

EVALUACION DE ANTIGENOS DE SUPERFICIE PURIFICADOS DE LA LARVA MUSCULAR DE Trichinella spiralis PARA EL DIAGNOSTICO DE LA TRIQUINOSIS EN CERDOS.

ARRIAGA, C.,⁽²⁾ MUÑIZ, E.,⁽²⁾ GALLEGO, C.,⁽²⁾ De MIGUEL, N.,⁽²⁾ SANCHEZ, M.,⁽²⁾
MORILLA, A.,⁽²⁾ Y ORTEGA, G.⁽¹⁾

(1) DEPARTAMENTO DE GENETICA Y BIOLOGIA MOLECULAR-CINVESTAV-IPN.

(2) PROYECTO DE INMUNOLOGIA EXPERIMENTAL DEL CERDO-CENID-MICROBIOLOGIA-INIFAP.

En los últimos años se han reportado varios brotes de triquinosis humana en diversas regiones del país. Puesto que la principal forma de infección para el humano es el consumo de carne de cerdo infectada con T. spiralis es necesario contar con métodos de diagnóstico adecuados que permitan detectar la presencia del parásito en los cerdos.

El objetivo de este trabajo fue determinar por la prueba de inmunoelectrottransferencia cuáles son los antígenos de la larva muscular de T. spiralis principalmente reconocidos por los sueros de cerdos infectados experimentalmente con el parásito y evaluar la utilización de estos antígenos purificados en pruebas de ELISA para el diagnóstico de la triquinosis en cerdos de traspatio.

Para ello, 8 cerdos de aproximadamente 2 meses de edad, desparasitados y libres de anticuerpos contra T. spiralis se infectaron oralmente con 10,000 larvas de T. spiralis. Otros 8 cerdos no infectados se usaron como testigos. Se tomaron muestras de sangre semanalmente durante 10 semanas y al término del experimento los animales se sacrificaron y se confirmó la presencia de larvas en diafragma y músculo. Se tomaron también muestras de heces y de suero de 295 cerdos de traspatio provenientes de Paracho, Mich., Paso de Ovejas, Ver. y Toluca, Edo. de México.

Los sueros se utilizaron en pruebas de ELISA e inmunoelectrottransferencia según las técnicas descritas por Arriaga et al. (2). Para las pruebas de ELISA se utilizaron tres distintos antígenos: un antígeno crudo,

un antígeno purificado por cromatografía de afinidad utilizando el anticuerpo monoclonal NIM-M 1 y un antígeno de excreciones y secreciones, amablemente proporcionado por el Dr. R.H. Gamble del USDA, Beltsville. Se utilizaron diluciones 1:50 de los sueros de cerdos infectados experimentalmente, de los testigos y de los cerdos de traspatio. Se consideraron positivos los sueros que mostraban valores de densidad óptica mayores que la media de los testigos más 3 veces la desviación estándar. Para las pruebas de inmunotransferencia los antígenos de T. spiralis se separaron en geles de SDS-poliacrilamida al 10 % y se transfirieron electroforéticamente a papel de nitrocelulosa. Las tiras de nitrocelulosa se incubaron con diluciones 1:50 de los sueros y las reacciones se detectaron por adición de conjugado de peroxidasa-Ig de conejo anti IgG de cerdo.

Los resultados de la inmunotransferencia mostraron que 5 componentes son principalmente reconocidos por los cerdos infectados experimentalmente. Cuatro de ellos tienen el mismo peso molecular (72, 67, 52 y 47 Kd) que los componentes reconocidos por el anticuerpo monoclonal NIM-M1 (3).

Los testigos no reconocieron ningún componente. Un patrón semejante de reconocimiento se obtuvo también con el antígeno de excreciones y secreciones.

Los cuatro componentes reconocidos tanto por los cerdos como por el monoclonal fueron purificados por cromatografía de afinidad y evaluados en prueba de ELISA junto con el antígeno crudo y el antígeno de excreciones y secreciones.

La respuesta fue semejante con los tres antígenos utilizando sueros de cerdos infectados experimentalmente, detectándose anticuerpos circulantes a partir de los 15 días postinfección. Cuando se utilizaron estos antígenos en ensayos de ELISA con los sueros de cerdos de traspatio se observó un gran número de cerdos positivos al usar el antígeno crudo (52 % en Toluca, 70 % en Paso de Ovejas y 3 % en Paracho). Un número mucho menor de sueros con anticuerpos contra T. spiralis se encontró al utilizar el antígeno purificado (24 % en Toluca, 14 % en Paso de Ovejas, 1 % en Paracho) o con el antígeno de excreciones y secreciones (22 % en Toluca, 8 % en Paso de Ovejas, 1 % en Paracho). El alto número de cerdos aparentemente positi-

vos con el antígeno crudo puede ser debido a reacciones cruzadas con otros parásitos ya que los exámenes coproparasitológicos mostraron que los cerdos de traspatio estaban muy parasitados encontrándose principalmente Eimeria ssp. y Metastrongylus en Toluca, Hyostrongylus y Ascaris en Paso de Ovejas y Trichuris y Ascaris en Paracho. Sueros de cerdos infectados experimentalmente con Trichuris o Ascaris empleados como controles en la prueba de ELISA mostraron también valores altos de densidad óptica al usar el antígeno crudo pero valores bajos con el antígeno purificado o el de excreciones y secreciones.

Cuando los sueros de cerdos que mostraron reacción en el ensayo de ELISA con el antígeno purificado se utilizaron en pruebas de inmunoelectrotransferencia se obtuvo un patrón semejante al de los cerdos infectados experimentalmente.

Se concluyó que los cuatro antígenos purificados por el anticuerpo monoclonal NIM-M1, son los antígenos principalmente reconocidos por los cerdos infectados con T. spiralis y que la utilización de estos antígenos en pruebas de ELISA aumenta la especificidad del ensayo.

Referencias

- Martínez Marañón, R., 1985, ¿Está aumentando la triquinosis en México? ¿podría ser esto una consecuencia inesperada de nuestro desarrollo?. Salud Pública de México 21: 40, 41
- C. Arriaga, E. Muñiz, A. Morilla y G. Ortega Pierres, 1989, Trichinella spiralis: recognition of muscle larva antigens during experimental infection of swine and its potential use in diagnosis. Experimental Parasitology (en prensa).
- Ortega Pierres, G., Chayen, A., Clark, N.W.T., and Parkhouse, R.M.E., 1984, The occurrence of antibodies to hidden and exposed determinants of surface antigens of Trichinella spiralis. Parasitology 88: 359-365