 200 y 1500 larvas, dependiendo de la especie y del hospedador implicados. El macho mide de 1,4 a 1,6 mm, es monórquido, no posee espículas pero presenta una par de apéndices copuladores cónicos en el extremo posterior del cuerpo.

La larva recién nacida (LRN) mide 100 μm x 6 μm , presenta un pequeño espolón cefálico, un estilete bucal y un esticosoma formado por 30 a 40 esticocitos que contienen gránulos de distinto tamaño cuya importancia radica en su poder antigénico al ser excretados.

La larva muscular (LM) miden 1 mm x 30 μm de diámetro pudiendo crecer en el quiste hasta 900-1280 μm de longitud y 35-40 μm en diámetro. No tiene estilete bucal. El esticosoma presente en este estadio posee distinto tipo de gránulos en comparación a los de la LRN.

Ciclo biológico

Presenta un ciclo autoheteroxeno que consiste en una fase intestinal de mudas comprendida entre el punto en que la larva infectiva se libera del quiste y la producción de la nueva generación por el

adulto, y una fase parental con migración sistémica e infección muscular por la larva 1 (L1).

Las LM enquistadas (L1 infectantes) al ser ingeridas por un hospedador se liberan de los tejidos musculares que las rodean y de la cápsula por acción de la pepsina y del ácido clorhídrico gástrico. Llegan al intestino delgado, penetran en la mucosa, mediante un mecanismo aún no dilucidado, y en 48 horas, luego de 4 mudas de la cutícula (pasan por L2-L3-L4-L5), se desarrollan en adultos. Machos y hembras vuelven al lumen intestinal y la cópula se produce a partir del día 2 p.i. Las hembras vuelven a penetrar en la mucosa, hacia el día 6 o 7 p.i. comienzan a parir LRN hasta aproximadamente la sexta semana p.i. Las LRN atraviesan la lámina propia del epitelio intestinal gracias a su estilete bucal y posteriormente entran en sangre o linfa, llegan a la sección derecha del corazón, a los pulmones, al corazón izquierdo y desde allí se distribuyen hacia todo el organismo. A los 17 días p.i. adquieren infectividad. Las larvas migratorias infectan preferencialmente fibras musculares estriadas con débil metabolismo glucídico, ya que se nutren selectivamente del glucógeno muscular acumulado. El metabolismo de la larva infectiva es anaeróbico.

En el hombre se han reportado alteraciones cardiovasculares, pulmonares y oculares debidas a la detención transitoria de las larvas migrantes de *T. spiralis* en dichos órganos [39, 33, 69]. Se demostró migración transplacentaria en ratas y ratones gestantes [17, 10, 95]. Webster & Kapel (2005) demostraron la transmisión vertical de *Trichinella* en animales carnívoros y roedores siendo posible la asociación con el nivel de infección en las madres. Dubinsky et al. (2001) reportaron un caso de trichinellosis congénita en humano, donde la infección de la madre a las 10 semanas de gestación conllevó al hallazgo de larvas en la placenta, cavidades líquidas del cuerpo, tejidos y órganos del feto abortado por solicitud a las 22 semanas de gestación.

Si bien la distribución muscular de las LM de *T. spiralis* en los animales silvestres y domésticos altamente infectados no es definitivamente selectiva hacia un grupo muscular, se ha determinado [31, 37, 74] que en infecciones naturales o de baja carga parasitaria, los animales y los respectivos músculos de predilección son:

Cerdo y jabalí: diafragma, base de la lengua, masetero y músculos del cuello.

Caballo: Base de la lengua y maseteros.

Zorro: base de la lengua, músculos de los miembros anteriores y diafragma.

Armadillo: Músculo de los miembros anteriores.

Las larvas migratorias que han llegado al músculo esquelético penetran en las miofibrillas por la acción de proteasas. A continuación los productos de excreción-secreción (E/S) larvales desencadenan una serie de modificaciones celulares que determinan la formación de una unidad anatómica independiente y especializada: la célula nodriza. Esta es típicamente fusiforme, mide entre 250 – 400 μm y contiene a la LM enrollada. La célula nodriza coopera en la obtención de nutrientes, en la exportación de desechos y aísla a la larva de la respuesta inmune del hospedador. El encapsulamiento larvario es completado aproximadamente a los 30 d.p.i. A partir de los 90 días puede iniciarse el depósito de calcio en las paredes del quiste y la LM se mantiene viable al menos que la calcificación sea total. Dentro de la cápsula, la LM permanece con vida varios años lo que no debe confundirse con una forma de dormancia [19].

Los cambios en las células musculares infectadas incluyen pérdida de los elementos contráctiles, vacualización de las mitocondrias con desplazamiento central e hipertrofia de los núcleos y del retículo sacoplasmático. Hiperinvolución de la membrana plasmática, desarrollo de una doble membrana adyacente a la cutícula de la larva. Elaboración de retículo endoplásmico rugoso y poliribosomas en la zona cercana a la cutícula larval y depósito de colágeno alrededor [18, 85]. Cada célula nodriza desarrolla un fino plexo de vénulas periquísticas que facilitan el intercambio metabólico con el huésped. Pueden hallarse más de una LM por quiste afectando el volumen del mismo. Formada la cápsula muscular, la LM puede sobrevivir por años antes de ser ingerida por un nuevo hospedador y reiniciarse el ciclo biológico.

Aspectos inmunológicos

Los huéspedes de *Trichinella* adquieren una sólida inmunidad dirigida contra los vermes adultos, las LRN migrantes y las LM. Los adultos y la actividad temprana de las LRN impactan principalmente sobre la inmunidad de la mucosa intestinal, y la circulación de las LRN en sangre o linfa y la LM, evoca una inmunidad sistémica.

Los antígenos de *T. spiralis* pertenecen a dos grupos: a) grupo I, aquellos que inducen respuesta luego de la 2da semana p.i. y b) grupo II, detectados a partir de la 4ta-5ta semana p.i.

Las tres fases evolutivas de *T. spiralis* estimulan una respuesta inmunológica distinta en el hospe-

dador, ya que presentan diferencias en la composición antigénica de la cutícula y de las secreciones, así como una distinta localización. En los adultos, los antígenos están presentes en los gránulos del esticosoma y en el aparato genital masculino y femenino siendo en ambos casos antígenos de E/S. Los antígenos de superficie de las LRN de *T. spiralis* pueden inducir un alto nivel de protección inmune en cerdos [46] pero estos antígenos cambian durante la maduración. Wang (1998) demostró que en ratas primo infectadas con *T. spiralis*, la respuesta inmune contra LRN es generada 3 a 4 días posteriores a la producción de las mismas.

Los antígenos que generan la principal fuente de anticuerpos son los que aparecen durante la fase muscular de la infección. En las LM, los antígenos de tipo I están localizados en las capas profundas de la cutícula y en las células genitales primordiales; los antígenos tipo II, se clasifican dentro de 8 grupos (TSL1 a TSL8) dentro de los cuales los pertenecientes al grupo TSL1 son los más estudiados. Estos presentan un epítipo común formado por un residuo de tyvelosa (3,6-dideoxy-D-arabinohexosa) altamente antigénico [1]. Li et al. (1999) estudiaron el patrón de distribución de los epítipos inmunodominantes de los antígenos de E/S (45, 49 y 53 KDa) durante la fase muscular de la infección con *T. spiralis*. Hallaron que durante el inicio de la infección, los epítipos estaban confinados al complejo de célula nodriza y luego se dispersaban a lo largo de la fibra muscular y a las fibras adyacentes a la afectada.

La respuesta inmune desencadenada durante la infección parasitaria es esencialmente de naturaleza celular. La ocurrencia de los eventos puede describirse con la siguiente secuencia:

En la fase intestinal

1) Al comienzo de la infección las actividades físicas y bioquímicas del parásito en el tejido huésped provoca una respuesta de fase aguda con acumulación de células macrófagos, linfocitos y neutrófilos.

2) Los antígenos parasitarios provocan y estimulan la formación de linfocitos Th (T helper) y Th2, generando citoquinas cuya acción resulta en una infiltración con neutrófilos, macrófagos, linfocitos B y mastocitos alrededor del parásito. Las citoquinas eliminadas por los Th2 generan un infiltrado rico en mastocitos (IL-4 y 9) y eosinófilos (IL-5). La producción local de anticuerpos anafilácticos (IgE en humanos, IgG1 en ratones e IgG2 en ratas) es estimulada por la IL-4.

3) Los mastocitos promueven el aumento de permeabilidad en el epitelio intestinal [47] participando así en la eliminación de adultos intestinales al ser activados por la IgE [96]; en ratas se ha observado la intervención de la IgA en este evento [32]. También se produce la atracción de más eosinófilos, neutrófilos y macrófagos, generándose un ambiente bioquímicamente inhóspito que determina la expulsión del parásito.

En cerdos se demostró que la eosinofilia comienza a desarrollarse a los 6 dpi manteniéndose en altos niveles hasta los 25 dpi [80]. En ratas infectadas con 1000 larvas de *T. spiralis* el pico se da a los 9 dpi manteniéndose hasta el día 20 p.i. [86]. Para el hombre, la eosinofilia puede ocurrir a los 7 dpi ó retardarse hasta la 5ta ó 6ta semana p.i. [29].

Los eosinófilos participan, durante una primera o segunda infección, en la expulsión de adultos del intestino del hospedador. Las ratas ejercen una expulsión rápida de los vermes adultos a partir del 6 dpi, siendo total a los 15 dpi [86], y en reinfecciones pueden eliminarlos entre el 1dpi y la primera semana p.i. evitando casi completamente la reproducción de las hembras [92]. En cerdos con altas cargas parasitarias, Martí & Murrell (1986) no observaron expulsión de adultos, pero hallaron una disminución en la fecundidad de las hembras de *T. spiralis* a las tres semanas p.i.

Durante una segunda infección, la aparición de la IgE en el lumen intestinal, es más rápida, específica y en niveles altos debido a la existencia de una vía de transporte que dirige más del 99% de las IgE producidas en los tejidos intestinales [6].

En la fase de migración y de infección muscular

Se genera una respuesta inmune dependiente de IgG y de IgE específicas de LRN y L1 migrantes. Estos anticuerpos originan un proceso de citotoxicidad activando eosinófilos y macrófagos.

Gurish et al. (2004) han demostrado que la IgE también participa en la respuesta contra el estadio de LM en infecciones experimentales de ratones con *T. spiralis*. Los antígenos E/S de la LM entrarían a la circulación a través del plexo circulatorio periquístico provocando la respuesta humoral sistémica [42]. Steffan (1987) describió la presencia de una reacción inflamatoria alrededor de larvas enquistadas en cobayos infectados artificialmente con 1000 larvas de *T. spiralis*.

Esta respuesta inmune desarrollada a los 2 meses p.i. reunía eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas e histiocitos.

La respuesta humoral en el hombre involucra la participación de la IgE, IgA, IgG e IgM en distinta secuencia y tiempo de aparición. La IgE es la primera en aparecer. Los anticuerpos de clase IgG y luego los de IgM e IgA aparecen a las 2 semanas del transcurso de la enfermedad, permaneciendo en altos niveles por 2 a 3 semanas sobre todo en pacientes con trichinellosis severa [39].

Patogénesis

La enfermedad clínica puede variar desde una infección asintomática hasta una enfermedad fulminante y mortal. Si bien se han reportado distintos síntomas asociados (fiebre, mialgia, edema facial, diarrea, dolor muscular), las características patogénicas están representadas principalmente por una alta eosinofilia (aumenta entre un 20 y 50 %), edema palpebral y el incremento en los niveles de las enzimas musculares creatinfosfoquinasa, ácido láctico deshidrogenasa y aspartato aminotransferasa [14, 39]. Las personas que presentan formas graves de la enfermedad pueden manifestar, luego de años de la infección, dolores musculares generalizados, alteraciones oculares y neuropatías. La miocarditis y la encefalitis representan las causas más frecuente de muerte debida a un grave proceso inmune y no a la acción directa del parásito sobre los órganos. Los casos fatales suelen corresponder a pacientes con enfermedades crónicas (hipertensión, arterioesclerosis) a la cual se le agregó la parasitosis.

El hecho de que muchos síntomas sean inespecíficos y coincidentes con los asociados a gripes y resfríos, repercute en el diagnóstico errado de la enfermedad y en la falta de reporte de los casos de trichinellosis que aparecen sobre todo en invierno [21]. Además el diagnóstico se dificulta en caso de incidencia esporádica o curso atípico de la enfermedad [39].

La intensidad con la que se desarrollan los síntomas en el hombre está en relación directa con factores del hospedador (edad, sexo, estado inmune), con la dosis infectiva y con la especie parásita en cuestión. *T. spiralis* es considerada la más patogénica para el hombre mientras que *T. nativa* y *T. nelsoni* se consideran de patogenicidad moderada y baja respectivamente [14]. *T. pseudospiralis* es marcadamente menos patogénica que las restantes especies y los hospedadores pueden resistir niveles de infección que, provocada por otra especie, induciría patología severa [93].

La infección clínica en el hombre se produce al consumir productos con, al menos, una larva por gramo (lpg) de tejido [75 en: 5].

El parasitismo por *T. spiralis* también determina un fenómeno de inmunodepresión que se manifiesta cuando las LRN y las LM elaboran factores de destrucción de células linfoides e inhibitoras de esplenocitos productoras de anticuerpos.

Los cerdos no presentan síntomas propios de la trichinellosis, excepto los animales inmunodeprimidos infectados con altas cargas larvales.

Tratamiento y profilaxis

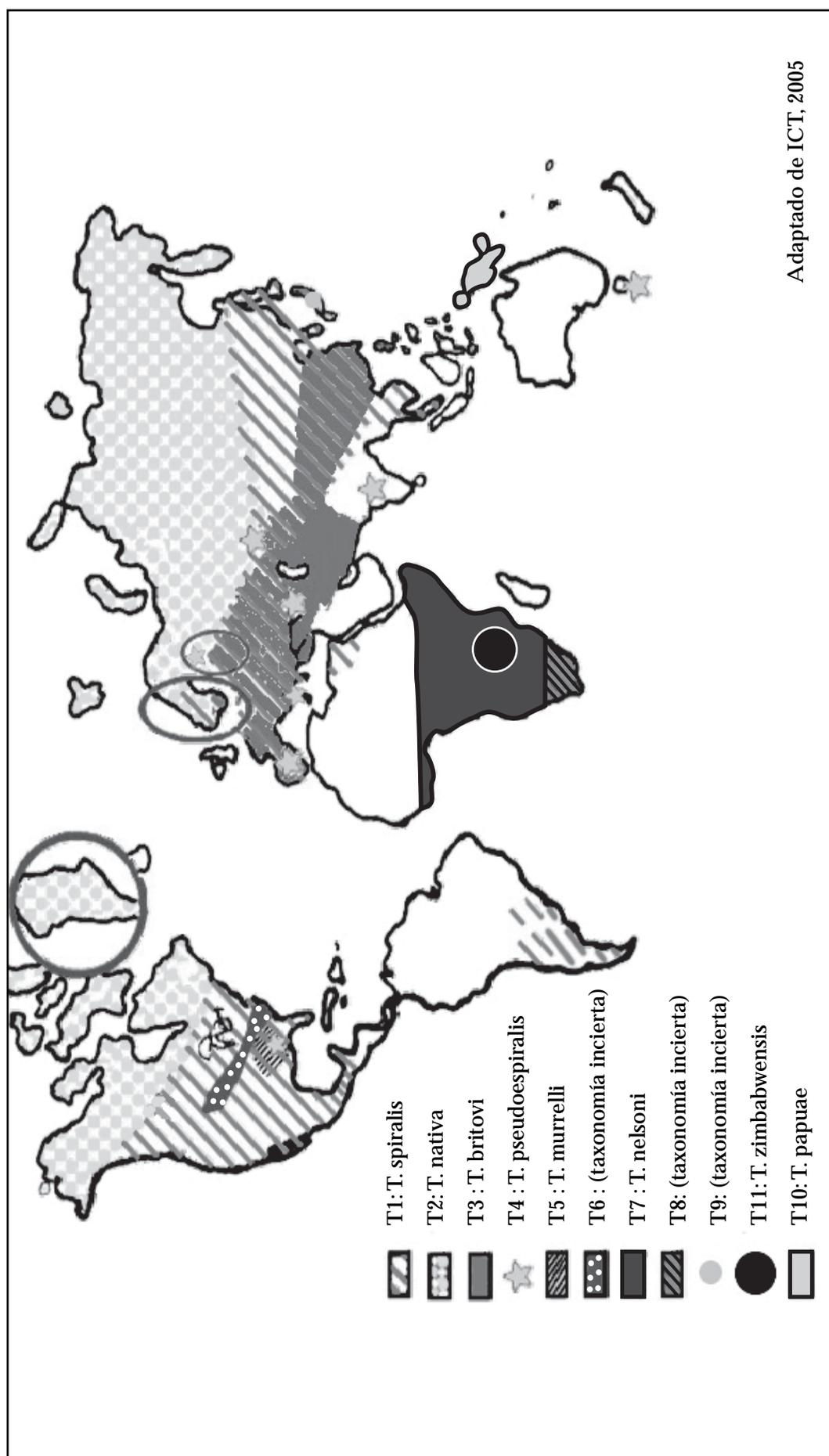
En humanos no existen medicamentos totalmente eficaces. Se usan benzimidazoles (albendazol, mebendazol) tanto para la fase intestinal como para la fase parental, siendo más efectivos los administrados en forma temprana. Conjuntamente se utilizan corticoesteroides ya que la acción larvicida de los antihelmínticos puede generar una brusca liberación de antígenos parasitarios. La administración de drogas inmunomoduladoras se aplican a pacientes con enfermedad severa o signos de inmunosupresión [39]. Si bien el tratamiento farmacológico no es aplicado en animales, numerosos estudios en ratones y cerdos infectados con *T. spiralis* han testeado la eficacia de ivermectina y flubendazole contra las larvas enquistadas y otros estadios [84, 16, 44, 83] hallando signos de prevención y tratamiento pero con insuficiente consistencia aún.

También se realizaron estudios de vacunaciones contra *Trichinella*. Shen LiJie et al. (2002) observaron una importante respuesta inmune en inmunizaciones realizadas con antígenos solubles de adultos de *T. spiralis*. Robinson et al. (1995) estudiaron el nivel de protección inducida por vacunación con antígenos de LM de *T. spiralis* en ratones de alta y baja respuesta inmune resultando altamente eficaz sólo en los primeros. De igual forma, El Shazly et al. (2002) encuentran promisoría la vacunación contra *T. spiralis* utilizando el mismo tipo de antígenos.

Distribución y epidemiología de la trichinellosis

Ampliamente distribuida en el mundo (Fig. 1), *Trichinella* spp. se encuentra en la mayoría de los ambientes con excepción del desértico [21] siendo:

Figura 1. Distribución Mundial de *Trichinella* spp.



T. spiralis (Owen, 1835; Raillet, 1895): Cosmopolita. Posee baja resistencia al congelamiento. De alta infectividad en cerdo, jabalí, roedor y hombre.

T. nativa (Britov & Boev, 1972): Ártica – subártica. Con alta resistencia al congelamiento. Baja infectividad para cerdos y ratas.

T. britovi (Pozio et al., 1992): Paleártico templado. Poco resistente al congelamiento. Con baja infectividad en rata y moderada en cerdo y en el hombre.

T. nelsoni (Britov & Boev, 1972), sensu stricto (Pozio et al., 1992a): De áreas cálidas. Con muy baja resistencia al congelamiento y tolerante al calor. Moderada infectividad para el hombre pero baja para roedor, cerdo y jabalí.

T. murreli (Pozio & La Rosa, 2000): Neoártico templado. Baja resistencia al congelamiento. Baja infectividad y capacidad reproductiva en cerdo y rata.

T. pseudoespiralis (Garkavi, 1972): Cosmopolita. No encapsulada. Con moderada infectividad en cerdo. Infectiva para aves carnívoras y carroñeras.

T. papuae (Pozio, 1999): Aislada de un jabalí en Papua Nueva Guinea y en reptiles. No encapsulada. La larva muscular es 1/3 más larga que la correspondiente a *T. pseudoespiralis*.

T. zimbabwensis (Pozio et al., 2002): Detectada en un cocodrilo en Zimbabwe y en cerdos salvajes. No encapsulada. Sin resistencia a la congelación. Experimentalmente infecta ratas, ratones, cerdos, tortugas, pitones, varanos y caimanes.

T6: Aislado de carnívoros salvajes del Neoártico templado. Su genotipo es similar al de *T. nativa*, pero con menor resistencia al congelamiento.

T8: Detectado solo tres veces en carnívoros salvajes de Sudáfrica y Namibia. Estrechamente relacionado a *T. britovi*, pero sin resistencia al congelamiento.

T9: Aislado de animales salvajes de Japón. Su genotipo está íntimamente relacionado al de *T. britovi* [53].

Epidemiológicamente se distinguen tres ciclos que se encuentran superpuestos entre sí:

Ciclo doméstico

Es el ciclo de mayor importancia en salud pública ya que involucra al hombre. Para *T. spiralis* se asocia a cerdos, ratas, equinos y numerosos estudios han demostrado la potencialidad de otros rumiantes como huéspedes de este parásito [88, 58, 40]. El cerdo se infecta por ingestión de desperdicios contaminados con el parásito, por canibalismo entre cerdos infectados y por ingestión de ratas infectadas u otros animales sinantrópicos o selváticos. Esta última actividad se debe al déficit en proteína provocado por la alimentación del cerdo casi exclusivamente a grano. La ingestión de heces de cerdos que han consumido carne infectada 1 ó 2 días previos representa otra ruta de infección para cerdos [65]. Murrell et al. (2004) comprobaron que la alimentación de equinos con productos cárnicos es una práctica común en muchos establecimientos previa venta del ganado, haciéndose evidente una posible vía de contagio entre hospedadores herbívoros. Otra hipótesis que trata de explicar cómo los caballos adquieren la trichinellosis es la ingestión de restos de cadáveres de roedores parasitados con *T. spiralis* junto con los pastos.

Ciclo silvestre

Ocurre en el ambiente salvaje, entre animales no domésticos. Pueden intervenir lobos y osos polares, focas, morsas, lobos marinos y belugas en zonas circumpolar-árticas donde la trichinellosis humana está directamente asociada a este ciclo [24]; en zonas templadas está ligada a jabalíes, zorros, peludos, félidos y otros animales omnívoros, carroñeros o que con hábitos de canibalismo mantienen la parasitosis presente. Año a año se detectan nuevas especies susceptibles a la infección con *Trichinella* como ser: mangosta (*Herpestes auropunctatus*) [51], coipo (*Myocastor coypus*) [50], ciervo (*Dama dama* L.) [49], zorro rojo (*Vulpes vulpes japonica*) [41], mapache (*Nyctereutes procyonoides*), marta (*Martes martes*), turón Europeo (*Putorius putorius*) y lobo (*Canis lupus*) [76]. En mucho de los casos estas especies son destinadas a consumo sin previo análisis, lo que constituye un riesgo de infección humana.

El patrón de transmisión de *T. spiralis* en el ambiente silvestre está estrictamente sujeto a su presencia previa o actual en el hábitat doméstico [65], aunque se ha demostrado que este ciclo puede perdurar por más de 10 años independientemente de la existencia de un ciclo doméstico [70].

Ciclo sinantrópico

Entrelaza los dos primeros ciclos ya que está asociado a animales que viven cerca del ambiente humano. Principalmente son gatos, perros, roedores y, cada vez más, animales que han ampliado su nicho ecológico como los zorros. La infección de estos animales es similar a la del cerdo pero su papel en la transmisión de la enfermedad al humano es secundaria. El rol de la rata gris (*Rattus norvegicus*) en la manutención y la transmisión de *T. spiralis* es controversial, siendo a veces categorizada como reservorio mientras que otros autores la sitúan como "víctima" de la inadecuada faena doméstica e indicadores de la existencia de infección en cerdos locales. Durante un estudio realizado en granjas con distinto nivel higiénico sanitario y presencia o ausencia de infección en cerdos, Stojcevic et al. (2004) detectaron ratas infectadas con *Trichinella* solo en las granjas con infección porcina y con bajo nivel higiénico sanitario.

Hechos que agregan importancia al rol de los roedores como huéspedes amplificadores de la infección con *Trichinella* es la existencia de transmisión transplacentaria en conjunción con la alta capacidad prolífica de estos animales.

Se ha postulado la intervención de la mosca doméstica como hospedador paraténico dentro del ciclo de *Trichinella*. Maroli & Pozio (2000) demostraron que el rol del estadio larval como dispersor del las larvas de *Trichinella* es limitado pero posible dentro de los 4-5 dpi de la larva díptera.

Situación actual de la trichinellosis

Una vasta cantidad de casos de trichinellosis han sido reportados mundialmente, excepto en las zonas al norte de Sudamérica, las zonas desérticas y algunas regiones de África donde no se han realizado estudios. La prevalencia mundial estimada alcanza las 11 millones de personas [21].

La situación epidemiológica parece ser particularmente grave en Argentina, Croacia, Yugoslavia, Rusia, Rumania, Lituania y China y en los últimos años, debido al aumento en el consumo de carne equina, Francia e Italia se han sumado a esta lista (desde 1975 se han reportado más de 3200 casos humanos por consumo de carne equina [8]). En Latinoamérica la trichinellosis es endémica en Argentina, Chile y Méjico donde la mayoría de los casos están asociados al consumo de chacinados, embutidos caseros y de carne de cerdo infectada y mal cocida.

En Chile fueron reportados más de 1600 casos entre 1981 y 1995; a pesar de un descenso en la prevalencia actual, esta parasitosis sigue estando presente en el país. En Mejiico se han reportado infecciones en humanos, perros, ratas y gatos en varios de sus estados. Desde 1952 a 1997 se reportaron cerca de 700 casos humanos; actualmente la falta de obligatoriedad en el reporte de los casos conduce a que solo se documenten casos aislados [59]. En Bolivia, la trichinellosis porcina fue detectada por primera vez en 1993 y durante los años posteriores se ha demostrado por serodiagnóstico su continua presencia en el ganado [11]. Si bien no existe reporte de casos humanos en este país, estudios de seroprevalencia humana reveló la presencia de anticuerpos anti-*Trichinella* en pobladores rurales [3]. Estudios mediante ELISA usando antígenos de E/S y de α -tyvelosa, demostraron la existencia de anticuerpos específicos contra *Trichinella* en el ganado porcino de Ecuador. Aunque los resultados del estudio requieren confirmación por métodos directos, sugieren la presencia de la zoonosis en la región [15]. No existe reporte de trichinellosis humana ni porcina para Brasil, Paraguay, Colombia, Perú y Venezuela.

A nivel mundial, distintos factores explicarían la emergencia o re-emergencia de la trichinellosis [21] pero puntualmente para Argentina se asocia a los hábitos de consumo de la población, nivel de conocimiento de la enfermedad, existencia de faena doméstica ilegal sin control profesional, falta de reporte de los casos diagnosticados, mal diagnóstico de los casos y cambios en la epidemiología de esta zoonosis. Para los años 2002 y 2003 se reportaron más de 900 casos humanos anuales, disminuyendo a 750 para el año 2004 (SENASA, Ministerio de Salud). De carácter endémico en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe, Río Negro, Neuquén, San Luís, Catamarca, La Pampa, Chubut, San Juan, Corrientes, La Rioja, Santa Cruz y Tierra del Fuego, los casos se establecen mayoritariamente en las tres primeras provincias [9, 73]. En el año 2005 en la provincia de Buenos Aires se registraron 380 casos de trichinellosis humana, los cuales aparecen en forma esporádica, frecuentemente en invierno y en su gran mayoría, asociado al consumo de chacinados elaborados clandestinamente. Estudios serológicos realizados en Entre Ríos alertan sobre la presencia de *Trichinella* sp. dentro del ganado porcino de la zona [82]. Para el año 2004 se detectaron alrededor de 50 focos porcinos, la mayoría con origen en Buenos Aires donde el tipo de explotación es principalmente familiar (SENASA).

Todos los aislamientos hallados en Argentina que fueron enviados a Centro de Referencia Internacional en Trichinellosis (ITRC) corresponden a *T. spiralis*.

Métodos de diagnóstico

La observación del parásito en el tejido de cualquier huésped implica un método directo de diagnóstico. Los métodos indirectos sugieren la presencia del parásito evidenciando la respuesta humoral o celular del hospedador.

La triquinoscopia es utilizada desde 1863 y se basa en la identificación de las larvas enquistadas en el tejido muscular por compresión de la muestra. La sensibilidad de la triquinoscopia depende de la cantidad total de material analizado, requiriéndose 28 muestras de 2 x 10 mm para totalizar un peso de 0,5 g de tejido. No requiere equipos complejos para su desarrollo y el procedimiento es sencillo. La desventaja reside en el tiempo necesario para desarrollar el examen, en la alta competencia requerida por parte del analista, en la distribución irregular de los quistes en los tejidos y en la incapacidad de detectar larvas en estadios iniciales de la infección. El aumento en la prevalencia de especies no encapsuladas indetectables llevó a la eliminación de esta técnica en la Unión Europea [38] y otros países. Múltiples estudios han demostrado la ineficacia de la triquinoscopia para revelar infecciones naturales con bajos niveles larvarios de *T. spiralis* [25, 5] ya que la sensibilidad es de 3 lpg de tejido de sitios de predilección.

En 1996, Argentina adoptó el método de digestión artificial (DA) en forma obligatoria para detectar infecciones por *T. spiralis* en carnes porcinas destinadas a consumo (Resolución 740/99 SENASA; Disposición 439/99 MAA). La DA está basada en la liberación de las larvas enquistadas en el tejido siendo el tamaño de muestra de 5 g por animal en muestras agrupadas en 20 g como mínimo para zonas endémicas. El caldo digestor utilizado (agua destilada, HCl y pepsina) digiere los tejidos a temperatura regular de 42 – 46 °C y a partir de filtración y decantaciones, la presencia del parásito se observa en el concentrado final. Las ventajas de este método son que permite agrupar animales en pools de muestras o analizarlos individualmente y además detectar infecciones tempranas de hasta 17 días p.i. La sensibilidad aumenta con el volumen de la muestra siendo de 1 lpg para 5 g de tejido muestreados. De acuerdo con van Knapen et al. (1984) y Murrell et al. (1986), el uso de una cepa mantenida en ratón por largos períodos o la baja capacidad reproductiva de la cepa usada, explicarían las fallas en la recuperación de larvas por esta técnica en cerdos infectados experimentalmente.

Existe una gran diversidad de métodos indirectos usados en la detección de infecciones por *Trichinella* spp. Ejemplo de ellos son el test de inmunofluorescencia (IFAT), test de inmunoabsorción enzimática (ELISA), test de fijación de complemento (CFT), test de hemoaglutinación (HAT), test de inmunoelectrotransferencia (IET) y western blot (WB). Todas las reacciones inmunológicas dependen en gran medida de la capacidad de estos métodos de detectar las mínimas cantidades de antígeno o anticuerpos presentes (sensibilidad) y, por otra parte, de la capacidad de detectar específicamente los anticuerpos y / o antígenos inducidos por la infección parasitaria (especificidad). El IFAT y HAT parecen ser más sensibles que el CFT [55]. Se ha determinado que el uso de antígenos de E/S de LM es preferencial respecto de los mismos antígenos de adultos o de los somáticos [80, 52, 78]. En cerdos, los antígenos de E/S larvales colectados por cultivo in vitro de las larvas musculares exhiben mayor especificidad que los antígenos somáticos [99 en: 48]. Bruschi et al. (2001) reportaron efectividad en el diagnóstico de trichinellosis humana utilizando un antígeno sintético.

La falta de correlación entre la respuesta humoral y la infección larval en el tejido muscular de equinos hace no recomendable el uso del ELISA para detectar infecciones con *Trichinella* en estos animales [98, 66, 81]. Aunque estudios realizadazos por Ko_inková et al. (2006) en cabras demostraron la utilidad del test ELISA para detectar anticuerpos en suero de cabras infectadas experimentalmente con *T. spiralis*.

Numerosos estudios han podido establecer cierta correlación entre la magnitud de la infección con *T. spiralis* establecida en cerdos y el tiempo de seroconversión al utilizar la técnica ELISA. De acuerdo con Gamble et al. (1983), Smith (1987), Ribicich et al. (2000) y Nöckler et al. (2005) los cerdos cuyas dosis establecidas eran mayores a 30 lpg, presentaban anticuerpos anti-*Trichinella* detectables entre los 7 y los 30 dpi. La seroconversión ascendía a los 40 dpi cuando los cerdos presentaban infecciones leves del orden de 3 lpg. La existencia de un período de ventana comprendido entre los 17 dpi (tiempo en que la larva se hace infectiva) y los tiempos de detección comprobados por ELISA, sumado a la aparición de falsos negativos, impiden que esta técnica sustituya a la DA en la inspección de carne destinada a consumo.

Las razones que explican la aparición de falsos negativos comprenden: una respuesta tardía en la cinética de anticuerpos en animales con infecciones leves, una baja respuesta inmune del hospedador

asociado a un mal estado nutricional, edad, o simple variabilidad individual, y una supresión de la respuesta inmunitaria por cronicidad de la infección. Los resultados falsos positivos se relacionan con la existencia de inmunidad cruzada con anticuerpos generados contra otros nemátodos emparentados. También son posibles falsas reacciones positivas cuando los sueros a estudiar han sido conservados a -20°C por varios meses, ya que presentan un incremento anormal de la densidad óptica [23].

El test ELISA brinda la posibilidad de analizar un gran número de muestras con rapidez *antemortem* y detectar infecciones bajas del orden de 0,01 lpg [26]. Pero la desventaja reside en la imposibilidad de discriminar entre una exposición actual o pasada ya que animales inmunológicamente positivos generadores de una alta respuesta inmune pueden terminar la infección expulsando los adultos del intestino evitando así el asentamiento de la LM [89].

Si bien la concentración de anticuerpos en músculo es menor a la existente en sangre, el uso de sueros de líquido muscular genera resultados equivalentes a los realizados con sueros sanguíneos en el ELISA; la posibilidad de utilizar tejidos de animales domésticos o salvajes cazados o muertos, pudiendo dichas muestras almacenarse por tiempo prolongado, hace conveniente y ventajosa esta técnica [35, 4, 57].

El WB posibilita la identificación de bandas polipeptídicas específicas en sueros analizados. Para la fase tardía de la infección se ha identificado un triplete característico de bandas cuya presencia / ausencia es utilizada muchas veces en la confirmación de los resultados obtenidos por ELISA.

El uso de los test serológicos para el diagnóstico de trichinellosis no puede reemplazar a los métodos de detección directa que se realizan en mataderos para el control de ésta zoonosis, pero son adecuados para programas de control en los establecimientos así como para estudios epidemiológicos del ciclo selvático de la enfermedad. Como los métodos serológicos permiten el estudio de muestras de animales vivos así como muestras *post-mortem*, serían de utilidad para establecer áreas libres de *Trichinella* y para reducir las restricciones en el comercio internacional de animales.

Los métodos directos e indirectos nombrados sirven para identificar infecciones con *Trichinella* spp. a nivel de género, pero para identificar especies o genotipos es utilizada la técnica de PCR que detecta el ADN del parásito con una sensibilidad de 0,001 lpg. La identificación de diferentes genotipos permite hacer la distinción entre el ciclo de vida selvático y sinantrópico dando valuable información para la instauración de métodos de control. La limitante de ésta técnica es el alto costo del equipamiento y de los reactivos. La causa de falsos positivos se relaciona con las condiciones de asepsia necesarias para evitar la contaminación con ADN no específico. A fines diagnósticos, Cabello García & Jiménez Cardoso (2001) detectaron DNA de larvas migratorias a los 3 dpi en ratones infectados con 300 larvas de *T. spiralis* demostrando la posibilidad de una diagnosis temprana con esta técnica.

Control de la trichinellosis

En el mundo, la mayoría de las infecciones humanas se deben al consumo de carne de cerdo y jabalí infectados con *T. spiralis* [65]. Este dato sumado a las características biológicas que influyen en el patrón de transmisión de esta especie como el elevado índice de capacidad reproductiva (RCI), la alta patogenicidad para animales y humanos, los prolongados tiempos de permanencia de la LM en el hospedador y en la carne en descomposición [34 en: 5], dejan más que expuesta la necesidad de control de esta zoonosis a distintos niveles estratégicos.

Dos hechos principales explican la razón de porqué la trichinellosis es un problema mundial: primero, el costo implicado en un control adecuado y segundo, la falta de inspección veterinaria en gran cantidad de establecimientos con faena casera. En los últimos años se han sumado otras razones que incluyen cambios socio-económicos, evolución en los hábitos alimenticios de las personas o nuevos hábitos de consumo asociado a costumbres extranjeras, nuevas fuentes de infección además del cerdo y un incremento en el comercio y turismo internacional [91].

De acuerdo a numerosos estudios, las granjas de producción porcina con bajas condiciones higiénico sanitarias son las que presentan las prevalencias más altas de cerdos triquinosis [56, 72]. Orientada a reducir o eliminar los riesgos de infección del cerdo, la Comisión Internacional para Trichinellosis [27] recomienda realizar:

- Programas de educación del productor / consumidor
- Mejoras en las condiciones de crianza y alimentación de cerdos, poniendo atención al almacenamiento del forraje e higiene del área
- Programas de control de roedores sumado a la implementación de barreras arquitectónica y ambientales
- Control de los animales nuevos

Se ha demostrado que el ciclo doméstico de *Trichinella* no ocurre en los sistemas de granja porcina moderna, basados en la ausencia de riesgos de transmisión a los cerdos [63 en: 91]. Estos establecimientos emplean estrictas medidas de higiene y reglas de buenas prácticas de producción combinadas con buenas prácticas veterinarias para eliminar el riesgo de transmisión de *Trichinella*.

En Argentina, país endémico, la inspección de carne en mataderos continúa siendo necesaria. Los métodos de inspección en rastros tienen como propósito prevenir la trichinellosis clínica en humanos y no están destinados a prevenir completamente la infección por lo que, a este nivel, los esfuerzos deben orientarse hacia el mejoramiento de la sensibilidad de las técnicas actuales e innovación de los métodos de detección antemortem. De esta manera los animales con un diagnóstico positivo pueden individualizarse evitando el decomiso de toda la piara y consecuentemente disminuyendo las pérdidas económicas tanto para el propietario productor como para el país.

La carne de animales que no haya sido analizada por un método aceptable de diagnóstico de la infección con *T. spiralis* requiere ser procesada para la inactivación de las larvas antes de su distribución para el consumo humano. Los métodos aceptados son: cocimiento, congelamiento e irradiación. Precauciones en el monitoreo del tiempo, temperaturas/potencias apropiadas y origen de la carne tratada son puntos a tener en cuenta en dichos procesamientos. Los procesos de salado, secado y ahumado no son recomendados para el control de las larvas de *Trichinella*, por lo que las carnes utilizadas para la preparación de productos salados y ahumados deben ser inspeccionadas [27].

Es notable que las implementaciones en cualquiera de los niveles a los que se hizo referencia implican un coste económico difícil de afrontar en países subdesarrollados. Esta problemática se ve aún más aumentada teniendo en cuenta las pérdidas económicas en salud humana, siendo estimado el costo por persona involucrada en un brote de trichinellosis en \$2123 [77].

Como enfermedad zoonótica, la trichinellosis merece gran atención. Esta expresión abarca a mí entender no solo implicancias científicas y sanitarias por parte de profesionales para mejorar el conocimiento sobre su biología, epidemiología, detección, manejo y tratamiento, sino que demanda un cambio en la mentalidad de los individuos que apunte a conocer y entender las verdaderas consecuencias de las elecciones que realiza cada uno desde el lugar que ocupa. El productor, el comerciante, el consumidor tienen a su alcance la primera de las herramientas para evitar la enfermedad: la prevención. Es notorio que la falta de diagnóstico en la carne destinada a consumo es la causa primera de la perpetuidad de la trichinellosis, por lo que la educación al respecto, de la población en general y sobre todo la dirigida a los grupos de riesgo, toma mayor relevancia. Apoyada por buenas prácticas de manejo a nivel de granjas porcinas, el conocimiento de esta zoonosis debe aplicarse a los factores que aumentan su dispersión y mantienen su existencia, de manera que el enfrentamiento con esta problemática sea en forma conjunta, responsable y eficaz.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Arraiga, C.; Yépez-Mulia, L.; Morilla, A.; Ortega Pierres, G. 1995. Detection of circulating *Trichinella spiralis* muscle larva antigens in serum samples of experimentally and naturally infected swine. *Veterinary Parasitology*. 58:319-326
- 2- Atias, A. 1998. *Parasitología Médica*. Ed. Mediterráneo. 615 pp.
- 3- Bartoloni, A; Cancrini, G; Bartalesi, F; Nicoletti, A; Mendez Prado, G; Rosado, J; Roselli, M; Paradisi, F. 1999. Seroprevalence of antibodies to *Trichinella spiralis* among the rural population of Cordillera province, Bolivia. *Revista Panamericana de Salud Pública / Pan American Journal of Public Health*. 5(2): 97-99
- 4- Beck, R.; Gaspar, A.; Mihaljević, M.; Marinculić, A.; Stojčević, D.; Brstilo, M. 2005. Evaluation of ELISA for detection of *Trichinella* antibodies in muscle juice samples of naturally infected pigs. *Veterinary Parasitology*. 132: 91-95
- 5- Beck, R.; Mihaljević, A.; Marinculić, A. 2005. Comparison of trichinelloscopy with a digestion method for the detection of *Trichinella* larvae in muscle tissue from naturally infected pigs with low level infections. *Veterinary Parasitology*. 132: 97-100
- 6- Bell, R.G. 1996. IgE, allergies and helminth parasites: A new perspective on an old conundrum. *Immunology and Cell Biology*. 74: 337-345
- 7- Bessonov, A.S.; Cuperlovic, K.; Gajadhar, A.A.; Gamble, H.R.; van Knapen, F.; Nockler, K.; Schenone, H.; Zhu, X. Métodos recomendados para el control de *Trichinella* en animales domésticos y silvestres destinados para el consumo humano. *ICT*. 22 pp.
- 8- Boireau, P.; Vallee, I.; Roman, T.; Perret, C.; Fabien, J.F.; Gajadhar, A. 2000. Horse trichinellosis: a low frequency for a high human risk. *Veterinary Parasitology*. 93: 309-320
- 9- Boletín de vigilancia epidemiológica nacional 2001-2002. SINAVE. Ministerio de Salud Pública y acción social. República Argentina
- 10- Boulos, L.M.; Ibrahim, I.R.; Said, D.E.; El-Zawawy, L.A. 2005. Congenital trichinellosis in experimentally infected mice. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. 35(2): 433-445
- 11- Brown, D.F.; Méndez Prado, G.A.; Quiroga, J.L.; Stagg, D.A.; Méndez Cadima, G.J.; Sánchez Méndez, L.H.; Méndez Cuellar, R. 1996. *Trichinella spiralis* infection in pigs in eastern Bolivia. *Tropical Animal Health and Production*. 28 (2): 137- 142
- 12- Bruschi, F.; Moretti, A.; Wassom, D.; Piorgili Fioretti, D. 2001. The use of a synthetic antigen for the serological diagnosis of human trichinellosis. *Parasite*. 8(2(Supp)): S141-S143
- 13- Caballero Garcia, M.L.; Jimenez Cardoso, E. 2001. Early detection of *Trichinella spiralis* infection by the polymerase chain reaction in blood samples of experimentally infected mice. *Parasite*. 8(2(Supp)): S229-S231
- 14- Capó, V. & Despommier, D.D. 1996. Clinical aspect of infection with *Trichinella* spp. *Clinical Microbiology Reviews*. 9: 47-54
- 15- Chávez Larrea, M.A.; Dorny, P.; Moeller, L.; Benítez Ortiz, W.; Barrionuevo Samaniego, M.; Rodríguez Hidalgo, R.; Ron Román, J.; Proaño Pérez, F.; Victor, B.; Brandt, J.; Kapel, C.; de Borchgrave, J. 2005. Survey on porcine trichinellosis in Ecuador. *Veterinary Parasitology*. 132:151-154
- 16- Chung, M.S.; Joo, K.H.; Quan, F.S.; Kwon, H.S.; Cho, S.W. 2001. Efficacy of flubendazole and albendazole against *Trichinella spiralis* in mice. *Parasite*. 8(2(Supp)): S195-S198
- 17- Cosoroaba, I.; Orjanu, N. 1998. Congenital trichinellosis in the rat. *Veterinary Parasitology*. 77(2/3): 147-151

- 18- Despommier, D. 1975. Adaptive changes in muscle fibers infected with *Trichinella spiralis*. *American Journal of Pathology*. 78: 477- 496
- 19- Despommier, D. 1990. *Trichinella spiralis*: The worm that would be virus. *Parasitology Today*. 6: 193- 196
- 20- Dubinsky, P.; Boor, A.; Kincekova, J.; Tomasovicova, O.; Reiterova, K.; Bielik, P. 2001. Congenital trichinellosis? Case report. *Parasite*. 8(2(Supp)): S180-S182
- 21- Dupouy Camet, J. 2000. Trichinellosis: a worldwide zoonosis. *Veterinary Parasitology*. 93:191-200
- 22- El Shazly, A.M.; El Shewey, K.; El Hamshary, E.; Habib, F.S.M.; El Garhy, M.F.; Morsy, T.A. 2002. Mice immunization using crude *Trichinella spiralis* antigen. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. 32(2): 391-403
- 23- Euzéby, J. 2001. *Los parásitos de las carnes*. Ed. Acribia. 430 pp.
- 24- Forbes, L.B. 2000. The occurrence and ecology of *Trichinella* in marine mammals. *Veterinary Parasitology*. 93: 321- 334
- 25- Forbes, L.B.; Parker, S.; Scandrett, W.B. 2003. Comparison of a modified digestion assay with trichinoscopy for the detection of *Trichinella* larvae in pork. *Journal of Food Protection*. 66(6): 1043-1046
- 26- Gamble, H.R.; Anderson, W.R.; Gram, C.E.; Murrell, K D. 1983. Diagnosis of swine trichinosis by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) using an excretory-secretory antigen. *Veterinary Parasitology*. 13: 349- 361
- 27- Gamble, H.R.; Cuperlovic, K; Gajadhar, A.A; van Knapen, F; Nockler, K.; Schenone, H.; Zhu, X. 2000. International Commission of Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* on domestic and wild animals intended for human consumption. *Veterinary Parasitology*. 93: 393-408
- 28- Giúdice, C.J. & Arduoso, G.L. 2005. Actualización en aspectos biológicos de *Trichinella* spp. XVII Congreso Latinoamericano de Parasitología. IV Congreso Argentino de Parasitología. XXIX Jornadas Internacionales de hidatidología. 23-26 de Noviembre. Mar del Plata. 60(1): 50-51
- 29- Gould, S.E. 1970. *Trichinosis in man and animals*. Gould, S.E., (ed.) Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, USA. 540 pp.
- 30- Gurish, M.F.; Bryce, P.J.; Tao, H.; Kisselgof, A.B.; Thornton, E.M.; Miller, H.R.; Friend, D.S.; Oettgen, H.C. 2004. IgE enhances parasite clearance and regulates mast cell responses in mice infected with *Trichinella spiralis*. *Journal of Immunology*. 172(2): 1139-1145
- 31- Huici, N.; Teson, M.; Loverde, V. 2001. Trichinellosis in armadillo (*Chaetophractus villosus*). *Veterinaria Argentina*. 18(176): 440-444
- 32- Inaba, T.; Sato, H.; Kamiya, H. 2003. Monoclonal IgA antibody-mediated expulsion of *Trichinella* from the intestine of mice. *Parasitology*. 126: 591-598
- 33- Irrazabal, C.L.; Capdevila, A.A.; Gnocchi, C.; Micheli, F.; Paes de Lima, A.C.; Jorge, M. 2003. Trichinosis as an unusual cause of respiratory failure of neuromuscular origin: case report and review of the literature. *Clinical Pulmonary Medicine*. 10(4): 235-240
- 34- Jovi, S.; Djordjevic, M.; Kulisic, Z.; Pavlovic, S.; Randenkovic, B. 2001. Infectivity of *Trichinella spiralis* larvae in pork buried in the ground. *Parasite*. 8: 213-215
- 35- Kapel, C.M.O.; Webster, P.; Lind, P.; Pozio, E.; Henriksen, S. A.; Murrell, K. D.; Nansen, P. 1998. *Trichinella spiralis*, *T. britovi*, and *T. nativa*: infectivity, larval distribution in muscle, and antibody response after experimental infection of pigs. *Parasitology Research*. 84(4): 264-271

- 36- Kapel, C.M.O. 2000. Host diversity and biological characteristics of the *Trichinella* genotypes and their effect on transmission. *Veterinary Parasitology*. 93: 263-278
- 37- Kapel, C.M.O.; Webster, P.; Gamble, H. R. 2005. Muscle distribution of sylvatic and domestic *Trichinella* larvae in production animals and wildlife. *Veterinary Parasitology*. 132(1/2): 101-105
- 38- Kapel, C.M.O. 2005. Changes in the EU legislation on *Trichinella* inspection - new challenges in the epidemiology. *Veterinary Parasitology*. 132(1/2): 189-194
- 39- Koci_cka, W. 2000. Trichinellosis: human disease, diagnosis and treatment. *Veterinary Parasitology*. 93: 365-383
- 40- Ko_ínková, K.; Pavlí_ková, Z.; Kov_r_ík, K.; Koudela, B. 2006. Distribution of muscle larvae and antibody dynamics in goats experimentally infected with *Trichinella spiralis*. *Parasitology Research* (en prensa) on line.
- 41- Kudo, N.; Arima, R.; Ohtsuki, M.; Oyamada, T. 2001. The first host record of trichinellosis in a red fox, *Vulpes vulpes japonica*, from Aomori Prefecture, Northern Honshu, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 63(7): 823-826
- 42- Li, C.K.F.; Chung, K.K.K.; Ko, R.C. 1999. The distribution of excretory/secretory antigens during de muscle phase of *T. spiralis* and *T. pseudospiralis* infections. *Parasitology Research*. 85: 993-998
- 43- Lichtenfels, J.; Pozio, J.R.; Dick, T.A. & Zarlenga D.S. 1994. Workshop on systematics of *Trichinella*. En: Campbell, C.W.; Pozio, E. & Bruschi, F. (Eds.), *Trichinellosis*. Vol. 8. IS Press, Rome, Italy. Pp. 619- 623
- 44- Marinculic, A.; Fajdiga, M.; Durakovic, E. 2001. The efficacy of flubendazole against *Trichinella spiralis* in swine. *Parasite*. 8(2(Supp)): S191-S194
- 45- Maroli, M. & Pozio, E. 2000. Influence of temperature on the survival and infectivity of *Trichinella spiralis* larvae in *Sarcophaga argyrostoma* (Diptera, Sarcophagidae) maggots. *Journal of Parasitology*. 86 (3): 633-634
- 46- Marti, H.P. & Murrell, K.D. 1986. *Trichinella spiralis*: Antifecundity and antinewborn larvae immunity in swine. *Experimental Parasitology*. 62: 370-375
- 47- McDermott, J.R.; Bartram, R.E.; Knight, P.A.; Miller, H.R.P.; Garrod, D.R.; Grecnis, R.K. 2003. Mast cells disrupt epithelial barrier function during enteric nematode infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100(13): 7761-7766
- 48- Møller, L.N.; Petersen, E.; Gamble, H.R.; Kapel, C.M.O. 2005. Comparison of two antigens for demonstration of *Trichinella* spp. antibodies in blood and muscle fluid of foxes, pigs and wild boas. *Veterinary Parasitology*. 132: 81-84
- 49- Moretti, A.; Piergili Fioretti, D.; Grelloni, V.; Antognoni, M.T.; Leonardi, L.; Tacconi, G. 2001. Experimental trichinellosis in fallow-deer (*Dama dama* L.). *Parasite*. 8(2(Supp)): S200-S202
- 50- Moretti, A.; Piergili Fioretti, D.; Grelloni, V.; Marini, C.; Leonardi, L.; Velatta, F. 2001. Susceptibility of nutria (*Myocastor coypus*) to *Trichinella* infection: biological aspects. *Parasite*. 8(2(Supp)): S206-S208
- 51- Mowlavi, G.; Massoud, J.; Rokni, M. 2000. *Herpestes auropunctatus* as a new reservoir host of *Trichinella spiralis* in Iran. *Iranian Journal of Public Health*. 29(1/4): 67-70, Pe207
- 52- Murrell, K.D.; Anderson, W.R.; Schad, G.A.; Hanbury, B.S.; Kazacos, D.V.M.; Gamble, H.R.; Brown, D.V.M. 1986. Field evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay for swine trichinosis: Efficacy of the excretory-secretory antigen. *American Journal of Veterinary Research*. 47(5): 1046-1049

- 53- Murrell, K.D.; Lichtenfels, J. R.; Zarlenga, G.; Pozio, E. 2000. The systematics of the genus *Trichinella* with a key to species. *Veterinary Parasitology*. 93: 293-307
- 54- Murrell, K.D.; Djordjevic, M.; Cuperlovic, K.; Sofronic, L.; Savic, M.; Djordjevic, M.; Damjanovic, S. 2004. Epidemiology of *Trichinella* infection in the horse: the risk from animal product feeding practices. *Veterinary Parasitology*. 123(3/4): 223-233
- 55- Nöckler, K.; Pozio, E.; Voigt, W.P.; Heidrich, J. 2000. Detection of *Trichinella* infection in food animals. *Veterinary Parasitology*. 93: 335-350
- 56- Nöckler, K; Hamidi, A; Fries, R; Heidrich, J; Beck, R; Marinculic, A. 2004. Influence of methods for *Trichinella* detection in pigs from endemic and non-endemic European Region. *Journal of Veterinary Medicine Series B*. 51(6): 297-301
- 57- Nöckler, K.; Serrano, F.J.; Boireau, P.; Kapel, C.M.O.; Pozio, E. 2005. Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. *Veterinary Parasitology*. 132: 85-90
- 58- Nowakowski, Z. 2004. Intensity of *Trichinella spiralis* invasion in the muscles of infected sheep. *Medycyna Weterynaryjna*. 60(6): 634-636
- 59- Ortega Pierres, M.G.; Arraiga, G. & Yépez Mulia, L. 2000. Epidemiology of trichinellosis in Mexico, Central and South America. *Veterinary Parasitology*. 93: 201-225
- 60- Pozio, E.; La Rosa, G.; Rossi, P.; Murrell, K. D. 1992. Biological characterization of *Trichinella* isolates from various host species and geographical regions. *Journal of Parasitology*. 78: 647-653 (a)
- 61- Pozio, E.; La Rosa, G.; Murrell, K. D.; Lichtenfels, J. R. 1992. Taxonomic revision of the genus *Trichinella*. *Journal of Parasitology*. 78: 654-659. (b)
- 62- Pozio, E.; Shaikenov, B.; La Rosa, G.; Obendorf, L. 1992. Allozymic and biological characters of *Trichinella pseudoespiralis* isolate from free-ranging animals. *Journal of Parasitology*. 78: 1087-1090. (c)
- 63- Pozio, E.; La Rosa, G.; Serrano, F.J., Barrat, J., Rossi, L. 1996. Environmental and human influence on the ecology of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in western-Europe. *Parasitology*. 113: 527-533
- 64- Pozio, E. & La Rosa, G. 2000. *Trichinella murrelli* n. sp: Etiological agent of sylvatic trichinellosis in temperate areas of North America. *Journal of Parasitology*. 86: 134-139
- 65- Pozio, E. 2000. Factors affecting the flow among domestic, synanthropic and sylvatic cycles of *Trichinella*. *Veterinary Parasitology*. 93: 241- 262
- 66- Pozio, E.; Sofronic Milosavljevic, L.; Morales, M.A.G.; Boireau, P; Nockler, K. 2002. Evaluation of ELISA and Western Blot Analysis using three antigens to detect anti-*Trichinella* IgG in horses. *Veterinary Parasitology*. 108(2): 163-178
- 67- Pozio, E.; Foggin, C.M.; Marucci, G.; La Rosa, G.; Sacchi, L.; Corona, S.; Rossi, P.; Mukaratirwa, S. 2002. *Trichinella zimbabwensis* n.sp. (Nematoda), a new non-encapsulated species from crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in Zimbabwe also infecting mammals. *International Journal for Parasitology*. 32(14): 1787-1799
- 68- Pozio, E.; Marucci, G.; Casulla, A.; Sacchi, L. Mukaratirwa, S.; Foggin, C. M.; La Rosa, G. 2004. *Trichinella papua* and *Trichinella simbabwensis* induce infection in experimentally infected varans, caimans, pythons and turtles. *Parasitology*. 128: 333- 342 (a)
- 69- Puljiz, I.; Beus, A.; Kuzman, I.; Seiwerth, S. 2005. Electrocardiographic changes and myocarditis in trichinellosis: a retrospective study of 154 patients. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 99(4): 403-411

- 70- Rafter, P; Marucci, G; Brangan, P; Pozio, E. 2005. Rediscovery of *Trichinella spiralis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland after 30 years of oblivion. *Journal of Infection*. 50(1): 61-65
- 71- Ribicich, M.; Miguez, M.; Franco, A.; Basso, N.; Gamble, R.H.; Santillan, G.; Molina, V.; Guarnera, E. 2000. Evaluation of ELISA test for the diagnosis of porcine trichinellosis. *The Pig Journal*. 46: 24-34
- 72- Ribicich, M.; Gamble, H.R.; Rosa, A.; Bolpe, J.; Franco, A. 2005. Trichinellosis in Argentina: An historical review. *Veterinary Parasitology*. 132: 137-142
- 73- Ribicich, M.; Gamble, H.R.; Rosa, A.; Sommerfelt, I.; Cardillo, N.; Bolpe, J.; Torno, H.; Verdier, M.; Franco, A. 2005. Serological study of *Trichinella spiralis* in pigs in the Province of Buenos Aires, Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria Buenos Aires*. 86(3): 107-109
- 74- Ruiz, M.L.; Schapiro, J.; Martinez, M.L.; Castaño, R.; Morici, G. Cutulle, C.; Balbiani, G.; Castro, M.; Caracostantogolo, J. 2005. Distribución de larvas de *Trichinella* sp. en músculos de porcinos infectados experimentalmente y detección de infectividad posterior a la congelación. XVII Congreso Latinoamericano de Parasitología. IV Congreso Argentino de Parasitología. XXIX Jornadas Internacionales de hidatidología. 23-26 de Noviembre. Mar del Plata. 60(2): 286-287
- 75- Schwartz, B. 1962. Trichinosis in United States. In: *Trichinellosis, Proceedings of First International Conference of Trichinellosis, Warsaw*, 68-75
- 76- Senutaite, J. & Grikiene, J. 2001. Prevalence of *Trichinella* in muscles of some domestic and wild mammals in Lithuania and their impact on the organism. *Acta Zoologica Lituanica*. 2001; 11(4): 395-404
- 77- Sequeira, G.J.; Marti, L.E.; Rosmini, M.R.; Sanchez, M.; Dalla Santina, R.; Benetti, F. 2000. Estimation of the economic cost of an outbreak of human trichinosis. *In Vet Investigación Veterinaria*. 2(1): 70-71
- 78- Shen LiJie; Li ShiTao; Wang XiuZhen. 1999. Comparison of three *Trichinella spiralis* antigens as immunodiagnostic antigen. *Endemic Diseases Bulletin*. 14(2): 10-12
- 79- Shen LiJie; Luo ZhiYong; Zhu ShengHua. 2002. Immune responses to challenge infection in mice immunized with *Trichinella spiralis* adult worm soluble antigen. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*. 20(5): 292-294
- 80- Smith, H.J. 1987. Evaluation of the ELISA for the serological diagnosis of trichinosis in canadian swine. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 51: 194- 197
- 81- Sofronic Milosavljevic, L.; Ilic, N.; Djordjevic, M.; Savic, M.; Gruden Movsesijan, A.; Cuperlovic, K.; Murrell, K. D. 2005. Anti-*Trichinella* antibodies detected in chronically infected horses by IFA and Western blot, but not by ELISA. *Veterinary Parasitology*. 132(1/2): 107-111
- 82- Sosa, N.; Calcagno, M.A.; Forastiero, A.; Farabello, S.P.; Taus, R.; Venturiello, S.M. 2006. Detección de trichinellosis porcina en ganado perteneciente a la ciudad de Gualeguaychú y zonas aledañas. Resultados preliminares. Congreso de Zoonosis. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 3: 288.
- 83- Spinelli, J. & Irastorza, F. 2005. Efficacy of ivermectin against encysted *Trichinella spiralis* larvae in swine. *Veterinaria Argentina*. 22(211): 13-25
- 84- Steffan, P.E. 1987. Experimental infection with *Trichinella spiralis* in rabbits and guinea pigs. Studies on inoculation technique, diagnostic methods, pathogenesis, and anthelmintic efficacy of ivermectin. Course on Diagnostic Techniques in Parasitic Diseases, National Serum Institute, Denmark, pp. 85.
- 85- Steffan, P.E. 1998. Trichinellosis: una sociedad en jaque. Aula Magna de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, en Sesión Pública Extraordinaria del 18 de junio de 1998. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, ISSN 0327 - 8093, Tomo LII, N° 12, pp. 1 -30, Buenos Aires, Argentina.

- 86- Stewart, G.L.; Na, H.; Smart, L.; Seeling Jr., L.L. 1999. The temporal relationship among anti-parasite immune elements expressed during the early phase of infection of the rat with *Trichinella spiralis*. *Parasitological Research*. 85: 672-677
- 87- Stojcevic, D.; Zivicnjak, T.; Marinculic, A.; Marucci, G.; Andelko, G.; Brstilo, M.; Pavo, L.; Pozio, E. 2004. The epidemiological investigation of *Trichinella* infection in brown rats (*Rattus norvegicus*) and domestic pigs in Croatia suggests that rats are not a reservoir at the farm level. *Journal of Parasitology*. 90(3): 666-670
- 88- Theodoropoulos, G. Kapel, C.M.O.; Webster, P.; Saravanos, L.; Zaki, J.; Koutsotolis, K. 2000. Infectivity, predilection sites and, freeze tolerance of *Trichinella* spp. in experimentally infected sheep. *Parasitological Research*. 86: 401- 405
- 89- van Knapen, F.; Franchimont, J. H.; Ruitenber, E.J.; Andre, P. ; Baldelli, B.; Bradley,J.; Gibson, T.E.; Gottal, S.A.; Henriksen, S.A.; Köhler, G.; Skovgaard, N.; Soulé, C.; Taylor, S.M. 1980. Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with three other methods for the detection of *Trichinella spiralis* infections in pigs. *Veterinary Parasitology*. 7: 109-121
- 90- van Knapen, F.; Franchimont, J. H.; Ruitenber, E.J.; Andre, P. ; Baldelli, B.; Gibson, T.E.; Henriksen, S.A.; Köhler, G.; Roneus, O.; Skovgaard, N.; Soule, C.; Strickland, K.L.; Taylor, S.M.; Thomsen, D.U.; Wolff, F. 1984. Comparison of three methods for detection of prolonged experimental trichinellosis in pigs. *Veterinary Parasitology*. 16: 167-171
- 91- van Knapen, F. 2000. Control of trichinellosis by inspection and farm management practices. *Veterinary Parasitology*. 93: 385-392
- 92- Wakelin, D. 1996. Immunology and genetics of zoonotic infections involving parasites. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. 19(4): 255-265
- 93- Wakelin, D. & Goyal, P.K. 1996. *Trichinella* isolates: Parasite variability and host responses. *International Journal of Parasitology*. 26 (5):471-481
- 94- Wang, C. 1998 Characterization of kinetics of anti-*Trichinella spiralis* newborn larvae immunity in rats. *Frontiers of Bioscience*. 3:a38-46
- 95- Wang ZhongQuan; Han HuaMin; Cui Jing. 2005. Preliminary study on congenital transmission of *Trichinella spiralis* in mice. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*. 23(3): 73-77
- 96- Watanabe, N.; Bruschi, F.; Korenaga, M. 2005. IgE: a question of protective immunity in *Trichinella spiralis* infection. *Trends in Parasitology*. 21 (4): 175-178
- 97- Webster, P. & Kapel, C.M.O. 2005. Studies on vertical transmission of *Trichinella* spp. in experimentally infected ferrets (*Mustela putorius furo*), foxes (*Vulpes vulpes*), pigs, guinea pigs and mice. *Veterinary Parasitology*. 130 (3/4): 255-262
- 98- Yopez Mulia, L.; Arriaga, C.; Viveros, N.; Adame, A.; Benitez, E.; Ortega Pierres, M. G.1999. Detection of *Trichinella* infection in slaughter horses by ELISA and western blot analysis. *Veterinary Parasitology*. 81(1): 57-68
- 99- Zarlenga, D.S. & Gamble, H.R. 1990. Molecular cloning and expression of an immunodominant 53 kDa excretory-secretory antigen from *Trichinella spiralis* muscle larvae. *Molecular Biochemistry Parasitology*. 42: 165-174
- 100- Zarlenga, D. S. & La Rosa, G. 2000. Molecular and biochemical methods for parasite differentiation within de genus *Trichinella*. *Veterinary Parasitology*. 93: 279-292