

Evaluación de la infección de *Trichinella spiralis* en cerdos gonadectomizados, Zacatecas, México

An assessment of Trichinella spiralis infection in gonadectomized pigs in Zacatecas, Mexico

Rosa Gabriela Reveles Hernández¹, Sergio Javier Saldivar Elías¹, Claudia Maldonado Tapia¹, José Jesús Muñoz Escobedo², María Alejandra Moreno García¹.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la infección de *Trichinella spiralis* en cerdos gonadectomizados.

Material y método: El presente trabajo se realizó utilizando 9 cerdos de la raza York de 4 meses de edad divididos en tres grupos: 3 cerdos control sanos, 3 cerdos infectados con *Trichinella spiralis* y 3 cerdos gonadectomizados y posteriormente infectados con *Trichinella spiralis*, todos los animales fueron sangrados pretratamiento y postratamiento para detección de anticuerpos anti *T. spiralis* por las técnicas inmunológicas, Western Blot y Inmunofluorescencia indirecta. Los animales fueron sacrificados a las 6 semanas de infección por *Trichinella spiralis*, se obtuvo tejido para las técnicas directas de compresión en placa y digestión artificial para evaluación de carga parasitaria.

Resultados: en los cerdos gonadectomizados e infectados se presentó un ataque agudo de Trichinellosis, la carga parasitaria fue mayor estadísticamente significativa en relación a los cerdos infectados con $P < 0.01$, por el método de ANOVA y sin gonadectomizar, las técnicas inmunológicas fueron positivas en ambos grupos infectados y gonadectomizados.

Conclusión: El diagnóstico oportuno de *Trichinella spiralis* mediante la evaluación directa y aleatoria en camadas de cerdos a través de la observación de larva infectante en tejido cerebral, detección de anticuerpos anti - *T. spiralis*. por inmunofluorescencia indirecta e Inmunoelctrotransferencia resultan eficaces y eficientes para hacer un diagnóstico oportuno en el animal para consumo humano.

Palabras clave: *Trichinella spiralis*, porcinos, enfermedades de los porcinos.

ABSTRACT

Objective: To assess the prevalence of *Trichinella spiralis* in gonadectomized pigs.

Material and methods: The study was performed using 9 four-month old pigs, York race, which were divided in three groups: 3 healthy control animals, 3 pigs infected with *Trichinella spiralis*, and 3 gonadectomized animals that later were infected with *T. spiralis*. Blood samples were taken from every animal before and after therapy for the detection of anti-*T. spiralis* antibodies using Western Blot and indirect immunofluorescence techniques. All animals were killed after 6 weeks of being infected with *T. spiralis*, and tissue samples were obtained for performing assessments using direct methods, such as plate compression and artificial digestion in order to look for the parasite load.

Results: Gonadectomized and infected pigs developed an acute presentation of trichinellosis, their parasite load was statistically higher compared to infected non-gonadectomized pigs using ANOVA ($P < 0.01$), and immune methods yielded positive results in both infected groups of animals.

Conclusion: The timely diagnosis of *Trichinella spiralis* in pigs using direct and random assessments by observing the presence of infective worms in brain tissue, together with the detection of anti-*T. spiralis* antibodies using indirect immunofluorescence and immunoelectrotransferencia are both efficacious and efficient for the early diagnosis of this infection in animals whose meat is about to be consumed

Key words: *Trichinella spiralis*, swine, swine diseases

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de *Trichinella spiralis* se debe a James Paget, estudiante de medicina en el hospital de San Bartolomé en Londres, él observó el parásito en el músculo del diafragma de un albañil italiano de 51 años que había muerto de tuberculosis. Y el zoólogo británico Richard Owen en el año de 1835 estudió porciones de músculo del caso de Paget y le dio el nombre de *Trichinella spiralis* y el cual se ha reportado en casi todo el mundo con una prevalencia alta en Europa, Asia y América del Sur¹⁶.

Tiene tres estadios³:

- Larva infectante (LI), (Figura 1).
- Hembra adulto (HA) y Macho adulto (MA), (Figura 2).
- Larva recién nacida (LRN)

La Trichinellosis constituye una enfermedad zoonótica cosmopolita de origen alimentario, la causa el nemátodo *T. spiralis*. En México solo se le da importancia cuando se presentan brotes, se ha detectado en 24 estados de la República Mexicana. En estudios en Zacatecas México

en los últimos 5 años se ha detectado en humano, perro, cerdo y rata doméstica^{14,15}.

La Trichinellosis es una enfermedad silenciosa ya que no ocasiona de manera habitual la muerte pero si disminuye la calidad de vida, por no presentar un cuadro clínico definido en su inicio y que se confunde con enfermedades gastrointestinales y cuando existe una carga parasitaria importante las manifestaciones clínicas dependen del estadio: fase intestinal, sistémica ó muscular, por este motivo el sector salud no lo considera un problema de salud pública, sin embargo sigue prevaleciendo en la población ya que se consume carne de cerdo elaborada en forma tradicional la cual no destruye al parásito como es el chorizo⁴, así como que las familias tengan cerdos que son alimentados con desperdicios de la cocina, cerdos que no están confinados y que son gonadectomizados para tener más grasa y habitualmente son consumidos en algún evento familiar.

Con un deficiente estado nutricional de estos animales favoreciendo la infección por *Trichinella spiralis*¹².

Tratamiento

Actualmente se ha evaluado el efecto del albendazol en fase intestinal y muscular con un tratamiento de 14 días

¹ Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la UAZ.

² Unidad Académica de Odontología de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

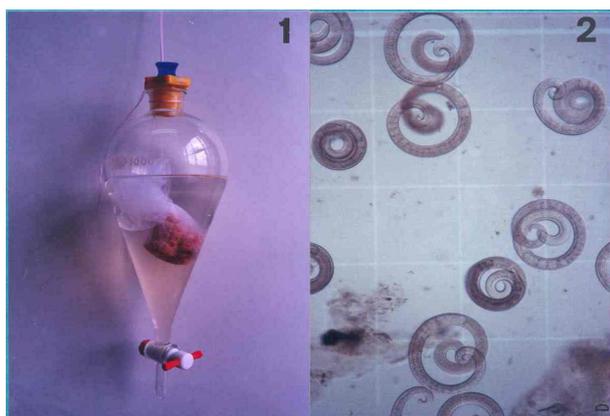


Figura 1

Se observan LI de *T. spiralis* al microscopio óptico de luz (10X) obtenidas de la técnica de digestión artificial en embudo de separación (Laboratorio de Biología Celular y Microbiología de la UAZ).

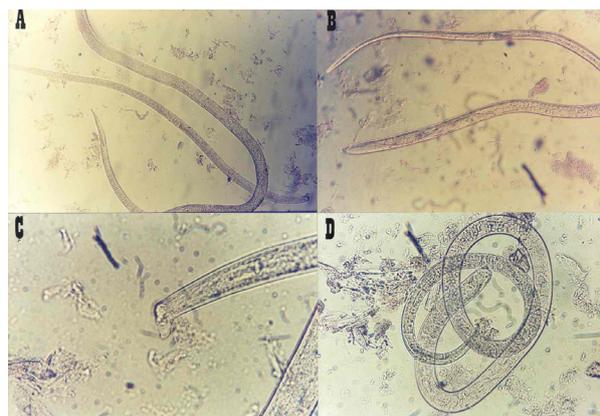


Figura 2

Se observa en la parte superior A y B.-hembra y macho adultos de *T. spiralis* y en la parte inferior C). El macho adulto de *T. spiralis* y D). Hembra adulta de *T. spiralis*. Al microscopio óptico de luz (10X) (Laboratorio de Biología Celular y Microbiología. UAZ.).

teniendo un efecto satisfactorio al eliminar al parásito, así mismo se han tenido resultados favorables con el Fluobendazol^{5,6,8}.

Han sido evaluados tratamientos inmunológicos con resultados satisfactorios^{1,11}.

El presente trabajo tiene el objetivo de: Evaluar la infección de *Trichinella spiralis* en cerdos gonadectomizados.

MATERIALES Y MÉTODOS.

El presente trabajo se realizó utilizando 9 cerdos de la raza York de 4 meses de edad divididos en tres grupos: 3 cerdos control sano, 3 cerdos infectados con *T. spiralis* y 3 cerdos gonadectomizados y posteriormente infectados con *Trichinella spiralis*, todos los animales fueron sangrados pre-tratamiento y pos-tratamiento para la detección de anticuerpos anti-*T. spiralis* por las técnicas inmunológicas, Wester Blot e Inmunofluorescencia indirecta, fueron sacrificados a las 6 semanas de infección por *T. spiralis*, se obtuvo tejido para las técnicas directas de compresión en placa y digestión artificial para evaluación de carga parasitaria.

Técnica de compresión de placa

Para la técnica de compresión en placa se utilizaron aproximadamente 50 mg. de cada tejido, (masetero, lengua, intercostales, diafragma, pierna, cola y cerebro), cada muestra se colocó entre 2 laminillas y se comprimieron, ocupando una área de 1 x 5 mm, se observó al microscopio óptico de luz (10x), y se realizó el conteo de 10 campos, por triplicado⁷.

Técnica de digestión artificial

Se utilizaron muestras de 30 g. de tejido (masetero, lengua, intercostales, diafragma, pierna), y se incubaron a 37°C, en un tamiz de tul en forma de saco, suspendido

en una solución al 0.3 % de pepsina (10,000 U) y HCl al 37 % (0.2 M) en 500 ml de agua destilada, dentro de un embudo de separación; transcurridas 24 horas se procedió a separar el paquete larvario con las LI, que se depositaron en el fondo del embudo, se observaron en una cámara de newbawer al microscopio óptico de luz (10X)⁷. y se cuantificó el paquete⁷.

Obtención del antígeno soluble total de *Trichinella spiralis*.

Para la obtención del antígeno se sacrificaron 4 ratas se obtuvo el tejido infectado y se procesaron de acuerdo a lo señalado en la técnica de digestión artificial, después de 24 horas se procedió a separar las LI que se depositaron en el fondo del embudo, las cuales, después de varios lavados con solución básica de fosfatos (PBS), se desengrasaron con acetona absoluta a evaporación y se mantuvieron en PBS, luego se sonicaron con la finalidad de romper cutícula y vaciar el contenido antigénico de las LI, se centrifugaron a 3500 rpm por 1.5 horas, el sobrenadante fue el antígeno soluble total (AST) mismo que se usó como antígeno para las diferentes pruebas en el modelo experimental con los sueros problema^{4,13,14}.

Determinación de proteínas.

Para determinar que el antígeno tuviera la concentración adecuada de proteínas se obtuvo una curva estándar usando albúmina sérica bovina, ajustando la concentración de proteínas obtenidas a una densidad óptica de 610 nm mediante azul de Coomassie al 0,06 % preparado en HCl al 2,2 %. Se interpoló el valor de la densidad óptica del antígeno, a la de la curva estándar de albúmina, se obtuvo la concentración de proteínas contenidas en el extracto antigénico².

Corrimiento electroforético en Geles de Poliacrilamida (EGPA).

Para la fijación del antígeno se realizó el corrimiento electroforético, para esta técnica se usaron geles de 8x 10 cm, preparados con dodesil sulfato de sodio (SDS), en condiciones reductoras con una concentración al 11% del gel separador y del 4% en el concentrador.

A cada carril se le colocaron 40 µL del antígeno, equivalente a una concentración de 36 µg de proteína; la cual fue preparada por ebullición por 5 min. en una solución reductora de Tris - HCl 1 M pH de 6.8; glicerol; SDS al 2%; azul de bromofenol al 0.5%, etilen diamin tetra acético (EDTA); agua, di- tiotreitil 5 Mm y 2-β -mercaptoetanol al 5%.

El corrimiento se realizó en una cámara de Protean II xi Cell (Bio- Rad), por espacio de dos horas, usando 100 miliamperes por gel. Se continuó con la tinción de uno de los geles con el colorante azul de Coomassie G- 250 y su secado en membranas de celofán.

Se usaron los siguientes marcadores de pesos moleculares: Fosforilasa (97 kDa), Albúmina sérica bovina (68 kDa), Ovo albúmina (43 kDa), Anhidrasa carbónica (24 kDa) y Lisosima (14 kDa); el gel restante se usó para transferencia a papel de nitrocelulosa (NC)¹⁷.

Inmunodifusión doble (IDD)

Para la inmunodifusión doble se elaboró un gel de agar al 1 % en agua destilada con azida de sodio, para evitar contaminación; se colocó en una cantidad de 4,5 mL a 55°C sobre una laminilla de vidrio, una vez en forma sólida, se procedió a formar la roseta con un horador, procurando una equidistancia de 0,5 cm entre pozo y pozo; la confrontación se realizó colocando siempre el antígeno en una cantidad de 10 µL (9 g) en el centro y, en torno a éste, un suero de reactividad conocida, (en la misma proporción en volumen sin diluir), dejando a temperatura ambiente en cámara húmeda de 24 a 48 horas, hasta observar líneas de precipitación entre el suero positivo y el antígeno; luego se procedió a teñir el gel con azul brillante de Coomassie G 250, en un 25 % en volumen¹⁵.

Inmunoelectrotransferencia (IET)

El producto obtenido del corrimiento en gel de poliacrilamida se transfirió a papel de NC, utilizando la cámara de Transblot- Cell (Bio-Rad)® a 35 voltios, durante toda la noche a 4°C.

El papel de NC fue teñido con fast green (verde rápido) por 5 min. con agitación constante, se retiró el colorante y fue decolorado en agua destilada, para verificar transferencia de las proteínas, se dejó secar y se cortaron las tiras del ancho aproximado de cada carril (0,5 cm).

Transcurrido lo anterior, se procedió a cubrir cada tira con una solución de PBS- leche en polvo al 3% y azida de sodio al 0,15% a 4°C, con agitación constante por toda la noche. Enseguida se lavaron 3 veces por 10 min. con PBS, se continuó con la incubación por 1,5 hrs. con los sueros de las ratas en una dilución de 1:100 en PBS- leche en polvo al 3% a 37°C con agitación constante, posteriormente se

lavarón en dos ocasiones con PBS- Tween 20 al 0.3% por 10 min. y tres más con PBS otros 10 min. A continuación se incubaron con el segundo anticuerpo Anti-IgG de cerdo, conjugado con peroxidasa 1: 2000 PBS- leche en polvo al 3% por 1 hrs., a temperatura ambiente, con agitación, después se lavaron 2 veces con PBS- Tween 20 al 3% y se enjuagaron con PBS, por 10 min.

El patrón de Bando de cada tira se reveló con 3,3' diamino-benzidina (DAB), 50 mg en 100 mL de PBS, usando, como sustrato, peróxido de hidrógeno al 37 %¹⁰.

Inmunofluorecencia indirecta (IFI)

Es una técnica muy sensible. Previamente se obtuvieron por digestión artificial LI de *T. spiralis*. A 10 µL de las LI se les agregó 10 µL de los sueros a analizar y se incubaron a temperatura ambiente por 45 minutos con agitación constante. Posteriormente se extrajo la fase líquida, se realizaron 2 lavados con PBS con agitación suave (por 10 minutos) y se extrajo nuevamente la fase líquida. Al remanente se le adicionaron 10 µL, del conjugado monovalente antigammaglobulina- anti cerdo con fluoresceína (dilución 1: 500) y se incubaron nuevamente a temperatura ambiente por 45 minutos con agitación constante, después se lavaron nuevamente con PBS (por 10 minutos). A cada laminilla se le colocaron 10 µL de larvas, se cubrieron con un cubreobjetos y se sellaron con resina. Finalmente se observaron con un microscopio confocal invertido Axiover 200 M⁹.

RESULTADOS

En el grupo de cerdo control (FIG. 3) fueron negativas las técnicas directas de compresión y digestión artificial y las indirectas de IET y IFI.

En los cerdos gonadectomizados e infectados se presentó un ataque agudo de Trichinellosis con diarrea, fiebre de 39 grados centígrados, piel eritematosa, lesiones en articulaciones, edema periobitario (FIGS. 4 y 5), la carga parasitaria fue estadísticamente significativa en relación a los cerdos infectados y sin gonadectomizar, $P < 0,01$, por el método de ANOVA.

En el cerdo gonadectomizado e infectado se detectaron LI de *T. spiralis* en tejido cerebral con hemorragia petequial adyacente.

El cerdo solo infectado con *T. spiralis* presentó un cuadro moderado de Trichinellosis, no se detectaron LI de *T. spiralis* en tejido cerebral.

Las técnicas inmunológicas fueron positivas en ambos grupos gonadectomizado-infectado, y solo infectado.

En el cerdo infectado la técnica de IET (FIG. 6) (fue positiva a diluciones de 1:1000 y en cerdo gonadectomizado e infectado fue positivo a diluciones hasta de 1:10,000 (FIG. 7) la IFI fue más importante en este grupo (FIG. 8).



Figura 3
Cerdo normal sin infección y no gonadectomizado.

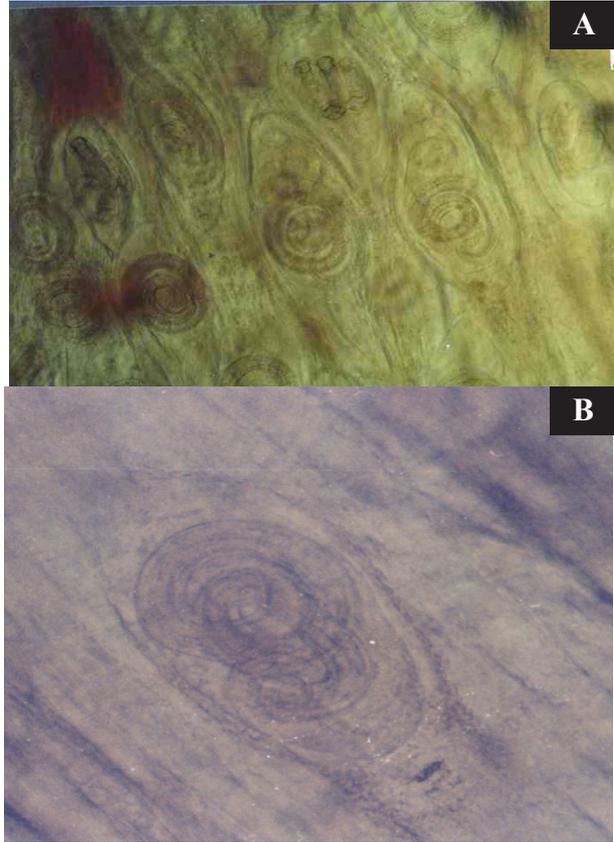


Figura 5. A.
Se observa tejido de diafragma de cerdo infectado con *T. spiralis* y gonadectomizado por la técnica de compresión en placa observada al microscopio óptico de luz (10X) con un promedio de 16 LI de *T. spiralis* por campo. B.- Se observa tejido de diafragma de cerdo infectado con *T. spiralis* por la técnica de compresión en placa observada al microscopio óptico de luz (20X) con un promedio de 3 LI de *T. spiralis* por campo.



Figura 4. A.
Cerdo Gonadectomizado e infectado por *T. spiralis* se observa eritema de su piel y edema en párpado. B.- Corte de cerebro del cerdo a la compresión se observa una LI de *T. spiralis* con hemorragia petequial. C.- Cerdo gonadectomizado en pata derecha se observa daño en la articulación, eritema generalizado.

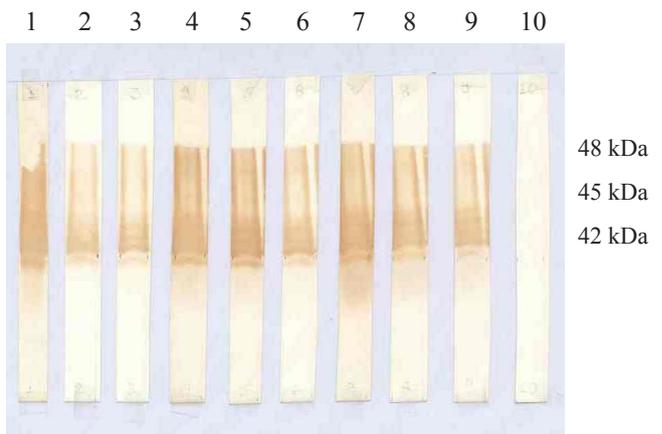


Figura 6.
Se observa por la técnica de IET sueros de cerdos gonadectomizados e infectados con *T. spiralis* (carriles del 1-4), suero de cerdos infectados con *T. spiralis* (carriles del 5-8) a una dilución de 1:1000 observándose el triplete de 42,45 y 48 kDa., carril 9 suero control positivo y carril suero control negativo.

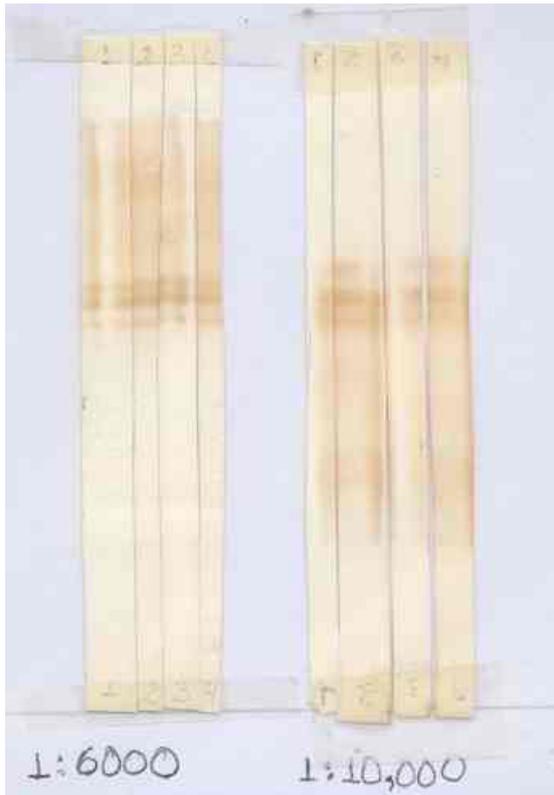


Figura 7
Se observa por la técnica de IET sueros de cerdos gonadectomizados e infectados con *T. spiralis*, dilución de 1:6000-hasta 1:10,000, permaneciendo el triplete de 42,45 y 48 kDa.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se llevó a cabo la reproducción del ciclo vital de *Trichinella spiralis* en cerdo gonadectomizado e infectado, observando un cuadro clínico de ataque agudo de trichinelosis, con edema periorbital, daño en articulaciones aumento de la temperatura y al comparar la carga parasitaria con los cerdos solo infectados la diferencia fue estadísticamente significativa en relación a los gonadectomizados e infectados, en cerebro se observaron LI con hemorragia petequiral y las técnicas inmunológicas fueron de mayor sensibilidad en los gonadectomizados e infectados con *T. spiralis*.

La gravedad de esta enfermedad depende de la carga parasitaria, la edad del paciente, sexo, estado nutricional, hormonal e inmunológico^{1,3,12}, habitualmente no causa muerte, pero si una disminución en la calidad de vida del huésped. Se transmite accidentalmente al ingerir carne o productos cárnicos crudos o no bien cocidos de animales infectados^{4,13}.

En las poblaciones rurales de México se acostumbra de manera cotidiana el tener cerdos como parte de su economía familiar, pero desafortunadamente se dejan al libre pastoreo y estos acuden donde pueden encontrar alimento, el cual es en espacios donde hay basura y en esta se encuentra también la rata doméstica que es parte del

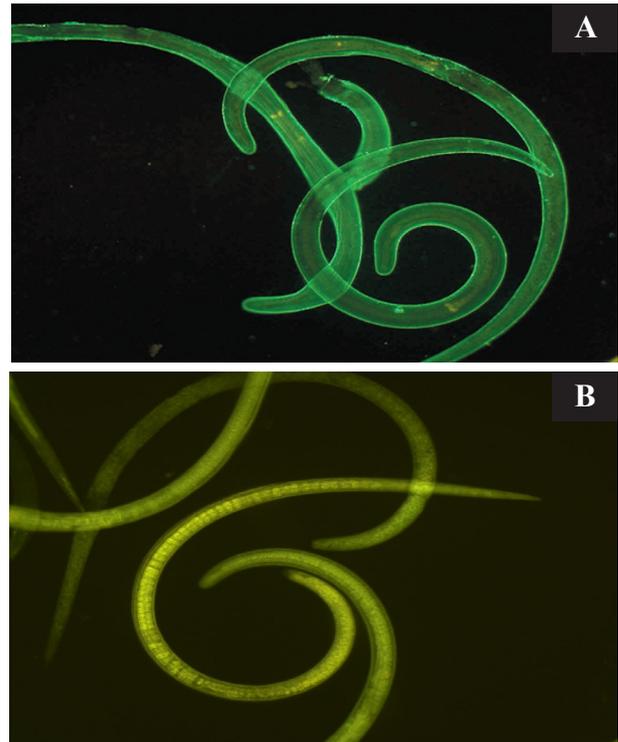


Figura 8. A
Técnica de IFI de suero de cerdo infectado con *T. spiralis*. Por microscopía confocal con anticuerpos marcados con anti IgG de cerdo predominio de la inmunofluorescencia en la superficie del parásito, B.- Técnica de IFI de suero de cerdo infectado con *T. spiralis* y gonadectomizados por microscopía confocal con anticuerpos marcados con anti IgG de cerdo, existe predominio de la inmunofluorescencia en la cavidad celomica del parásito.

ciclo de transmisión de esta parasitosis, rata-cerdo-humano, así mismo se acostumbra gonadectomizar a los cerdos para que tengan aumento de peso y mejorar el sabor de su carne, utilizando esta para algún evento familiar y es cuando se presentan los brotes^{3,4,12,13}.

En Zacatecas, México existe una comida típica que es el asado de boda, el cual consiste en carne de cerdo frita en trozos de tamaño medio y se agregan diferentes chiles y condimentos, a pesar que es sometido a temperaturas de más de 400 grados centígrados en el centro no está bien cocida la carne y permite la viabilidad del parásito⁴.

El chorizo es carne de cerdo molida y condimentada con chile y especias, que no es bien cocida y es una fuente de contaminación^{3,4, 13}.

Siendo de vital importancia para evitar la infección de *T. spiralis* y otras enfermedades el cocer adecuadamente la carne por 60 minutos a 97 grados centígrados y de utilizar olla de presión por 30 minutos⁴.

Se han desarrollado diferentes estrategias para el control de las enfermedades parasitarias del hombre y sus animales domésticos, entre ellas el manejo de los animales, la educación en el hombre, la selección genética, el uso de fármacos antiparasitarios^{5,6, 8}, y la vacunación^{1,11}.

Los primeros cuatro métodos se conocen desde hace mucho tiempo; sin embargo, no han producido los resultados deseados o tienen serios inconvenientes y la vacunación no se ha cristalizado.

El contar con este modelo experimental que asemeja las condiciones habituales de vida del cerdo es una herramienta para el estudio de la Trichinellosis, y hacer un diagnóstico oportuno ya que desafortunadamente de manera habitual no se realiza y sin embargo es una de las zoonosis que sigue presente y aumenta el número de casos que no son diagnosticados ya que son confundidos con otras patologías^{3,13}.

CONCLUSIONES

Se logró la reproducción del ciclo vital de *Trichinella spiralis* en cerdos gonadectomizados e infectados, teniendo una carga parasitaria estadísticamente significativa ($P < 0,01$), por el método de ANOVA en relación de los solo infectados.

Se observó la presentación de un cuadro clínico agudo característico de Trichinellosis.

La observación de LI en tejido cerebral fue efectiva.

La detección de anticuerpos anti-*T. spiralis*. por técnicas de IFI y IET fuero de gran utilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bautista Garfias Carlos Ramón, Posadas Beltrán Adriana, Ixta Rodríguez Olga. Inmunización de ratones BALB/c con un antígeno de larvas musculares de *Trichinella spiralis* utilizando *Lactobacillus casei* como adyuvante, Veterinaria México, vol. 35, No. 4, p. 359-368. 2004.
2. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding, Anal biochem. 72: 248 – 254. 1976.
3. Chávez Guajardo Elsa Gabriela, Saldivar Elías Sergio, Muñoz Escobedo José Jesús, Moreno García María Alejandra. Trichinellosis una zoonosis vigente, REDVET. Vol. VII, No. 05, p. 1-19, <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>. 2006.
4. Chávez Guajardo Elsa, Muñoz Escobedo José Jesús, Reveles Hernández Gabriela, Rivas Gutierrez Jesús, Moreno García Alejandra. Efecto de la temperatura en la viabilidad e infectividad de *T. spiralis*; AVFT, vol. 26, no. 2, p. 1-5. 2007.
5. Chávez Ruvalcaba María Isabel, Reveles Hernández Rosa Gabriela, Saldivar Elías Sergio, Muñoz Escobedo José Jesús, Morales Vallarta Mario, Moreno García María Alejandra. Evaluación del Albendazol, Ivermectina y Nitazoxanida en infección causada por *Trichinella spiralis* en modelo suino, AVFT, vol.25, no.2, p.78-84. 2006.
6. Chung M. S., Jook K. H., Quan F. S., Kwon H. S. Y Cho S. W. Efficacy de flubendazole and albendazole against *Trichinella spiralis* in mice, Parasite, 8: 195-198.2001.

7. Del Río A., Y Herrera D. R. Triquinosis experimental: Extracción de antígenos y procedimientos para detectar anticuerpos. Archivos de Investigación Médica. México.17:359-367. 1986.

8. Espinoza Vela Juan Luis. Efecto del Albendazol en la infección crónica de Trichinellosis en modelo experimental murino, tesis Licenciatura; Q.F.B., U.A.Z., p. 1-52. 2008.

9. Labzoffsky Na, Baratawidjaja Rk, Kuitunen E, Lewis Fn, Kavelman Da, Morrissey Lp. Immunofluorescence as an Aid in the Early Diagnosis of Trichinosis. Canadian Medical Association Journal. 90(15):920-1.1964.

10. Laemmli U. K. Cleavage of Structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature (London) 227: 680.1970.

11. Maldonado Tapia Claudia, Reveles Hernández Gabriela, Saldivar Elías Sergio, Muñoz Escobedo Jesús, Morales Vallarta Mario, Moreno García Alejandra Evaluación del efecto protector de dos inmunógenos de *Trichinella spiralis* en ratas Long Evans infectadas con *Trichinella spiralis*. AVFT, Vol. 26,no 2, P. 2007.

12. Maldonado Tapia Claudia, Morales Vallarta Mario, Muñoz Escobedo José Jesús, Saldivar Elías Sergio, Moreno García María Alejandra. Efecto del estado nutricional en la susceptibilidad o resistencia a la infección de *Trichinella spiralis* en modelo murino, REDVET, Vol. VIII, N° 5, p. 1-9, <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>. 2007.

13. Moreno García María Alejandra, Vacio De La Torre María Del Refugio, Reveles Hernández Gabriela, Román Díaz Rubén, Berumen De La Torre Vicente, Saldivar Elías Sergio, Muñoz Escobedo J. Jesús. Epidemiología, Diagnóstico y Tratamiento de la Trichinellosis en el Estado de Zacatecas, México; Visión Veterinaria, p.1-2 <http://www.visionveterinaria.com>. 2004.

14. Muñoz E Jesús, Saldivar Elías Sergio, Reveles Hernández Gabriela, Muñoz Moreno. Yersinia, Moreno García. M. Alejandra. Características de la célula nodriza en diferentes modelos experimentales infectados con *Trichinella spiralis*, REDVET, Vol. VIII, N° 1, p.1-10, <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> - <http://www.redvet.es> 2007.

15. Ouchterlony O. Difussion in Gel Methods for Immunological Analysis in: Progress Allergy. Vol. V. Ed. Gallio, P., Basel and New York, Krager, New York. USA. 1 – 78. 1958.

16. Ramírez Valenzuela Manuel. Epidemiología de la Trichinellosis, Ciencia Veterinaria, Vol 3, p. 1-58. 1981.

17. Towbin H. T. Y Sthanlin T. Gordon. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrilamide gels to nitrocelulosa sheets, procedure an some application. Proct. Nathl. Acado Sci. USA 76: 4350. 1979.

CORRESPONDENCIA

Rosa Gabriela Reveles Hernández

Recibido: 05/06/11

Arbitrado: Sistema por pares

Aprobado: 01/07/11