

## Seroepidemiología y control de trichinellosis en cerdos en Sierra Grande, Argentina

Seroepidemiology and control of trichinella in pigs from Sierra Grande, Argentina

Molina, V.<sup>1</sup>; Albarracín, S.<sup>2</sup>; Krivokapich, S.<sup>1</sup>; Chiosso, C.<sup>2</sup>; Mancini, S.<sup>2</sup>; Bigatti, R.<sup>2</sup>;  
Arbusti, P.<sup>1</sup>; Avila, A.<sup>2</sup>; Larrieu, E.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud, Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Ministerio de Salud de la Provincia de Río Negro. Laprida 240 (8500) Viedma, Argentina. TF/Fax: 54 2920 430007. <sup>3</sup>Facultad Ciencias Veterinarias, U.N. de La Pampa. Calle 5 y 116 (6360) General Pico, Argentina

### RESUMEN

La zona de Sierra Grande, en la provincia de Río Negro, Argentina, se ha visto particularmente afectada por la trichinellosis, la cual sigue siendo endémica a nivel local. En el año 2000 fue diseñado un estudio descriptivo para conocer la historia natural de la trichinellosis en la zona. Durante el período 2001-2010 se llevó a cabo un programa de control en cerdos basado en la detección temprana de anticuerpos específicos mediante ensayo inmunoenzimático (ELISA) con confirmación mediante Western blot y el sacrificio de los cerdos positivos. Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar los resultados del programa de control implementado en la reducción de la prevalencia de trichinellosis en cerdos en la localidad de Sierra Grande. Los primeros resultados (2001/02) mostraron que de 179 cerdos estudiados, 36 (20,1%) fueron positivas al sistema diagnóstico (ELISA/WB). En 2007/08 un total de 277 cerdos de 17 criaderos de cerdos fueron estudiados y sólo 4 (1,4%) fueron positivos. En 2009/10 todos los cerdos fueron negativos. No se produjeron casos humanos durante el período de trabajo. El programa de control basado en el sacrificio de cerdos que presentaron anticuerpos específicos anti – *Trichinella* sp. resultó exitoso en limitar la prevalencia de la enfermedad.

Palabras clave: (triquinosis), (trichinellosis), (control), (immunodiagnóstico), (seroepidemiología)

Correspondencia *e-mail*: Edmundo Larrieu [elarrieu@salud.rionegro.gov.ar](mailto:elarrieu@salud.rionegro.gov.ar)

Recibido: 15-11-2011

Aceptado: 23-11-2012

## SUMMARY

The Sierra Grande area, in the province of Río Negro, Argentine, has been particularly affected by trichinellosis, which remains locally endemic. In the year 2000 a descriptive study was designed to recognize the natural history of trichinellosis in the area and over the period 2001 – 2010 a control program was carried out with early detection of infected pigs using serology by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) screening confirmed by Western blot and slaughter and destruction of infected pigs. The aim of this study is to evaluate the results of the control program implemented to reduce the prevalence of trichinellosis in pigs in this area.

First results (2001/02) showed that out of 179 pigs studied, 36 (20.1%) were positive. In 2007/08 a total of 277 pigs from 17 breeding farms were studied and only 4 (1.4%) were positive. In 2009/10 all the pigs were negative. No human cases were found during the working period. The control program based on the slaughter of pigs that were serologically positive was successful to limit the prevalence of the disease.

Key words: (trichinella), (control), (immunodiagnoses), (seroepidemiology).

## INTRODUCCIÓN

La trichinellosis es una zoonosis ampliamente distribuida en todo el mundo, causada por un nematodo, del género *Trichinella* sp, que puede ser encontrada en muchos carnívoros y omnívoros, entre ellos el cerdo. La transmisión se produce por el consumo de carne con larvas, las que se encuentran enquistadas en células musculares del huésped<sup>4,5,7</sup>.

En la República Argentina, la trichinellosis es endémica, notificándose en los años 2009 y 2010, 231 (0.6 x 100000) y 663 (1.6 x 100000) casos al Sistema Nacional de Vigilancia (SINAVE) respectivamente y 26 y 57 focos en cerdos, respectivamente, según registros del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA)<sup>8,12,13</sup>.

El método diagnóstico de elección, aplicado en cerdos faenados en Argentina desde 1996, es la digestión artificial (DA), el cual es aplicado en forma obligatoria para detectar infecciones por *T. spiralis* en carnes porcinas destinadas a consumo (Resolución 740/99 SENASA). Es un método directo que permite el aislamiento, visualización y cuantificación de larvas de *Trichinella* sp. en trozos de músculo<sup>4,7</sup>, pudiendo por ende ser aplicado en forma post mórtem.

La identificación de un cerdo infectado da lugar en forma inmediata a la interdicción y sacrificio de la totalidad de los cerdos del

criadero de origen del animal. Esta estrategia nace en Argentina con el Decreto N° 40.571 de 1947 y se sostiene hasta la fecha en el Programa de Control y Erradicación de la Trichinellosis Porcina en la República Argentina (Resolución 555/06 SENASA).

Sin embargo, cuando se lleva a cabo la faena compulsiva de todos los cerdos de un criadero en que se produjo un foco, el diagnóstico por DA realizado post mórtem en el laboratorio de la planta de faena da resultados negativos para un importante número de cerdos o incluso para todos, en función de la sensibilidad de la técnica y a que muchos de los cerdos no están parasitados, por lo que se genera una pérdida económica importante al productor sin beneficio sanitario alguno. Por ejemplo en Viedma, en 2007, a partir de un cerdo infectado detectado por un veterinario privado, se sacrificaron 101 animales que resultaron todos negativos a trichinellosis por DA.

Las pruebas serológicas por su parte, pueden ser utilizadas en el cerdo vivo. Poseen alta sensibilidad y especificidad<sup>3,6,7,10,11</sup>. Por ende, la detección de IgG anti-*Trichinella* en sueros de cerdos podría ser aplicada en programas de vigilancia epidemiológica para identificar cerdos parasitados en forma ante mórtem y determinar áreas y/o criaderos de riesgo en las que se deberían aplicar medidas de control<sup>4,6,7</sup>.

En la provincia de Río Negro existen antecedentes de la ocurrencia de casos de *Trichinella* sp. en personas y cerdos<sup>2,9</sup>. En el año 2010, fueron notificados 6 focos en cerdos de los cuales 2 se dieron en la ciudad de Bariloche, 2 en Villa Regina y 2 en General Roca.

En la localidad de Sierra Grande (12.000 habitantes), situada en el sureste de la provincia, se han producido varios eventos relacionados con la enfermedad. En 1984 el hallazgo de un alto porcentaje de cerdos infectados resultó en el sacrificio masivo de todos los rebaños existentes<sup>10</sup>. En el año 2000 el hospital local notificó dos nuevos casos en seres humanos, identificándose dos criaderos de cerdos involucrados en el brote. En función de ello se diseñó un estudio descriptivo para conocer la historia natural de la trichinellosis en el área<sup>10</sup>.

En Sierra Grande la producción de porcinos es llevada a cabo por pequeños productores cuyo objetivo principal es el consumo personal de los lechones, el comercio minorista o el trueque por otras mercancías. Instalaciones deficientes, alimentación de los cerdos en base a residuos obtenidos en el basurero municipal y las bajas condiciones económicas y socio-culturales que se encuentran en el área definen a los principales factores de riesgo que contribuyen a la aparición recurrente de infecciones por *Trichinella* sp.

En función de lo expuesto, y a partir del estudio descriptivo efectuado<sup>10</sup>, se diseñó un programa de vigilancia y control para limitar la prevalencia de la enfermedad en animales y disminuir el riesgo de enfermar para el hombre, basado en la identificación de anticuerpos anti – *Trichinella* sp. en cerdos vivos mediante ELISA/WB y su posterior sacrificio, asociado a la intensificación del control de cerdos faenados mediante DA y a la educación sanitaria al productor.

El objetivo del presente trabajo, de tal forma, es evaluar los resultados de las actividades de control implementadas en el período 2000-2010 en la localidad de Sierra Grande, Río Negro, Argentina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área y población de trabajo

El área de trabajo fue la localidad de Sierra Grande ubicada en el sur de la provincia de Río Negro (Argentina) en la estepa patagónica ubicada a -41.6112 (latitud) y -65.3626 (longitud) (Figura 1).

En el año 2000, fueron censados todos los criaderos urbanos, periurbanos y rurales.

Los animales adultos fueron identificados con caravanas numeradas. Anualmente se identificaron de igual manera los cerdos mayores de 6 meses incorporados a los criaderos (nacidos en los criaderos de Sierra Grande o cerdos adquiridos fuera de la localidad).

### Diagnóstico serológico

Para la identificación de anticuerpos anti – *Trichinella* sp. en cerdos vivos se obtuvieron muestras de sangre de la vena caudal, las que fueron enviadas al Departamento de Parasitología del INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” para ser procesadas mediante enzimoimmunoensayo (ELISA) como prueba tamiz, seguida de su confirmación mediante Western blot (WB), según técnicas descriptas. Para el ELISA se usaron antígenos producto excretor-secretor preparados a partir de larvas de *T. spiralis* ISS643 que se habían mantenido en ratones CF1, llevándose a cabo la prueba en microplacas de polivinilo (MaxiSorp™, Nunc, Roskilde, Dinamarca) de fondo plano. Para el WB, se separaron por electroforesis proteínas del antígeno de excreción-secreción utilizando una cuba Miniprotean (Bio-Rad, Hercules, MR) y posteriormente se inmovilizaron sobre una membrana de nitrocelulosa<sup>10</sup>.

### Saneamiento de piaras

Los animales que resultaron positivos al sistema ELISA/WB fueron considerados parasitados y, mediante un acuerdo voluntario firmado con los productores en el momento del censo, fueron sacrificados paulatinamente en función de su estado productivo (por ejemplo padrillos y cerdas gestantes no fueron

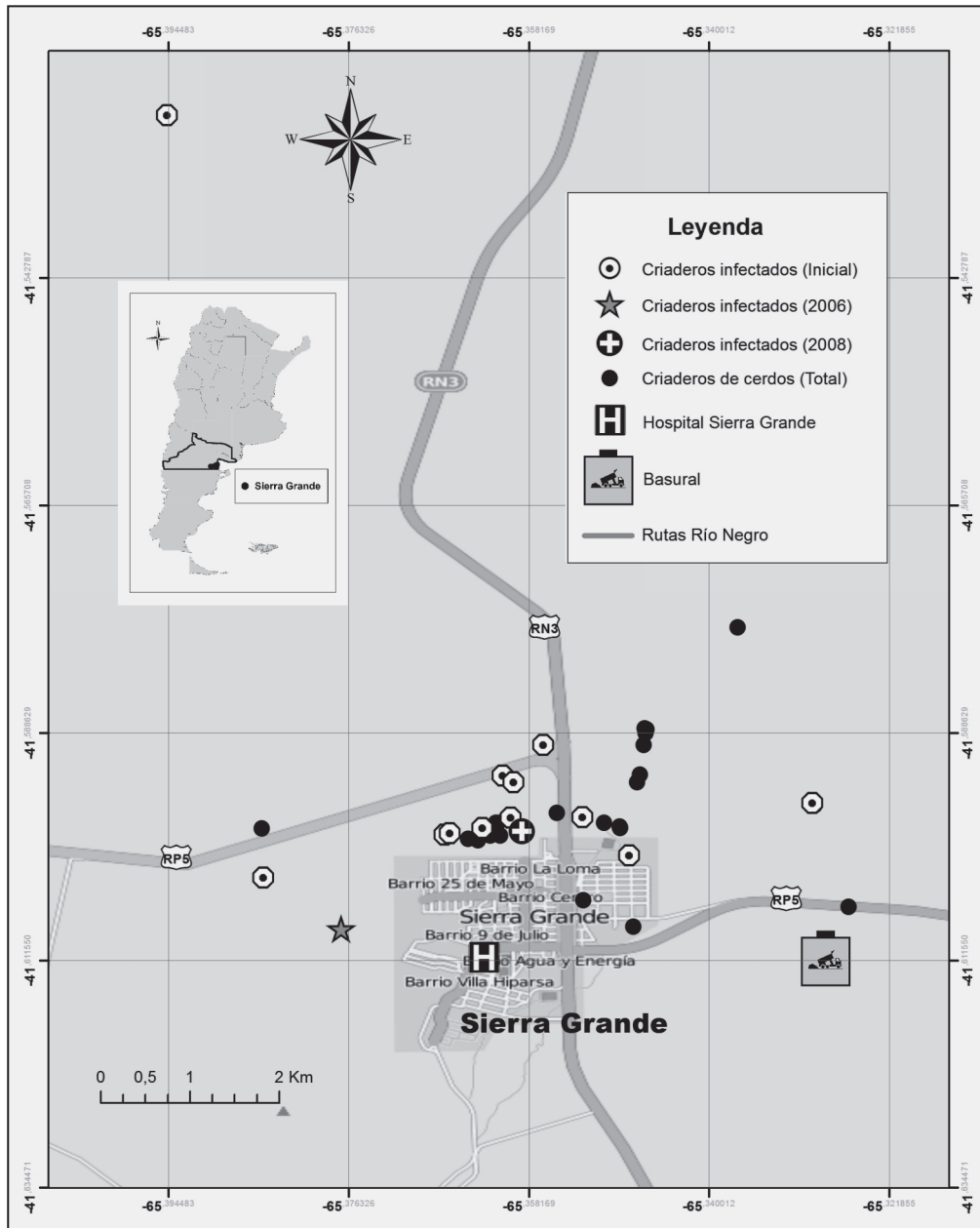


Figura 1. Ubicación espacial de los establecimientos productores de cerdos en Sierra Grande, Argentina, 2000-2010

sacrificados inicialmente). Anualmente se volvieron a controlar padrillos y madres que habían resultado originalmente negativos a las pruebas diagnósticas mediante ELISA/WB, siendo sacrificados en caso de resultar positivos<sup>10</sup>.

Los cerdos portadores de anticuerpos anti-*Trichinella* sp. fueron sacrificados en cada criadero, trasladándose los cadáveres al vertedero municipal para ser incinerados y enterrados, ante

la inexistencia de sala de faena en la localidad.

### Diagnóstico directo

Los lechones y cerdos sacrificados para consumo fueron estudiados mediante la técnica de DA<sup>10</sup>, para lo cual se instrumentó un laboratorio en el Hospital de Sierra Grande, siendo los análisis efectuados por el veterinario asignado a dicho establecimiento por el

Ministerio de Salud de la Provincia de Río Negro. En el caso de los cerdos sacrificados por ser portadores de anticuerpos anti – *Trichinella* sp. los análisis de DA fueron efectuados inicialmente en el laboratorio de Zoonosis del Ministerio de Salud de Río Negro y repetidos en el Departamento de Parasitología INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbran”.

El esquema de trabajo empleado para el manejo de la infección en las poblaciones porcinas se presenta en figura 2. Accesoriamente se efectuaron estudios de DA en animales sacrificados por ser portadores de anticuerpos anti – *Trichinella* sp. para comprobación de la especificidad del sistema.

**Identificación a nivel especie**

Muestras de músculo de cerdos infectados con larvas de *Trichinella* sp. identificados mediante la técnica de DA fueron procesadas en el Departamento de Parasitología INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbran” para la identificación molecular de especie mediante PCR, según técnica descripta<sup>8,10,16</sup>.

**Asesoramiento a productores**

Se mantuvieron visitas periódicas a los criaderos de cerdos de veterinarios pertenecientes al Ministerio de Salud de la Provincia de Río Negro promoviendo medidas de prevención y de mejoramiento de las condiciones sanitarias de los establecimientos.

**RESULTADOS**

Se identificaron inicialmente 32 criaderos con un total de 287 animales, de los cuales 182 (63.4%) eran lechones y 105 (36.6%) eran animales de más de 6 meses de edad (promedio 3.2 madres por criadero).

De los 32 criaderos, 2 (6.2%) se ubicaban en el radio urbano, 26 (81.3%) en la periferia de la ciudad a una distancia de entre 100 y 1000 m del área urbana y 4 (12.5%) en establecimientos ganaderos dedicados a la producción extensiva de lanares o bovinos a una distancia de entre 5 y 20 km del área urbana.

Los resultados iniciales (2001/02) mostraron que de 179 cerdos existentes, 36 (20,1%) presentaron anticuerpos anti – *Trichinella* sp.

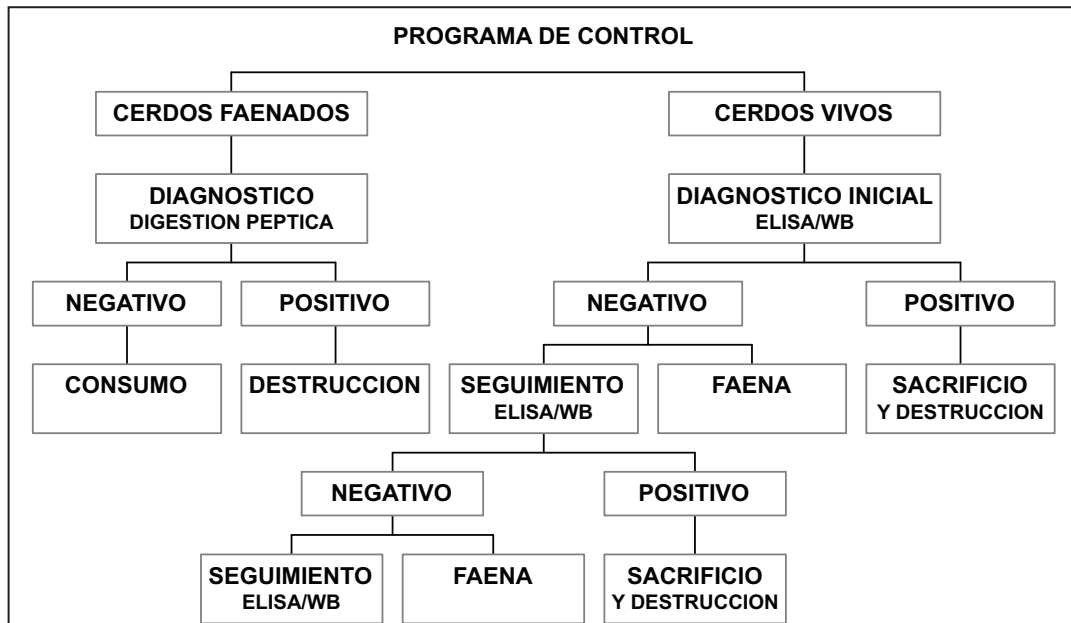


Figura 2: Esquema de actividades para la vigilancia y control de la triquinosis en la localidad de Sierra Grande, Argentina, 2000-2010

distribuidos en 17 (52.1%) de los 32 criaderos existentes, mientras que 5 (1.9%) de los 258 estudios de DA realizados en cerdos sacrificados para consumo dieron positivo. Durante el período 2003/04, 54 cerdos fueron estudiados mediante el sistema ELISA/WB, 13 (24,1%) presentaron anticuerpos anti – *Trichinella* sp. perteneciendo a 2 (16,7%) de los 12 criaderos existentes. De los 86 estudios de DA realizados en cerdos sacrificados para consumo 9 (10,5%) dieron positivo a trichinellosis.

Durante el período 2005/06, 4 (3.5%) de los 114 cerdos estudiados presentaron anticuerpos anti – *Trichinella* sp. perteneciendo a 1 (5.8%) de los 18 criaderos existentes. De los 143 estudios realizados en cerdos sacrificados para consumo, 2 (1,4%) fueron positivos a DA. Para los años 2007/08, 277 cerdos fueron estudiados, 4 (1,4%) presentaron anticuerpos anti – *Trichinella* sp. pertenecientes a 1 (5.9%) de los 17 criaderos existentes. De los 154 estudios realizados en cerdos sacrificados para consumo mediante DA, ninguno de ellos dio positivo.

Finalmente, para el período 2009/10, 155 cerdos vivos fueron estudiados mediante ELISA/WB y 115 cerdos sacrificados para consumo fueron estudiados mediante DA, resultando todos negativos (Tabla 1).

Todos los animales que presentaban anticuerpos anti-*Trichinella* sp (57) fueron sacrificados identificándose en los estudios de tipificación molecular *Trichinella spiralis*. Todos

los cerdos vivos que presentaron anticuerpos anti – *Trichinella* sp. resultaron también positivos a DA con 0.007 - 282 larvas por gramo, con digestión de hasta 125 g. de carne, resultando la especificidad del 100%.

En el año 2010 el total de criaderos se redujo a 15 establecimientos los cuales mostraron mejores condiciones de manejo e instalación.

## DISCUSIÓN

Debido a la importancia de esta zoonosis, los principales esfuerzos en muchos países se han centrado en el control y eliminación del parásito de la cadena alimentaria<sup>2,4</sup>.

En la presente experiencia, la presencia de Organismos del Estado trabajando con continuidad en la generación de conciencia en los tenedores de cerdos sobre la importancia del diagnóstico pre y post mórtem de los animales y sobre la necesidad del mejoramiento paulatino y constante de las condiciones higiénico-sanitarias y de producción para disminuir riesgos de transmisión de enfermedades; en un sistema de producción con criaderos de escaso desarrollo tecnológico ha resultado de gran valor sanitario y social, evitando la ocurrencia de casos humanos y limitando el sacrificio masivo de parras que conlleva a pérdidas económicas al productor.

Las técnicas serológicas implementadas (ELISA, WB) demostraron ser útiles y eficientes para la vigilancia de la trichinellosis en cerdos vivos y acompañadas de los métodos tradicionales

**Tabla 1.** Actividades de vigilancia y control de la trichinellosis en la localidad de Sierra Grande, 2000-2010

	Cerdos vivos estudiados (ELISA/WB) n° + (%)	Cerdos faenados estudiados (DA) n°+(%)	Criaderos evaluados n° + (%)
2001/02	179 36 (20.1)	258 5 (1.9)	32 17 (53.1)
2003/04	54 13 (24.1)	86 9 (10.5)	12 2 (16.7)
2005/06	114 4 (3.5)	143 2 (1.4)	18 1 (5.6)
2007/08	277 4 (1.4)	135 0 (0.0)	17 1 (5.9)
2009/10	155 0 (0.0)	115 0 (0.0)	15 0 (0.0)
Total	779 57 (7.3)	737 16 (2.2)	94 21 (22.3)



de diagnóstico postmórtem permitieron desarrollar un completo y eficaz control de la enfermedad.

El uso de ELISA para el diagnóstico y el seguimiento de la infección en cerdos ha sido ampliamente verificado<sup>3,7,10,11,14,15</sup>, existiendo incluso recomendaciones de la Comisión Internacional de Trichinelosis sobre la necesidad de su adopción<sup>6</sup>.

ELISA tiene como ventaja una mayor sensibilidad frente a los métodos de DA para la detección de la infección por *Trichinella* sp. en animales con bajos niveles de infección. Esta cualidad es particularmente útil para detectar transmisión en criaderos identificando cerdos vivos parasitados<sup>4,14</sup>. Se ha demostrado una sensibilidad del 96.8% para ELISA y 98.1% para WB con una especificidad de 97.9 y 100%<sup>11</sup>.

Por lo tanto, la vigilancia epidemiológica de la trichinelosis en explotaciones porcinas en áreas endémicas se debería basar en la detección de anticuerpos anti - *Trichinella* por medio de ELISA seguida de pruebas de confirmación serológica como WB en cerdos vivos<sup>3,10,11</sup>, promoviendo de tal forma la existencia de criaderos libres de infección y limitando en consecuencia los riesgos para las poblaciones humanas.

La identificación de cerdos vivos infectados mediante la combinación de ELISA/WB podría extenderse a aquellos criaderos en los que se han detectado uno o más cerdos parasitados por medio de DA en laboratorios de las salas de faena o por análisis de veterinarios privados evitando de tal manera el sacrificio masivo de cerdos que no se encuentran infectados.

En caso de foco, el Programa de Control y Erradicación de la Trichinelosis Porcina en la República Argentina establece que “el Veterinario Local procederá por sí en forma inmediata a la interdicción, identificación individual de los porcinos y al comiso de los animales”. La utilización del complejo ELISA/WB en cerdos vivos podría aplicarse en estas situaciones limitando sacrificios de cerdos no parasitados.

Esta nueva estrategia limitaría los daños económicos al productor y estimularía a los dueños de cerdos a efectuar controles sanitarios a sus piaras sin correr el riesgo actual de ver eliminado su capital productivo por una medida sanitaria, sacrificio masivo de cerdos, que no ha logrado limitar el elevado número de brotes y focos de trichinelosis notificados en Argentina en los últimos años (663 casos y 57 focos solo en el año 2010).

Asimismo, y considerando que esta enfermedad es emergente – re-emergente en Argentina, establecer programas de vigilancia basados en criterios de riesgo, según el origen y el tipo de producción porcina, a los efectos de disminuir los costos ligados al diagnóstico masivo, y maximizar beneficios sanitarios debería ser actualmente una necesidad de los servicios sanitarios de salud y de ganadería<sup>1</sup>.

Desde el punto de vista del control, este estudio confirma que es posible complementar el control tradicional de la infección en cerdos mediante la utilización de la técnica de DA en animales faenados, mediante la vigilancia epidemiológica de la infección en cerdos vivos utilizando técnicas serológicas sensibles y específicas tal como ELISA/WB, permitiendo una reducción de la prevalencia de la infección sin recurrir a la matanza masiva de piaras y evitando la ocurrencia de casos en las personas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alban. L.; Pozio. E.; *et al.* Towards a standardised surveillance for *Trichinella* in the European Union. *Prev. Vet. Med.* 2011; 1;99(2-4):148-60.
2. Di Pietro, S.; Haritchabalet, K.; Cantoni, G.; *et al.* Surveillance of foodborne diseases in the province of Rio Negro, Argentina, 1993-2001. *Medicina* (Bs Aires). 2004;64(2):120-4.
3. Frey, C.F.; Schuppers, M.E.; Nöckler, K.; *et al.* Validation of a Western Blot for the detection of anti-*Trichinella* spp. antibodies in domestic pigs. *Parasitol. Res.* 2009;104(6):1269-77.

4. Gajadhar, A.A.; Pozio, E.; Gamble, H.R.; *et al.* *Trichinella* diagnostics and control: mandatory and best practices for ensuring food safety. *Vet. Parasitol.* 2009; 23:197-205
5. Gamble, H.R. Biology and epidemiology of *Trichinella*. *In. Vet.* 2000; 2:75-76
6. Gamble, H.R.; Pozio, E.; Bruschi, F.; Nöckler, K.; Kapel, C.M.; Gajadhar, A.A. International Commission on Trichinellosis: recommendations on the use of serological tests for the detection of *Trichinella* infection in animals and man. *Parasite.* 2004;11(1):3-13.
7. Gottstein, B.; Pozio, E.; Nöckler, K. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2009; 22:127-45
8. Krivokapich, S.J.; Molina, V.; Bergagna, H.F.; Guarnera, E.A. Epidemiological survey of *Trichinella* infection in domestic, synanthropic and sylvatic animals from Argentina. *J. Helminthol.* 2006; 80:267-9.
9. Larrieu, E. Evolución de la triquinosis en la Provincia de Río Negro. *Gac Vet (Bs As)* 1981; 364:780-787
10. Larrieu, E.; Molina, V.; Albarracín, S.; *et al.* Porcine and rodent infection with *Trichinella* in the Sierra Grande area, Province of Río Negro. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2004; 98:728-735
11. Nockler, K.; Reckinger, S.; Broglia, A.; Mayer-Scholl, A.; Bahn, P. Evaluation of a Western Blot and ELISA for the detection of anti-*Trichinella*-IgG in pig sera. *Vet. Parasitol.* 2009;163:341-7
12. Ribicich, M.; Gamble, H.R.; Bolpe, J.; *et al.* Evaluation of the risk of transmission of *Trichinella* in pork production systems in Argentina. *Vet. Parasitol.* 2009;159(3-4):350-3.
13. Sequeiro, A.; Molina, V.; Monfellano, M.; Bolpe, J.; Guarnera, E. Genetic diversity among isolates of *Trichinella spiralis* from the Province of Buenos Aires, Argentina. *J. Helminthol.* 2000; 3:277-282
14. Teunis, P.F.; Fonville, M.T.; Döpfer, D.D.; *et al.* Usefulness of sero-surveillance for *Trichinella* infections in animal populations. *Vet. Parasitol.* 2009; 159:345-9
15. Venturiello, S.M.; Nuñez, G.G.; Calcagno, M.A.; Costantino, S.N. Evaluation of three immunoserological techniques in the detection of porcine trichinellosis. *Vet Parasitol.* 2009;159(3-4):364-7.
16. Zarlenga, D. S.; Chute, M. B.; Martin, A.; Kapel, C. M. A multiplex PCR for unequivocal differentiation of all encapsulated and non-encapsulated genotypes of *Trichinella*. *Int. J. Parasitol.* 1999; 29:1859-1867