UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, PRODUCCIÓN ANIMAL Y CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LA RESPUESTA ORGÁNICA DE LA CABRA (CAPRA HIRCUS) EN INFESTACIONES POR TRICHINELLA SPIRALIS

MARÍA DEL CARMEN MUÑOZ OJEDA

Las Palmas de Gran Canaria, Octubre de 1993

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

13-1993/94

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
UNIDAD DE TERCER CICLO Y POSTGRADO

Reunido el día de la fecha, el Tribunal nombrado por el Excmo. Sr. Rector Magfco. de esta Universidad, la aspirante expuso esta TESIS DOCTORAL.

Terminada la lectura y contestadas por la Doctoranda las objeciones formuladas por los señores jueces del Tribunal, éste calificó dicho trabajo con la nota de apto cum laude por unanimidad

Las Palmas de G. C., a 30 de Noviembre de 1993.

El Presidente: Dr. D. Manuel Rodríguez Sánchez,

El Secretario: Dr. D. Anselmo Gracia Molina,

El Vocal: Dr. D. Antonio Fernández Rodríguez,

El Vocal: Dr. D. José-Alberto Montoya Alonso,

El Vocal: Dr. D. Santiago Hernández Rodríguez,

La Doctoranda: Dª Mª Carmen Muñoz Ojeda,

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
NEGOCIADO UNIDAD DE TERCER CICLO Y POSTGRADO

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
BIBLIOTECA GENERAL

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
LAS PALMAS DE G. CANARIA
N.º Documento 339.742
N.º Copia 339.766

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

FACULTAD DE VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA ANIMAL, PRODUCCION ANIMAL,
BROMATOLOGIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

"ESTUDIO DE LA RESPUESTA ORGANICA DE LA CABRA (*Capra hircus*) EN INFESTACIONES POR *Trichinella spiralis*".

Las Palmas, 1993

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

DOCTORADO EN VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA ANIMAL, PRODUCCION ANIMAL, BROMATOLOGIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

ESTUDIO DE LA RESPUESTA ORGANICA DE LA CABRA (*Capra hircus*) EN INFESTACIONES POR *Trichinella spiralis*.

Los Directores

Fdo: Dres. I.Navarrete y D.Reina

El Doctorando

Fdo: Mª del Carmen Muñoz Ojeda

Las Palmas de Gran Canaria, a 4 de Octubre de 1993

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

IGNACIO NAVARRETE LOPEZ-COZAR, CATEDRATICO Y DAVID REINA ESOJO, PROFESOR TITULAR, AMBOS DE PARASITOLOGIA Y ENFERMEDADES PARASITARIAS, AREA DE PARASITOLOGIA Y DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y SANIDAD ANIMAL DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA Y DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL TITULADA "ESTUDIO DE LA RESPUESTA ORGANICA DE LA CABRA (*Capra hircus*), EN INFESTACIONES POR *Trichinella spiralis*", DE LA QUE ES AUTORA LA LICENCIADA EN VETERINARIA DOÑA MARIA DEL CARMEN MUÑOZ OJEDA,

INFORMAN

que dicha Memoria ha sido realizada por la mencionada Licenciada, bajo nuestra dirección y que cumple las condiciones exigidas por la legislación y normativas vigentes para optar al Título de Doctora en Veterinaria.

Las Palmas, a cuatro de octubre de mil novecientos noventa y tres.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

A mi familia

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

AGRADECIMIENTOS

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

AGRADECIMIENTOS

Una vez finalizado el presente trabajo, quiero agradecer de forma especial a las siguientes personas y entidades, sin cuyas aportaciones no hubiera sido posible la realización de este estudio.

A mis Directores, D. Ignacio Navarrete López-Cózar y D. David Reina Esojo, por su incondicional ayuda, dedicación y constante estímulo.

Al profesor D. Carlos Gutiérrez Cabrera, por su inestimable colaboración durante el desarrollo de la fase experimental.

A los miembros de la Unidad Docente de Histología y Anatamía Patológica de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC, por su excelente disposición y ayuda en los aspectos fundamentalmente anatomopatológicos.

A D. Eloy Redondo, profesor Titular de Histología y Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de Extremadura, por su gran aportación al estudio histopatológico.

A la delegación de Boehringer Manheim en Las Palmas, y en especial a D. Julián Hernández Gil, por su gran ayuda técnica.

A la Fundación Universitaria de Las Palmas, por contribuir con una ayuda económica para la realización de esta investigación.

A D. Fernando Real Valcárcel, por su orientación y ayuda como tutor durante el programa de doctorado.

A D. Ricardo Martel, por su inestimable ayuda en la tramitación de esta Tesis.

A todas aquellas personas que de alguna forma han hecho posible la culminación de esta Tesis.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

INDICE

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

INDICE

Páginas

1.- INTRODUCCION 1

2.- REVISION BIBLIOGRAFICA 3
2.1.- INTRODUCCION 3
2.2.- CICLO BIOLOGICO 6
2.3.- ESTUDIO CLINICO Y BIOPATOLOGICO 11
2.3.1.- SINTOMAS 11
2.3.1.1.- FASE GASTROINTESTINAL 11
2.3.1.2.- FASE MUSCULAR 15
2.3.2.- PARAMETROS HEMATICOS 24
2.3.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS 24
2.3.2.2.- VALOR HEMATOCRITO 25
2.3.2.3.- HEMOGLOBINA 25
2.3.2.4.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS 25
2.3.2.5.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS 26
2.3.3.- BIOQUIMICA SERICA 31
2.3.3.1.- PROTEINAS TOTALES 31
2.3.3.2.- FRACCIONES PROTEICAS 33
2.3.3.3.- GLUCOSA 35
2.3.3.4.- UREA 37
2.3.3.5.- LACTATO DESHIDROGENASA (LDH) 37
2.3.3.6.- CREATINQUINASA (CK) 38
2.3.3.7.- ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST) 40
2.3.3.8.- ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT) 41
2.3.3.9.- FOSFATASA ALCALINA 42
2.3.3.10.- POTASIO 42
2.3.3.11.- HIERRO 43
2.3.3.12.- OTROS PARAMETROS BIOQUIMICOS 43
2.3.4.- ANALITICA EN ORINA 45
2.4.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO 46
2.4.1.- APARATO DIGESTIVO 46
2.4.1.1.- ESTOMAGO 46
2.4.1.2.- INTESTINO DELGADO 46
2.4.1.3.- INTESTINO GRUESO 53
2.4.2.- TEJIDO MUSCULAR ESQUELETICO 53
2.4.3.- OTROS TEJIDOS 57
2.4.3.1.- MUSCULATURA CARDIACA 58

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.4.3.2.- HIGADO 59
2.4.3.3.- RIÑON 60
2.4.3.4.- BAZO Y GANGLIOS LINFATICOS 61
2.4.3.5.- PULMON 62
2.4.3.6.- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL 63
2.5.- ESTUDIO INMUNOLOGICO. METODO ELISA 65

3.- MATERIAL Y METODOS 73
3.1.- HOSPEDADORES. ANIMALES DE EXPERIMENTACION 73
3.2.- ALOJAMIENTO 73
3.3.- ALIMENTACION 73
3.4.- PARASITOS 74
3.5.- DOSIS INFESTANTE 74
3.6.- MEDIOS INSTRUMENTALES 75
3.6.1.- MICROSCOPIA OPTICA 75
3.6.2.- HISTOLOGICOS 75
3.6.3.- ANALISIS Y OTROS MEDIOS DE LABORATORIO . . . 76
3.7.- DISEÑO EXPERIMENTAL 76
3.7.1.- INFESTACION 78
3.7.2.- DESARROLLO DE LA EXPERIENCIA 78
3.8.- METODOS PARASITOLOGICOS 78
3.8.1.- ANALISIS COPROLOGICOS 80
3.8.2.- TRIQUINOSCOPIA 80
3.8.3.- DIGESTION ARTIFICIAL 80
3.9.- METODOS CLINICOS Y BIOPATOLOGICOS 81
3.9.1.- PARAMETROS CLINICOS 81
3.9.2.- DETERMINACIONES HEMATICAS Y BIOQUIMICA SERICA 81
3.9.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS 82
3.9.2.2.- VALOR HEMATOCRITO 82
3.9.2.3.- HEMOGLOBINA 82
3.9.2.4.- INDICES HEMATIMETRICOS DE WINTROBE 83
3.9.2.5.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS 83
3.9.2.6.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS 84
3.9.2.7.- PROTEINAS TOTALES 84
3.9.2.8.- FRACCIONES PROTEICAS 85
3.9.2.9.- GLUCOSA 85
3.9.2.10.- UREA 87
3.9.2.11.- LDH 87
3.9.2.12.- CK 88
3.9.2.13.- AST 88
3.9.2.14.- ALT 89
3.9.2.15.- FOSFATASA ALCALINA 90
3.9.2.16.- BILIRRUBINA 90
91

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

INDICE

Páginas

1.- INTRODUCCION 1

2.- REVISION BIBLIOGRAFICA 3
2.1.- INTRODUCCION 3
2.2.- CICLO BIOLOGICO 6
2.3.- ESTUDIO CLINICO Y BIOPATOLOGICO 11
2.3.1.- SINTOMAS 11
2.3.1.1.- FASE GASTROINTESTINAL 11
2.3.1.2.- FASE MUSCULAR 15
2.3.2.- PARAMETROS HEMATICOS 24
2.3.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS 24
2.3.2.2.- VALOR HEMATOCRITO 25
2.3.2.3.- HEMOGLOBINA 25
2.3.2.4.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS 25
2.3.2.5.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS 26
2.3.3.- BIOQUIMICA SERICA 31
2.3.3.1.- PROTEINAS TOTALES 31
2.3.3.2.- FRACCIONES PROTEICAS 33
2.3.3.3.- GLUCOSA 35
2.3.3.4.- UREA 37
2.3.3.5.- LACTATO DESHIDROGENASA (LDH) 37
2.3.3.6.- CREATINQUINASA (CK) 38
2.3.3.7.- ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST) 40
2.3.3.8.- ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT) 41
2.3.3.9.- FOSFATASA ALCALINA 42
2.3.3.10.- POTASIO 42
2.3.3.11.- HIERRO 43
2.3.3.12.- OTROS PARAMETROS BIOQUIMICOS 43
2.3.4.- ANALITICA EN ORINA 45
2.4.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO 46
2.4.1.- APARATO DIGESTIVO 46
2.4.1.1.- ESTOMAGO 46
2.4.1.2.- INTESTINO DELGADO 46
2.4.1.3.- INTESTINO GRUESO 53
2.4.2.- TEJIDO MUSCULAR ESQUELETICO 53
2.4.3.- OTROS TEJIDOS 57
2.4.3.1.- MUSCULATURA CARDIACA 58

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.4.3.2.- HIGADO 59
2.4.3.3.- RIÑON 60
2.4.3.4.- BAZO Y GANGLIOS LINFATICOS 61
2.4.3.5.- PULMON 62
2.4.3.6.- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL 63
2.5.- ESTUDIO INMUNOLOGICO. METODO ELISA 65

3.- MATERIAL Y METODOS 73
3.1.- HOSPEDADORES. ANIMALES DE EXPERIMENTACION 73
3.2.- ALOJAMIENTO 73
3.3.- ALIMENTACION 74
3.4.- PARASITOS 74
3.5.- DOSIS INFESTANTE 75
3.6.- MEDIOS INSTRUMENTALES 75
3.6.1.- MICROSCOPIA OPTICA 75
3.6.2.- HISTOLOGICOS 76
3.6.3.- ANALISIS Y OTROS MEDIOS DE LABORATORIO . . . 76
3.7.- DISEÑO EXPERIMENTAL 78
3.7.1.- INFESTACION 78
3.7.2.- DESARROLLO DE LA EXPERIENCIA 78
3.8.- METODOS PARASITOLOGICOS 80
3.8.1.- ANALISIS COPROLOGICOS 80
3.8.2.- TRIQUINOSCOPIA 80
3.8.3.- DIGESTION ARTIFICIAL 81
3.9.- METODOS CLINICOS Y BIOPATOLOGICOS 81
3.9.1.- PARAMETROS CLINICOS 81
3.9.2.- DETERMINACIONES HEMATICAS Y BIOQUIMICA SERICA 82
3.9.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS 82
3.9.2.2.- VALOR HEMATOCRITO 82
3.9.2.3.- HEMOGLOBINA 83
3.9.2.4.- INDICES HEMATIMETRICOS DE WINTROBE 83
3.9.2.5.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS 84
3.9.2.6.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS 84
3.9.2.7.- PROTEINAS TOTALES 85
3.9.2.8.- FRACCIONES PROTEICAS 85
3.9.2.9.- GLUCOSA 87
3.9.2.10.- UREA 87
3.9.2.11.- LDH 88
3.9.2.12.- CK 88
3.9.2.13.- AST 89
3.9.2.14.- ALT 90
3.9.2.15.- FOSFATASA ALCALINA 90
3.9.2.16.- BILIRRUBINA 91

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.9.2.17.- CREATININA 91
3.9.2.18.- γ-GT 92
3.9.2.19.- CALCIO 92
3.9.2.20.- FOSFORO 93
3.9.2.21.- HIERRO 93
3.9.2.22.- SODIO, POTASIO Y CLORO 94
3.9.2.23.- MAGNESIO 94
3.9.3.- DETERMINACIONES EN ORINA 95
3.10.- METODOS HISTOPATOLOGICOS 96
3.10.1.- NECROPSIA 96
3.10.2.- TOMA DE MUESTRAS 96
3.10.3.- METODOS PARA MICROSCOPIA OPTICA 96
3.11.- ESTUDIO INMUNOLOGICO 97
3.11.1.- RECOGIDA DE MUESTRAS 97
3.11.2.- TECNICA ELISA. REACTIVOS 97
3.11.3.- METODOLOGIA 100
3.11.4.- ESTANDARIZACION DE LA TECNICA 102

4.- RESULTADOS 105
4.1.- SINTOMAS 105
4.2.- PARAMETROS HEMATICOS 110
4.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS 110
4.2.2.- VALOR HEMATOCRITO 112
4.2.3.- HEMOGLOBINA 114
4.2.4.- INDICES HEMATIMETRICOS DE WINTOBE 116
4.2.5.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS 116
4.2.6.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS 118
4.3.- BIOQUIMICA SERICA 120
4.3.1.- PROTEINAS TOTALES 120
4.3.2.- FRACCIONES PROTEICAS 121
4.3.3.- GLUCOSA 124
4.3.4.- UREA 124
4.3.5.- LDH 126
4.3.6.- CK 127
4.3.7.- AST 128
4.3.8.- ALT 128
4.3.9.- FOSFATASA ALCALINA 129
4.3.10.- POTASIO 131
4.3.11.- HIERRO 132
4.3.12.- OTROS PARAMETROS BIOQUIMICOS 133
4.3.12.1.- SODIO 133
4.3.12.2.- CLORO 134
4.3.12.3.- MAGNESIO 134
4.3.12.4.- CALCIO 134

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.3.12.5.- FOSFORO 134
4.3.12.6.- γ-GT 135
4.3.12.7.- CREATININA 135
4.3.12.8.- BILIRRUBINA 135
4.4.- ANALITICA EN ORINA 136
4.5.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO 137
4.5.1.- APARATO DIGESTIVO 137
4.5.2.- TEJIDO MUSCULAR ESQUELETICO 141
4.5.3.- MUSCULATURA CARDIACA 147
4.5.4.- HIGADO 147
4.5.5.- RIÑON 153
4.5.6.- BAZO Y GANGLIOS LINFATICOS 157
4.5.7.- PULMON 163
4.5.8.- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL 163
4.6.- ESTUDIO INMUNOLOGICO 171
4.6.1.- ESTANDARIZACION DE LA TECNICA ELISA 171
4.6.1.1.- CONCENTRACION ANTIGENICA 171
4.6.1.2.- CONCENTRACION SERICA 176
4.6.1.3.- CONCENTRACION DE INMUNOCONJUGADO 176
4.6.1.4.- TIEMPO DE REACCION DEL SUSTRATO 176
4.6.1.5.- RESULTADOS OPTIMOS DE LA HOMOLOGACION DE ELISA 177
4.6.2.- EVOLUCION DE LOS NIVELES SERICOS DE ANTICUERPOS 185
4.7.- ESTUDIO DEL GRADO DE INFESTACION MUSCULAR 189

5.- DISCUSION 193
5.1.- SINTOMAS 193
5.2.- PARAMETROS HEMATICOS 197
5.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS 197
5.2.2.- VALOR HEMATOCRITO 197
5.2.3.- HEMOGLOBINA 198
5.2.4.- INDICES HEMATIMETRICOS DE WINTROBE 198
5.2.5.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS 198
5.2.6.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS 199
5.3.- BIOQUIMICA SERICA 201
5.3.1.- PROTEINAS TOTALES 201
5.3.2.- FRACCIONES PROTEICAS 201
5.3.3.- GLUCOSA 203
5.3.4.- UREA 204
5.3.5.- LDH 204
5.3.6.- CK 205
5.3.7.- AST 206
5.3.8.- ALT 206

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

5.3.9.- FOSFATASA ALCALINA 207
5.3.10.- POTASIO 208
5.3.11.- HIERRO 208
5.3.12.- OTROS PARAMETROS BIOQUIMICOS 209
5.4.- ANALITICA EN ORINA 209
5.5.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO 210
5.5.1.- APARATO DIGESTIVO 210
5.5.2.- TEJIDO MUSCULAR ESQUELETICO 212
5.5.3.- MUSCULATURA CARDIACA 213
5.5.4.- HIGADO 214
5.5.5.- RIÑON 215
5.5.6.- BAZO Y GANGLIOS LINFATICOS 215
5.5.7.- PULMON 216
5.5.8.- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL 216
5.6.- ESTUDIO INMUNOLOGICO 217
5.6.1.- ESTANDARIZACION DE LA TECNICA ELISA 217
5.6.2.- EVOLUCION DE LOS NIVELES SERICOS DE ANTICUERPOS 218
5.7.- ESTUDIO DEL GRADO DE INFESTACION MUSCULAR 218

RESUMEN 221

SUMMARY 223

CONCLUSIONES 225

BIBLIOGRAFIA 227

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

INTRODUCCION

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

1.- INTRODUCCION

"Es difícil imaginar que un solo organismo sustente a tantos millones de criaturas, por diminutas que sean, sin algún efecto visible", escribió **JAMES PAGET**, en **1835**, al observar por primera vez las formas larvarias enquistadas en los músculos de un hombre, describiéndolos como "animalículos singulares". Conocidos posteriormente como *Trichinella spiralis*, nematodos que en fase adulta viven en el intestino de algunos mamíferos y, en la larvaria, se localizan en el tejido muscular del mismo hospedador.

Causan una de las nematodosis zoonósicas de mayor interés y desgraciadamente de constante actualidad.

Organizaciones sanitarias y científicas de todo el mundo preconizan y efectúan estudios sobre esta zoonosis y su agente causal, ocupando la mayor parte de sus publicaciones los trabajos dedicados al conocimiento sobre etiología, epidemiología, diagnóstico y tratamiento. Se puede comprobar, tras una revisión actual de la bibliografía, que han permanecido relegados aquellos trabajos cuyo tema base de investigación es la patología y las alteraciones que el parásito con sus mecanismos de acción ocasiona sobre el organismo hospedador.

En nuestro trabajo de investigación, realizado como proyecto de Tesis Doctoral, abordamos el estudio clínico, biopatológico, histopatológico, inmunológico y parasitológico a lo largo de la evolución de la enfermedad provocada experimentalmente en cabras, aportando nuestros datos al conocimiento de una patología con un cortejo sintomático prácticamente desconocido.

La elección de la cabra como animal de experimentación se realizó atendiendo a varias razones fundamentales. En primer lugar, se trata de un animal básico en la cabaña ganadera de la Comunidad Autónoma Canaria. En segundo lugar, creemos muy interesante el aporte de datos clínicos que se pueden obtener en esta especie en la que se sospecha un cierto grado de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

inmunidad y su utilización, como patología comparada por extensión a otros rumiantes. En tercer lugar por la importancia que los herbívoros han tenido durante los últimos años como transmisores de *T.spiralis* a la especie humana. Por último resulta una especie que aunque en condiciones experimentales no resulta fácil de mantener, si lo es de obtener y sobre la que gravitan distintos proyectos de investigación de nuestro Departamento.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

REVISION BIBLIOGRAFICA

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.- REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1.- INTRODUCCION

El estudio de las infestaciones por *Trichinella spiralis* ha sido uno de los mayores centros de atención de investigadores, médicos, veterinarios, y biológos durante más de un siglo. Sin embargo, el interés por continuarlo, aún hoy día no ha quedado obsoleto, ni tan siquiera ha disminuido.

NORMAN STOLL (1947), definió ya la investigación en *Trichinella* y Trichinellosis como de "actualidad y fertilidad permanentes".

LARSH, 1968, apuntaba como período excitante y atractivo el futuro de la investigación en Trichinellosis. De hecho, esta enfermedad ha tenido y tiene una amplia difusión en todas las sociedades, independientemente del nivel cultural de las personas que las integran.

Los orígenes de esta enfermedad en el hombre no se conocen, pero es seguro que la ha padecido durante milenios, siendo el primer caso conocido de trichinellosis humana el de un joven egipcio que vivió en el 1.200 a.C., diagnosticado en el año 1947 **(CAMPBELL, 1983)**.

Las primeras observaciones de quistes de *Trichinella*, es posible que correspondan a unas concreciones pétreas blanquecinas en la musculatura de un cadáver, observadas por **TIEDMANN** en **1821**, aunque las medidas de éstas no encajan con las del parásito. En **1828 PEACOCK** prepara en el Guy's Hospital un músculo humano como ejemplar de museo por su extraño moteado, cuya naturaleza no logra esclarecer y que 30 años después se identifican como larvas enquistadas de *Trichinella* **(GILBERT *et al.*, 1920; GOULD, 1952)**. En **1833 HILTON**, en el mismo hospital, vuelve a encontrar sobre musculatura humana un granulado que examinó al microscopio sin distinguir estructuras internas, posiblemente como consecuencia de la calcificación de los quistes. No obstante, fue atribuida por él una naturaleza parasitaria, en la creencia de que se trataba de un diminuto cisticerco.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

La primera descripción detallada del parásito fue la de **OWEN** en **1835**, que en aislados de musculatura humana disecados por **PAGET**, alumno de medicina, lo identifica como un nematodo y lo denomina *Trichina spiralis*.

Sin embargo, no es hasta **1860** cuando **ZENKER** reconoce la enfermedad en una paciente diagnosticada de fiebres tifoideas al presentar síntomas de fatiga, desvanecimiento, fiebre, grandes dolores musculares y muerte tras 33 días de enfermedad. Descubriendo al realizar estudios sobre el tejido muscular la presencia de numerosas larvas, la mayoría sin encapsular y muy móviles, por lo que deduce que fueron la causa de la enfermedad y muerte (**ZENKER, 1860**; **NEGME, 1960**).

A partir de este momento se reproducen con frecuencia las denuncias de esta enfermedad humana, siendo de interés resaltar el brote epidémico ocurrido en Alemania en **1865** en el que murieron 101 de los 337 enfermos afectados de trichinellosis (**RUPPECHT, 1865**).

En España es diagnosticada por primera vez en **1860** (**BUSTO, 1862**), pero es el brote epidémico de Villar del Arzobispo, en **1877**, el que despierta un mayor interés. A este le siguen otros en Lora de Estepa, Sevilla, Barcelona, Murcia, Caspe, Burgos, Córdoba y Navarra. Todos estos brotes tuvieron en común la presencia de una gran morbilidad y mortalidad. Así, en **1900** en Murcia, mueren 11 personas de los 227 afectados y en **1913** en Fuenteovejuna (Córdoba), mueren 33 personas de 139 enfermos (**JERONIMO, 1986**).

Simultáneamente a estos descubrimientos, el estudio de la biología del parásito interesó a distintos autores con el fin de conocer su naturaleza, transmisión y forma de vida. Así en **1840**, **DUJARDIN** y **VAN SIEBOLD** describieron las larvas encontradas en el interior del quiste y las reconocieron como elementos parasitarios no maduros (**REINHARD, 1958**). **LEUCKART** en **1860** describe "otras formas larvarias" en el intestino de un hospedador infestado, no llegando a reconocerlas como adultos maduros.

Es en el año **1859** cuando **WIRCHOW** reconoce a las formas

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

encotradas en intestino como adultos, siendo este mismo científico quien en el año **1860** encuentra larvas itinerantes en gánglios linfáticos mesentéricos y cavidades serosas.

De alguna manera, estos autores no daban crédito o bien, desconocían las manifestaciones de **LEIDY** que en el año **1846** observando los quistes en tejido muscular de cerdo, se pronunció por la transmisión oral del parásito **(WARD, 1930)**.

Finalmente fueron **ZENKER, VIRCHOW** y **LEUCKART** quienes, tras un caso de muerte por trichinellosis acaecido en Alemania en **1860**, establecieron la transmisión oral del parásito de forma experimental, y su ciclo en el hospedador. Este estudio completó el realizado por **HERBST** en **1851** quién cerró el ciclo cerdo-tejón y posteriormente tejón-perro.

Debido a la importancia sanitaria que adquiría esta enfermedad, científicos alemanes comenzaron una lucha contra la administración que condujo a la aparición en **1866** de la primera legislación sobre la obligatoriedad de inspección triquinoscópica a canales porcinas dedicadas al consumo. Estableciéndose indemnizaciones para cerdos decomisados **(HUN, 1869)**.

Al final del siglo XIX, la triquinoscopia era una práctica común en Europa, no siendo así en otros países como Estados Unidos en el que no se implantó, dando como razones su escasa eficacia y elevado coste de aplicación **(SALMON, 1895)**. A consecuencia de esto, en la década **1880-1890** se produjo un bloqueo a la importación de productos porcinos desde Estados Unidos por parte de países europeos como España, Portugal, Grecia, Dinamarca y Alemania. Sólo Reino Unido mantuvo el comercio de carne de cerdo con Estados Unidos.

Este error sanitario condujo a que la enfermedad fuera endémica en este país, hasta el punto de que la incidencia de *Trichinella* en cerdos en los Estados Unidos en **1970**, era mayor que la existente en Alemania en **1870.(LEHMENSICK, 1970)**.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Como final a esta breve reseña histórica que ha pretendido mostrar desde una visión retrospectiva la importancia de este parásito y de la enfermedad que produce, es importante destacar que una amplia gama de mamíferos pueden ser el origen directo de una trichinellosis humana. Así, en Estados Unidos, muchos de los brotes humanos ocurren por el consumo de animales de caza como osos, siendo en España y otros países el jabalí el animal salvaje que conlleva un mayor peligro de contagio. Queremos apuntar finalmente que algunos herbívoros son hospedadores susceptibles de *Trichinella* y que en los últimos años importantes brotes de trichinellosis humana en Francia e Italia han sido originados por el consumo de carne de caballo procedente de distintos países (**MANTOVANI** *et al.*, **1976**; **PARRAVICINI** *et al.*, **1986**; **VAN KNAPEN, 1988**; **CARNERI** y **MATTEO, 1988** y **CARNERI** *et al.*, **1989**).

2.2.- CICLO BIOLOGICO

El ciclo de *Trichinella spiralis*, autoheteroxeno, se caracteriza porque un mismo animal actúa como hospedador definitivo en una fase del mismo que tiene lugar a nivel intestinal, con el paso de las formas larvarias hasta adultos y la reproducción sexual de éstos, y como hospedador intermediario en una segunda fase, con ubicación muscular. Con el asentamiento de estas formas larvarias y su posterior evolución hasta el estadio infestante para un nuevo hospedador, se completa el ciclo biológico del parásito.

Hasta hace poco tiempo se consideraba que prácticamente la única vía de transmisión del parásito de un individuo a otro era por la ingestión de tejido muscular infestado con larvas 1 enquistadas, pero la aparición de los últimos brotes de trichinellosis humana ocurridos en Francia e Italia debidos al consumo de carne de caballo hacen suponer la existencia de otras formas de contagio que representarían un modo de transmisión importante para aquellos animales no consumidores de carne como es el caso de todos los herbívoros (¿artrópodos vectores?. etc.).

A este respecto **GRETILLAT (1985)**, indica como posible fuente de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

contagio para los caballos, la contaminación del alimento con heces de ratas conteniendo *Trichinella*. **AHMED** *et al.*, **(1985)**, en un estudio experimental en ratas, encontró la presencia de larvas libres en las heces días despues de la infestación.

Más contundentes son los resultados de **GEVREY (1989)**. En sus experiencias, consiguió determinar la viabilidad de larvas de *Trichinella*, eliminadas con las heces de perros infestados experimentalmente, siendo posteriormente administradas a ovinos y reproduciendo en alguno de ellos la parasitación. Este autor, comprobó que estos perros eliminaban una gran cantidad de larvas, tanto libres como enquistadas, sobre todo durante un episodio diarreico, que permanecieron vivas durante varios días, consiguiendo el contagio de un cordero provocado por la ingestión de estas heces.

Normalmente, **(DESPOMMIER, 1983)**, cuando un hospedador susceptible (la gran mayoría de los carnívoros y omnívoros y hoy también ya demostrado, los herbívoros) ingiere tejido muscular infestado por *Trichinella*, se produce un proceso de digestión por la acción de la pepsina y del ácido clorhídrico del estómago, proceso que dura unos minutos, durante el cual la larva no sufre ningún desarrollo.

Una vez liberada la larva 1 penetra rápidamente en la mucosa intestinal. Los distintos autores no muestran uniformidad de criterios en cuanto a la forma de penetración, ya que mientras para algunos este mecanismo es desconocido **(BRUCE, 1974; CAPO** *et al.*, **1984)** por entender que la larva 1 carece de estilete bucal, para otros **(VAN SOMEREN, 1939)** esta penetración se efectúa gracias a un estilete bucal. De uno u otro modo esta penetración se realiza, incluso a partir de los 10 minutos de su liberación **(DESPOMMIER** *et al.*, **1978; DESPOMMIER, 1983)**, aunque pueden encontrarse larvas sin introducierse en la mucosa intestinal aún a las 24 horas de la ingestión **(GURSH, 1949; CALERO** *et al.*, **1982; YANG** *et al.*, **1984)**.

Las larvas se sitúan en las células del epitelio columnar o epitelio simple cilíndrico de la mucosa intestinal, tanto células caliciformes como

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

enterocitos o células absortivas, sobre todo de la base de las vellosidades, encontrándose directamente en el citoplasma y no apareciendo rodeadas de membrana del hospedador (**GARDINIER, 1976; WRIGHT, 1979**).

Cuando penetran las larvas 1, miden aproximadamente 1 mm. de longitud por 35-38 μm. de diámetro; como la célula epitelial mide unos 32 μm. de longitud el parásito no puede penetrar en una sóla célula, por lo que se acopla a una gran cantidad de ellas (hasta 117, durante esta primera fase), fusionándose las membranas celulares de interconexión (**WRIGHT, 1979**), formando sincitios para albergarlas. Así pues, no hay destrucción de células, sino que éstas se modifican para el alojamiento. A este nicho se le denomina intramulticelular, (**DESPOMMIER, 1983; CAPO** *et al.*, **(1984)**.

Aunque se han citado varias localizaciones que pueden servir como nicho intramulticelular (duodeno, yeyuno, íleon, etc.) es generalmente aceptado que el duodeno es el lugar donde se localizan la mayoría de larvas.

Es en este nicho dónde las larvas 1 sufren cuatro mudas muy rápidamente, tal como apuntan la práctica totalidad de autores consultados (**CALERO** *et al.*, **1982; DESPOMMIER, 1983; CAPO** *et al.*, **1984**; etc.), mudas que se completan en un plazo de 30 horas.

Una vez alcanzada la madurez sexual se produce rápidamente el apareamiento. Tras la fecundación de las hembras, en el interior de los huevos, se desarrollan las larvas 1, que eclosionan en el interior del útero y posteriormente son eliminadas por la vulva. Esto transcurre en un tiempo aproximado de 90 h., ya que hasta los 5 días no aparecen larvas 1 recién nacidas en el duodeno (30 horas hasta la producción de adultas + 90 horas para la larviposición = 5 días), según indican **DENHAN** y **MARTINEZ (1970), HARLEY** y **GALLICCHICO (1971)**, y **STEWART** *et al.* **(1986)**.

La ruta que las larvas 1 toman una vez paridas, ha sido objeto de estudio de muchos investigadores, pero dos trabajos realizados en ratón con la canulación del conducto torácico, aportaron claridad a este respecto. Estos trabajos fueron realizados por **BASTEN** y **BEESON (1970)** y **HARLEY** y **GALLICCHICO (1971)**. En el primero se recogen gran

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

cantidad de larvas 1 entre el días 6 y 7 de la infestación oral, demostrándose en el segundo, que el 70% de las larvas migran por el sistema circulatorio linfoide, mientras que el 30% restante acceden a la musculatura a través de la cavidad abdominal o mediante el sistema porta, desde donde son diseminadas por el torrente circulatorio. Esto indica que la ruta predominante de las larvas 1 de *Trichinella*, en su migración hacia el corazón, es a través del conducto torácico antes de integrarse a la vena cava caudal. A partir de la llegada al corazón las larvas, en la circulación general, se distribuyen sistémicamente por todo el organismo hasta alcanzar su localización definitiva.

La llegada de larvas a musculatura comienza entre el 15° y 16° día postinfestación (dpi) (**CALERO** *et al.*, **1982**), continuando la llegada y penetración hasta los días 20-22 postinfestación (pi), época en la cual la práctica totalidad de larvas están ya en musculatura. La penetración de las larvas en su nicho intracelular es muy rápida, al igual que en el nicho intramulticelular entérico.

Existen numerosos trabajos sobre los músculos, más frecuentemente infestados, e incluso sobre el número relativo de larvas 1 en cada uno de ellos, en una gran variedad de mamíferos, domésticos y salvajes, en ratones, ratas e incluso en la especie humana, entre los que podemos citar los publicados por **PAMPIGLIONE** *et al.* **(1978)**; **LIZCANO HERRERA (1979)**; **STEWART** y **CHARNIGA (1980)**; **HENRIKSEN (1981)**; **KOTULA** *et al.* **(1984)**; **MARTINEZ GOMEZ (1985)**; **REINA (1987)**; **SERRANO (1991)**; **NAVARRETE** *et al.* **(1991)** o **PEREZ** *et al.* **(1992)**, de los que se desprende que los músculos que tienen mayor actividad, son los más altamente parasitados. Con las diferencias debidas a cada proceso experimental, los músculos más afectados son siempre el diafragma, lengua, maséteros, intercostales, psóas mayor, abdominales, bíceps, tríceps, flexores y extensores del carpo y tarso, linguales, faríngeos, etc., apuntando **SERRANO (1991)** que este tropismo no se siente alterado por el tipo de aislamiento infestivo.

PEREZ *et al.* **(1992)** apuntan tras su experimento en porcino ibérico que cuando los animales reciben bajas dosis de L1 (10-800), la localización

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

preferente de *Trichinella* es la lengua (x= 22,81 LPG) situándose en segundo lugar los pilares del diafragma (x= 19,5 LPG). Por su parte, si aumenta la dosis infestante hasta 36.000 larvas por animal, son los pilares del diafragma (más de 4000 LPG) donde se localiza un mayor número de enquistamientos de *T.spiralis*, seguido por los músculos de la lengua (2560 LPG), psóas mayor (2428 LPG), maséteros (1689 LPG) y músculos abdominales (1339 LPG).

Consultada la bibliografía comprobamos la falta de trabajos que citen la distribución de *Trichinella* en el hospedador objeto de nuestro estudio (cabra), así como el incremento que en los últimos años han tenido los referidos a especies afines (herbívoros en general), como son los publicados por **SOULE** *et al.*, **(1986)**; **VAN KNAPEN** *et al.*, **(1987)**; **POLIDORI** *et al.*, **(1989)**; **SMITH** y **SNOWDON (1989)** o **TOMAŠOVIČOVÁ** *et al.*, **(1991)**. Este último autor en un estudio experimental en ovejas encuentra un mayor asentamiento de larvas en músculos maséteros seguidos de diafragma y lengua.

WEATHERLY (1983), apunta cuatro posibles razones para que no se produzca el asentamiento de las larvas en el músculo cardíaco: la escasez de tejido conectivo en el miocardio, a través del cual migra la larva normalmente; las constantes contracciones del miocardio que interfieren el asentamiento de la larva en este tejido; la declarada ausencia de sarcolema lo que hace imposible la retención de la larva dentro de la fibra muscular y la particular exacerbación de la respuesta inflamatoria en el miocardio. Sin embargo, **VAN KNAPEN** *et al.* **(1987)** en un estudio experimental realizado en caballos encontró algunas larvas en músculo cardíaco.

Son también numerosos los estudios realizados sobre el tiempo que ha de transcurrir para que las larvas 1 de *Trichinella* lleguen a ser infestantes para un nuevo hospedador. Para algunos autores como **VILLELLA (1970)**, este momento ocurre entre los 17 y 21 días tras la infestación oral (equivalente a una edad de la nueva larva 1 de 12-16 días). El crecimiento de la larva 1 cesa sobre el día 19-20 postpenetración, teniendo entonces un volumen 270 veces mayor del que poseía cuando penetró en la célula muscular **(STEWART, 1983 b)**.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

A partir de este momento, el parásito comienza una espera, en la que aún continúa madurando en su célula nodriza, hasta ser ingerido por otro hospedador y poder continuar su ciclo con una nueva fase entérica. Esta espera puede prolongarse, permaneciendo la larva con capacidad infestante durante toda la vida del hospedador y pudiendo calcificarse o no durante este tiempo **DESPOMMIER (1983)**.

2.3.- ESTUDIO CLINICO Y BIOPATOLOGICO

2.3.1.- SINTOMAS

Según **PAWLOSKI (1983)**, la trichinellosis está incluida en un grupo de enfermedades caracterizadas por poseer una gran variedad de síntomas, que tradicionalmente se han venido a considerar por separado.

CASTRO y **BULLICK (1983)** apuntan que tanto los aspectos cualitativos como los cuantitativos de la patogénesis de *Trichinella spiralis*, están condicionados por el hecho de que se trate de un primer contacto con el parásito o no. También es evidente que otros aspectos como la intensidad de la infestación, susceptibilidad individual, o edad del hospedador **(GOULD 1970 a; GOULD 1971)** están relacionados directamente con el daño producido.

La actividad patógena de *Trichinella spiralis* la dividiremos según sus actuaciones en los dos niveles más importantes de su ciclo biológico, gastrointestinal y muscular, continuando con el estudio de las alteraciones producidas en otros órganos, sistemas y aparatos.

2.3.1.1.- FASE GASTROINTESTINAL

En cuanto a ella, las alteraciones se centran en la función motora de la musculatura lisa del intestino, en la actividad secretora y en los procesos absortivos y de digestión terminal.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

CASTRO y **BULLICK (1983)**, señalan que la acción patógena producida se debe en parte a la acción agresora del parásito, teniendo una acción traumática directa, y en parte a la reacción del hospedador ante la presencia del parásito y de sus productos metabólicos.

Según **GOULD (1970 a)**, existen dieciocho síntomas asociados con la fase intestinal de la trichinellosis en humanos, entre los que podemos destacar: anorexia, constipación, calambres y dolores abdominales, náuseas, pérdida de peso y sobre todo diarrea. Según este autor es el síntoma por excelencia y puede achacarse a la acción del parásito. Es originada por grandes disfunciones entre las que destacan, la retención de una gran cantidad de agua en la luz intestinal que supera la capacidad absortiva del colon, así como el incremento de la motilidad **(CASTRO 1982)**, con lo cual decrece el tiempo de contacto de las soluciones con las paredes intestinales **(CASTRO** y **BULLICK, 1983)**.

REINA *et al.* **(1992)** tras su estudio en un área endémica cuyo centro es la localidad pacense de Monasterio en la que se diagnosticaron 76 casos de trichinellosis (1445/100.000 habitantes) comprueban que un 16% de los individuos afectados tuvieron náuseas y vómitos.

DURAN *et al* **(1988)**, encontraron una mayor contractilidad del duoneno en ratones infestados experimentalmente, que alcanzaba el mayor grado entre los días 3 a 15 pi.

CASTRO y **BULLICK (1983)**, al igual que **BECK (1970)**, indican que en cobayas fue imposibe encontrar una absorción normal de la glucosa tras la infestación por *T.spiralis*, siendo el duodeno el segmento intestinal en el que se producen las mayores alteraciones, si bien todo el intestino sufre la acción del parásito. **STPICZYNISKA** y **STARZENSKA (1986)**, encontraron una disminución en la absorción de D-xylosa a nivel intestinal en ratas infestadas con *T.spiralis* , en los días 4, 11 y 27 pi siendo mucho más evidente en el día 4 pi.

READ (1970), encuentra deficiencias en la absorción intestinal en los dos primeros tercios del duodeno, durante los 3-4 primeros días desde

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

la infestación. A partir de los 10-14 días postinfestación observa cómo las lesiones descienden hacia el último tercio duodenal, mientras que en la primera mitad comienza su recuperación, lo cual atribuye a los cambios de posición de los parásitos adultos. **CASTRO (1982)**, expone que sobre las dos semanas pi, cuando se produce la expulsión de los adultos, la motilidad intestinal y con ella la absorción, se normalizan.

BECK (1970) y **PAWLOWSKI (1983)**, refiriéndose a las alteraciones producidas en el trayecto gastrointestinal, hablan de diarrea y dolor abdominal como síntomas principales de un síndrome abdominal originado por la reacción inflamatoria de la mucosa del intestino delgado ante la presencia de larvas y adultos. **PAWLOWSKI**, sugiere, que esta diarrea puede ser de tipo exudativo, debida a la reacción inflamatoria, o de tipo osmótico, argumentando para esto último la deficiencia secundaria de lactosa que sufren los hospedadores de *Trichinella* por la falta de absorción de azúcares. Apunta, finalmente, que este síndrome intestinal puede producirse, además de en los primeros estadios de la enfermedad, entre las tres y cinco semanas del proceso, como consecuencia de una reacción de hipersensibilidad.

KAZURA (1982), indica que los signos gastrointestinales se centran en dolores abdominales, diarreas y náuseas en el hombre, y baja de fluidos gastrointestinales y malabsorción en animales.

REINA *et al.* **(1988)**, observan diarrea, a veces acompañada de una absoluta falta de digestión del alimento entre los 3 y 8 dpi en perros con *T.spiralis*.

BOURÉE (1980), señala que en la fase gastrointestinal los síntomas son: diarrea febril y anorexia acompañadas de náuseas, vómitos, deshidratación, dolores abdominales e hinchazón de vientre, así como astenia, decaimiento, debilidad e incluso anemia y fiebre, que puede llegar a los 40°C en la especie humana, viéndose acompañada de cefaleas e insomnio. Finalmente indica que la muerte en esta etapa se puede producir de modo ocasional.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Por el contrario, otros autores (**KASSUR** *et al.*, **1981**), opinan, que la fase intestinal en la trichinellosis humana a menudo es asintomática.

REMIG y **FRÖSCHER (1987)**, en un brote de trichinellosis humana ocurrido en Bitburg, comprobaron que los primeros signos de enfermedad aparecían en el día 17 postinfestación, pasando el proceso desapercibido en su fase entérica.

GRETILLAT y **VASSILIADES (1968)**, describiendo un proceso de trichinellosis en monos, destacan la buena susceptibilidad de este tipo de hospedadores, y opinan que los trastornos intestinales correspondientes a la fase de invasión y posteriormente al establecimiento de los adultos no son muy graves, apareciendo como único síntoma destacable un ligero proceso diarreico.

CASTRO *et al.*,**(1976 a)**, **LE MERCIER** *et al.* **(1977)**, **BESSOUDO** *et al.* **(1981)**, **FRAYHA (1981)**, **MURILLO-VELARDE** *et al.* **(1983)** y **URSELL** *et al.* **(1984)**, observan, en infestaciones naturales en la especie humana, diarrea, fiebre, vómitos, dolores de cabeza y abdominales y malestar general.

CASTRO y **BULLICK (1983)**, centran la aparición de estos síntomas abdominales entre los tres y cuatro días postinfestación, mientras **BECK (1970)**, los sitúa en el primer día tras la infestación de ratas con *T.spiralis*.

VAN KNAPEN *et al.*,**(1987)** y **POLIDORI** *et al.*,**(1989)**, en estudios experimentales llevados a cabo sobre caballos no observan ningún síntoma durante el desarrollo de la enfermedad, similares resultados fueron los obtenidos por **TOMAŠOVIČOVÁ** *et al.*,**(1991)**, al infestar ovejas con unas dosis de 3000-7000 larvas de *T.spiralis* por animal.

Para **SMITH** *et al.*, **(1990)**, esta primera fase es asintomática en vacas, en las que después de la administración de tejido muscular infestado con *Trichinella*, sólo observó rechazo a la comida y a la masticación, fenómenos que aparecieron entre los 10 y 30 días postinfestación.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

La anorexia es otro de los síntomas más generalizados en los procesos por *Trichinella*, y ha sido descrita por **BECK (1970)**, **CASTRO (1974)**, **KOCIECKA** *et al.* **(1978)**, **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1978 a)**, **CASTRO** *et al* .**(1979 a)**, **BOURÉE (1980)**, **FRAYHA (1981)**, **STUMPF** *et al.* **(1981)** y **NGWENYA** *et al.* **(1984)**.

CASTRO y **BULLICK (1983)**, señalan la aparición de anorexia a partir de los 6-7 días, apreciándose pérdida de peso entre los 6 y 9 días postinfestación; por su parte, **REINA** *et al.* **(1988)**, encuadran el proceso anoréxico en perros, entre los 4 y 9 días postinfestación, fenómeno no generalizado en todo el colectivo de animales experimentales, mientras no observa pérdida de peso en ninguno de los perros.

2.3.1.2.- FASE MUSCULAR

En cuanto a los síntomas producidos en la especie humana durante la fase muscular del parásito, las mialgias constituyen el signo clínico más observado por los autores consultados (**FRAYHA, 1981**; **KASSUR** *et al.*, **1981**; **FRÖSCHER** *et al.*, **1982**; o **URSELL** *et al.*, **1984**); todos ellos además destacan la existencia de un síndrome febril durante esta fase.

MURILLO-VELARDE *et al.*, **(1983)**, describen esta etapa del proceso, señalando la existencia de cefaleas y mialgias de la musculatura esquelética de la respiración, de la deglución y de la masticación.

BOURÉE (1980), también en la especie humana describe este síntoma, estableciendo su aparición a los 15 días de la infestación, observando trastornos locomotores, dificultad de masticación y fiebre. Este mismo autor, en caso de infestación experimental en cerdos, señala el comienzo de las manifestaciones musculares hacia el día 14 postinfestación, presentando los cerdos signos dolorosos a la palpación muscular, marcha rígida y dificultades de masticación y deglución.

LE MERCIER *et al.* **(1977)**, citan, además de las mialgias, dolores articulares, al igual que **STUMPF** *et al.* **(1981)**, que sobre un foco de trichinellosis humana ocurrido en Alemania en 1977, indica que el 95% de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

los afectados presentaron mialgias, el 64% de los casos con dolores articulares, la anorexia fue manifiesta en un 48%, así como debilidad, postración, dolor de cabeza o reducida capacidad laboral en un buen porcentaje de los mismos.

KASSUR *et al.* **(1981)**, describen también las mialgias como un síntoma típico de la trichinellosis humana, destacando que es el único que se presenta como secuela permanente durante muchos meses e incluso años. **FRÖSCHER** *et al.* **(1988)**, observan sobre 19 pacientes que hacía entre 2-42 años habían padecido un proceso de trichinellosis aguda, cómo 15 de ellos presentaban mialgias crónicas acompañadas de otras secuelas como oftalmodinia, dolor de cabeza y fatigabilidad.

REINA *et al.* **(1992)**, en su estudio retrospectivo del proceso acaecido en Monasterio (Badajoz) en 1982 detectan como síntomas más frecuentes dolor de huesos y articulaciones que aparecieron en el 91% de los individuos diagnosticados; dolores musculares aparecieron en un 75% de los mismos, siguiendo en porcentajes los trastornos respiratorios, ciática y lumbago con un 41 y 33% respectivamente.

Los síntomas que aún hoy día, tras 10 años, siguen siendo más frecuentes en la población afectada son dolores de huesos y articulaciones y las mialgias.

PAWLOWSKI (1983), en su trabajo sobre aspectos clínicos de la enfermedad en humanos, describe las mialgias, que se acompañan usualmente de fiebre, puntualizando que el dolor muscular se presenta sobre todo en los músculos de mayor parasitación. Este dolor se incrementa con el movimiento, llegando a producir contracturas permanentes en pacientes no tratados, así como fibrilaciones profusas y espontáneas.

VIALLET *et al.* **(1986)**, en observaciones clínicas sobre pacientes humanos afectados de trichinellosis detectaron mialagias en el 60% de los mismos y debilidad muscular en el 50%. Los presentan como episodios relativamente cortos, con un promedio de 5,4 días para las mialgias y 4,5 días para la debilidad muscular, en comparación con un proceso diarreico

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

que afectó a todo el colectivo y con una duración de 5,8 semanas de media.

GRETILLAT y VASSILIADES (1968) y KOCIECKA (1981 a), en sus trabajos sobre trichinellosis experimental en monos, manifiestan haber observado alrededor del día 30 postinfestación abatimiento y fatiga general. Los primeros autores citados observan una hipotermia, y fuertes mialgias, al contrario de la gran mayoría de autores consultados, en infestaciones experimentales en perro y gato.

Los únicos síntomas hallados por **CALERO** *et al.* **(1982)**, durante la fase muscular de la enfermedad, en ratones infestados con 29 larvas por gramo, son un intenso y manifiesto dolor muscular, así como notorias muestras de ataxia locomotriz.

MARTINEZ-GOMEZ *et al.* **(1985)**, describen un manifiesto incremento de la temperatura en trichinellosis experimental canina, valor que alcanza su más alta cota (40,5° C.) alrededor de los 30 dpi. Estos autores no señalan la presencia de mialgias durante su experiencia en esta especie animal.

Por su parte **REINA** *et al.* **(1988)**, también en trichinellosis canina, detectan a los 20 dpi dolores musculares en un 50% del colectivo experimental, evidenciados por la aparición de cojeras y dolor a la palpación y presión. En el mismo grupo de animales, observan un aumento de la temperatura, que se manifiesta a partir de los 3-5 dpi. LLegan a alcanzar temperaturas comprendidas entre 39,8-40,8° C. a los 8-10 días y 26-28 días postinfestación, destacando también la temperatura corporal alcanzada entre los días 82-90 pi con un máximo de 40,5° C.

SOULE *et al* . **(1989)**, en un estudio experimental realizado sobre tres lotes de caballos a los que se les administró 5000, 20000 o 50000 larvas de *T.spiralis* respectivamente, encontraron desórdenes musculares transitorios, observados sólo en dos de los caballos infestados con 50000 larvas y ninguno de los animales tuvo fiebre.

VAN KNAPEN *et al.* **(1987)** y **POLIDORI** *et al.* **(1989)**, en sus

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

respectivos trabajos sobre trichinellosis experimental en caballos manifiestan no haber encontrado ningún signo clínico durante el desarrollo de la enfermedad. También **TOMAŠOVIČOVÁ** *et al.* **(1991)**, comentan la ausencia de signos clínicos durante un proceso de trichinellosis experimental llevado a cabo sobre ovejas.

FARRIS *et al.* **(1977)**, observan en ratones infestados con 400 larvas de *T.spiralis* un descenso en la potencia del músculo, así como la aparición de estados tetánicos tempranos y de fatiga muscular.

STEWART (1983 b), indica que la célula muscular hospedadora de *Trichinella* induce una reducción en la funcionalidad del músculo, incrementando su estabilidad en comparación con la célula no parasitada.

STEWART *et al.* **(1974)**, opinan que el origen de esta reducción en la funcionalidad muscular no sólo es debido a la presencia de la larva, sino más bien a la disminución de hasta el 50% de los elementos químicos que intervienen en la contracción del músculo, destacando ATP, fosfocreatina y mioglobina.

PAWLOWSKI (1983), señala que entre los 7 y 21 días pi tras la ingestión de larvas, aparecen con frecuencia unos signos agrupados bajo el epígrafe de vasculitis alérgica, asociados a menudo con procesos generales como la fiebre. Dichos signos podrían resumirse, por un lado, en la extravasación de fluido desde los capilares y vénulas hasta los compartimentos intersticiales, y por otro en la presencia de hemorragias. Consecuencia del primero de los signos es la aparición de edemas, sobre todo en torno a los ojos (edema palpebral y periorbital) que a veces en humana puede extenderse por toda la cara. Es igualmente observable el edema en tejido subcutáneo de la pierna, que desaparece, al igual que el de la cara, al mismo tiempo que la fiebre.

Gran número de los autores consultados expresan haber hallado este signo en sus procesos experimentales, entre los que podemos citar a **BECK (1970)**, **LE MERCIER** *et al.* **(1977)**, **KOCIECKA** *et al.* **(1978)**, **BOURÉE (1980)**, **FRAYHA (1981)**, **KASSUR** *et al* . **(1981)**, **CALERO**

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

CARRETERO *et al.* **(1982)**, **MURILLO-VELARDE** *et al.* **(1983)** PARKER *et al.* **(1984)** o **URSELL** *et al* .**(1984)**, entre otros. Todo ello lo convierte, quizás, en el proceso sintomático-lesional más observado por todos los autores consultados.

KOCIECKA *et al.* **(1981)**, realizan un estudio comparativo entre los síntomas hallados en un proceso experimental en monos infestados con *T.spiralis* y con *T.pseudospiralis*, apuntando en primer lugar que la aparición de edema quedaba circunscrita, en todos los casos, a los párpados, y también a zonas periorales en uno de los grupos infestados con *T.spiralis*. Es detectable una mayor prontitud en la aparición de estos síntomas en los animales infestados con *T.spiralis*, viéndose relegada la aparición de ellos en los procesos por *T. pseudospiralis* alrededor de una semana: día 14 para grupos infestados con *T.spiralis*, y día 20 para los de *T.pseudospiralis*.

REINA *et al.* **(1988)**, observan este mismo fenómeno en perros, apuntando su comienzo hacia los 15 días pi, localizado preferentemente en la parte superior de la cabeza, concretamente en la zona de fusión de los parietales.

En cuanto a la segunda consecuencia del proceso vascular, las hemorragias, tanto **PAWLOWSKI (1983)**, como **PARKER** *et al.* **(1984)**, así como **MURILLO-VELARDE** *et al.* **(1983)**, están de acuerdo en ubicarlas a nivel ocular. Se han descrito primordialmente bajo la conjuntiva, aunque también entre párpados, citando el primero de los autores su existencia en uñas, pericardio, endocardio y pleura, pudiendo llegar al cerebro, siendo aquí responsables de síntomas neurológicos focales. Estas hemorragias, toman una coloración desde rojiza a amarilla cérea cuando van desapareciendo. También **KRAMER** y **AITA (1988)**, describen la presencia de hemorragias bajo las uñas como fenómeno presente en la trichinellosis humana.

PAWLOWSKI (1983), describe para la especie humana unas complicaciones oculares, entre las que, además de las ya citadas al hablar del síndrome de vasculitis alérgica, puede observarse fotofobia, visión turbia, incluso dolor en el globo ocular. Estas alteraciones pueden ser

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

debidas no sólo a procesos vasculares, sino también a migraciones ectópicas de larvas, e invasiones intensas de los músculos del globo ocular, lo cual incrementa la presión intracraneal y afecta a los nervios craneales y centros visuales. Fruto también de la posible invasión de músculos oculares, es la aparición de estrabismo e incluso exoftalmia durante algunas semanas. Síntomas que concuerdan, en gran parte, con los citados por **BOURÉE (1980)**, añadiendo además este autor la presencia de midriasis y dilatación de la pupila, síntoma detectado también por **URSELL** *et al.* **(1984)**.

Además de señalar los edemas palpebral y de extremidades ya reseñados, **KOCIECKA** *et al.* **(1981)**, en su estudio comparativo de las alteraciones producidas por *T.spiralis* y *T.pseudospiralis* en monos, describen un claro proceso de conjuntivitis, aparente en el primer caso entre los días 16-36 pi, mientras que en las infestaciones por *T.pseudospiralis*, es detectado entre los días 20 y 36 pi y siempre con una reducción en la intensidad de los signos clínicos observados.

Estos síntomas son descritos también por **KRAMER** y **AITA (1988)**, cuando se refieren al cuadro clínico de la trichinellosis humana, indicando la existencia de conjuntivitis, edema facial y periorbital junto con un agrandamiento de las glándulas parótida y sublingual. Además, el edema palpebral es el primer signo en la fase de invasión muscular, pudiendo aparecer entre los 7-19 dpi, fenómeno que afecta a un 75% de los pacientes con trichinellosis clínica. Por su parte, **BOURNERIAS** *et al.* **(1986)**, haciendo referencia a un brote de trichinellosis humana ocurrido en Francia en 1985, destacan como síntomas cutáneos observados en 125 pacientes, la presencia de edema facial en el 79% de los mismos; edema de mucosas en un 10%, conjuntivitis en un 8% y en una menor proporción otros signos, como hemorragias sublinguales que sólo fue observada en un paciente.

Son descritas igualmente por **PAWLOWSKI (1983)**, unas complicaciones neurológicas que ocurren en un 10-24% de los casos humanos. Según este autor, deben estar originadas por la migración ectópica de las larvas, por reacciones de hipersensibilidad del hospedador, así como por hemorragias y extravasaciones vasculares. Señala **PAWLOWSKI** que los síntomas causados por la meningitis y encefalitis en humanos, tales

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

como cefaleas, insomnio, delirio, apatía o psicosis se superponen en el tiempo en que la emigración larval alcanza su máximo nivel y los cambios vasculares son más pronunciados. En casos muy graves pueden producirse hemiplejías, afasias, ataxias, paresias o incluso parálisis.

Al respecto de los procesos neurológicos que complican la trichinellosis, **BOURÉE (1980)**, apunta, además de los ya expresados por **PAWLOWSKI**, la posible presencia de vértigos, convulsiones y abolición de reflejos osteo-tendinosos.

Finalmente, este autor, señala que muchos de estos trastornos pueden ser debidos a la oclusión de pequeños capilares por la simple acción mecánica de las larvas 1 en estos territorios.

Hablando de complicaciones cardiacas y circulatorias, al ser el corazón órgano obligado de tránsito para las larvas de *Trichinella*, **PAWLOWSKI (1983)**, manifiesta que estas complicaciones son las más frecuentes y las más serias, siendo su intensidad proporcional a la magnitud de la infestación y apareciendo en un 20% de los casos como clínicamente manifiestas.

Estas complicaciones se evidencian en la aparición de trombosis, como también apuntan **LE MERCIER** *et al.* **(1977)**, hipotensión extremada y edema, ya referido ampliamente. **PAWLOWSKI (1983)**, opina que las complicaciones cardiacas constituyen el cuadro clínico causante, con mayor frecuencia de las muertes acontecidas en los procesos trichinellósicos.

BOURÉE (1980), sin embargo, afirma que los síntomas cardiacos y respiratorios son casi siempre benignos, no pasando de ligeras taquicardias o bradicardias, dolores precordiales o palpitaciones; pudiendo en algunos casos presentarse síntomas más graves, como trombosis y embolias, que aunque raramente, pueden llevar a la muerte a partir del segundo mes postinfestación. Este fenómeno debe ser consecuencia de la acción por efecto tóxico de los parásitos ya que las larvas no se enquistan en miocardio.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Otros autores describen muy someramente las alteraciones cardiacas evidenciadas. Así **FRÖSCHER** *et al.* **(1982)**, hablan de síntomas cardiacos crónicos, **GREILLAT** *et al.* **(1968)**, refieren arritmias cardiacas como único signo evidenciado, mientras que **LE MERCIER** *et al.* **(1977)**, y **URSELL** *et al.* **(1984)**, apuntan la existencia de taquicardia.

KRAMER y **AITA (1988)**, por su parte describen el cuadro cardiovascular con signos que incluyen miocarditis (presente normalmente desde la 4ª a la 8ª semana pi), insuficiencia cardiaca congestiva, trombosis vascular, embolia pulmonar, hipotensión, dolor retroesternal y efusión pericárdica. Estos mismos autores se refieren al compromiso del sistema respiratorio y que se manifiesta con disnea, tos, pleuritis, ronquera, bronquitis, bronconeumonía o embolia pulmonar.

Refiriéndose también a estas complicaciones pulmonares y respiratorias, **PAWLOWSKI (1983)**, opina que son poco frecuentes (menores al 5% de los pacientes hospitalizados) y tienen un fondo inmunológico o circulatorio.

Los signos pulmonares que describe **BOURÉE (1980)**, se centran en disnea, tos, respiración superficial y dolores torácicos con expectoraciones mucosanguinolentas.

BRUSCHI *et al.* **(1989)**, realizan un estudio sobre la perfusión pulmonar en monos durante la infestación con *T,spiralis*, y comprueban algunos defectos, particularmente evidentes después del sexto día pi, coincidiendo con el tiempo de la migración de larvas a través de la sangre o linfa. Es muy probable que estos defectos de perfusión puedan ser causados por el paso de los parásitos a través de los pulmones y que queden retenidos en este lugar. Esta retención de larvas puede ser la responsable de las complicaciones pulmonares observadas en pacientes afectados por este parásito.

Bajo el apartado de otras alteraciones **PAWLOWSKI (1983)**, describe que es posible la observación de erupciones cutáneas, como finas máculas que emergen tras la segunda semana de enfermedad y definidas

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

como un exantema macopapular. La duración puede ser muy escasa, o bien durar incluso semanas. **PAWLOWSKI** indica como causa probable de este proceso la inmunológica o de hipersensibilidad.

También **KOCIECKA (1981 a)**, observa como únicas alteraciones cutáneas las erupciones.

A este respecto, **BOURÉE (1980)**, manifiesta también la posibilidad de detectar síntomas cutáneos, describiendo además de las erupciones, hipersudoración, prurito, hormigueos, e incluso trastornos de la sensibilidad cutánea.

Por su parte **MURILLO VELARDE** *et al.* **(1983)**, detectan reacciones alérgicas en la piel, hallazgo compartido por **BOURÉE (1980)**, que describe un proceso urticariforme debido a reacciones alérgicas producidas por toxinas de los parásitos.

STUMPF *et al.* **(1981)**, detectan, en un foco que afectó a 58 personas, la formación de pápulas en la piel en un 45% del colectivo afectado.

PAWLOWSKI (1983), señala que pueden evidenciarse, a veces, problemas urinarios secundarios. **BOURÉE (1980)**, detecta oliguria debida a la deshidratación provocada por la diarrea, con orina de color rojo por la presencia de mioglobina, también **KRAMER** y **AITA (1988)**, comentan la mioglobinuria como fenómeno raro que puede aparecer entre las 4 y 5 semanas de la infestación, pudiéndose presentar además oliguria, ligera proteinuria y sedimento urinario normal.

Finalmente **(BOURÉE, 1980)**, se han descrito síntomas genitales o alteraciones del ciclo menstrual, incluso casos de abortos en hembras preñadas.

A la vista de todo este posible cuadro sintomático y asociándole datos epidemiológicos, se puede inducir el diagnóstico **(BOURÉE, 1980)**, más habrá que recoger unos datos analíticos complementarios para poder

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

realizar un diagnóstico clínico; datos que ayudan mucho en el caso de una sintomatología confusa y atípica, como es la producida por *Trichinella* en su amplio espectro de especies hospedadoras.

2.3.2.- PARAMETROS HEMATICOS

2.3.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS

En relación con el recuento de eritrocitos, **KUCINSKAS (1976)**, en su trabajo sobre cerdos infestados con *T.spiralis*, no observa ninguna alteración importante en este parámetro hemático durante los dos meses de su experiencia, al igual que **NGWENYA** *et al.* **(1984)** en ratones o **HERRERO ALONSO (1975)** en ratas.

En un estudio experimental en perros **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 a)**, observan que las cifras de eritrocitos no experimentan alteraciones dignas de consideración.

Por el contrario **MARTINEZ GOMEZ** *et al.* **(1985)**, detectan valores ligeramente inferiores en perros infestados que en los utilizados como testigos. Los perros control mostraron valores entre 6,5 y 8 millones/μl y los animales problema valores de 5,5 millones/μl de media a los 3 días postinfestación, volviendo estos valores a límites fisiológicos aproximadamente a los 30 dpi.

NGWENYA *et al.* **(1984)**, trabajando en ratones infestados con 100, 500 y 1000 larvas/animal, observan una reticulocitopenia entre los días 10 y 12 pi. A partir del día 15 observó una reticulocitosis, signo de regeneración eritropoyética, lo cual concuerda con las observaciones de **MARTINEZ GOMEZ** *et al.* **(1985)**.

También **BOURÉE** y **BADJANG (1989)**, encuentran anemia en un grupo de ratas infestadas con 2.000 larvas de *T.spiralis*, pero no en los grupos infestados con 200 ó 1.000 larvas.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.3.2.2.- VALOR HEMATOCRITO

Respecto al valor hematocrito, hemos de reseñar el trabajo publicado por **FRAYHA** en **1981** a partir de dos casos humanos con una trichinellosis establecida, en los cuales observó un valor hematocrito del 41% en uno de los casos y entre un 32% y un 36% en el otro, lo cual supone un valor fisiológico en el primer caso y apreciablemente disminuido en el segundo. Esto concuerda con lo citado anteriormente para los niveles de eritrocitos circulantes.

También **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1980)**, observan valores de hematocrito inferiores a los detectados en los animales control, observaciones que coinciden con las de **HERRERO ALONSO (1975)**, y no así con las de **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 a)**, en las que no se aprecian variaciones destacables.

2.3.2.3.- HEMOGLOBINA

Casi todos los autores consultados coinciden al indicar que los valores de hemoglobina no sufren alteración durante los procesos trichinellósicos respecto a los valores fisiológicos **(KUCINSKAS, 1976; MARTINEZ GOMEZ** *et al.*, **1985; REINA, 1987** y **REINA** *et al.* **1989a)**.

NGWENYA *et al.* **(1984)**, observan ligeros cambios en las cantidades de hemoglobina, añadiendo que éstos no comportan una significación positiva.

2.3.2.4.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS

En cuanto al recuento total de leucocitos, **KOCIECKA (1981 b)**, establece que en el proceso de trichinellosis, se produce una leucocitosis clara durante el periodo agudo o de invasión, opinión que concuerda con la expresada por algunos autores como **LE MERCIER** *et al.* **(1977)**, **BOURÉE (1980)** o **MURILLO VELARDE** *et al.* **(1983)** en humana, pero que contrasta con la de otros como **LARSH (1968)** o **KUCINSKAS (1976)**,

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

ya que en sus investigaciones en cerdos y cricetos, respectivamente, obtienen valores normales en el recuento total de leucocitos durante sus experiencias.

HERRERO ALONSO (1975) y **PAWLOWSKI (1983)** detectan un proceso de leucocitosis. Dando este último autor, un número de leucocitos en personas afectadas de trichinellosis, entre 15.000 y 50.000 por μl, cantidades que se aproximan mucho a las dadas por **FRAYHA (1980)** y **MURILLO VELARDE** *et al.***(1983)**, y sin embargo superan las obtenidas por **STUMPF** *et al.* **(1981)** que las sitúan en 10.700 lecucocitos/μl de media.

En ratones, **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1980, 1981)**, encuentran una clara leucocitosis alrededor de los 30 días de la experiencia, con cifras que oscilan entre los 13.500 y 17.800 leucocitos/μl, cuando los controles presentaban unos valores cercanos a los 11.000 leucocitos/μl. También **BOURÉE** y **BADJANG (1989)**, detectan leucocitosis, especialmente durante la 3ª semana postinfestación en ratas que habían sido inoculadas con 200, 1.000 ó 2.000 larvas de *T.spiralis*, alcanzando cifras de 24.000 y 24.400 leucocitos/μl, en los grupos infestados con 1.000 y 2.000 larvas respectivamente.

FRÖSCHER *et al.* **(1982)**, observan, en una infestación humana, tras 16-30 años de la misma una leucocitosis crónica.

En perros, **REINA (1987)**, encuentra una ligera leucocitosis , que coincide con la fase de emigración de las larvas 1 y de penetración de éstas en su nicho muscular.

2.3.2.5.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS

La eosinofilia, como en casi todas las enfermedades parasitarias, es un signo importante observado en los procesos trichinellósicos, y ayuda en el diagnóstico de esta enfermedad **(GOULD, 1945)**.

Así, **CHODERA** *et al.* **(1974)**, mediante un estudio en conejos

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

infestados con *T.spiralis*, detectan una eosinofilia entre el 32-42%, teniendo una media alrededor del 37%; valor aproximado al dado por **BESSOUDO** *et al.* **(1981)**, que la cifran en un 33% sobre el total de leucocitos.

GENTILINI *et al.* **(1976)**, en su estudio sobre dieciocho pacientes afectados por *Trichinella* en un foco declarado en París observaron porcentajes de eosinófilos entre el 20 y el 49%. **BECK (1970)**, en ratas, describe un incremento de eosinófilos a partir del 5° dpi.

KARMANSKA (1981), realiza un trabajo dedicado exclusivamente a estudiar los eosinófilos en los diferentes tejidos, órganos y cavidades de ratones infestados con *T.spiralis*. Comienza apuntando el porcentaje medio de eosinófilos en ratones controles, el cual, es aproximadamentes del 2,5%. En los ratones infestados el porcentaje de eosinófilos plasmáticos se incrementó sobre el segundo dpi, descendiendo algo entre el octavo y décimo dpi.

Un segundo incremento desde el día 12 pi, con un pico de 15,6% de eosinófilos sobre el día 15 pi. Gradualmente este porcentaje disminuyó, no observándose valores normales hasta el día 70 pi. Estos datos concuerdan con los expresados por **TAKADA** *et al.* **(1985)**, al citar la 2ª-3ª semana como el intervalo en el que se producen los picos de eosinófilos en sangre y por **CALERO** *et al.* **(1982)**, que sitúan la aparición de los valores más elevados de eosinófilos entre los 10-22 dpi.

KOCIECKA (1981 a y b), al igual que **KASSUR** *et al.* **(1981)**, también describen la eosinofilia como uno de los signos constantes en trichinellosis humana. **LE MERCIER** *et al.* **(1977)**, detectan un nivel del 11% en un brote de trichinellosis humana en Francia. **PAWLOWSKI (1983)**, refiriéndose a la elevación de la tasa plasmática de eosinófilos, indica que este signo es uno de los más tempranos, estables y característicos de todos los que se pueden encontrar en trichinellosis humana. Señala porcentajes entre el 15 y el 45%., destacando que el aumento puede aparecer a partir del quinto dpi.

KUCINSKAS (1976), en su trabajo sobre recuento diferencial de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

leucocitos, apunta que la mayor elevación de eosinófilos se encontró el día 21 pi (11,5%) en cerdos infestados con 15.000 larvas. Cuando se incrementó la dosis hasta 30.000 larvas, la eosinofilia alcanzó niveles del 69%, valores que remitieron a los 35 dpi hasta sus cifras normales.

PROKOPOWICZ *et al.* **(1983)**, así como **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1978 a, 1980 y 1981)**, describen también la eosinofilia como signo evidente, alcanzando a los 20 dpi valores de 13,5 %.

LARSH (1968) y **BECK (1970)**, ubican la elevación de eosinófilos circulantes y tisulares, en cricetos infestados, al comienzo de la fase muscular (16-19 dpi)

MARTINEZ-GOMEZ *et al.* **(1985)**, en perros, señalan valores de hasta el 40%, cifra a la que se llega tras incrementos paulatinos y a partir de la segunda semana. También en perros **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 a)**, observan una marcada eosinofilia, que comienza a evidenciarse a partir del 5° dpi con valores que alcanzan el 6-14% de eosinófilos circulantes, estas cifras se estabilizan en torno al 10-15% sobre los 8-10 dpi.

A partir de este momento, según estos autores, algunos animales incrementan el porcentaje de eosinófilos, detectándose valores del 17% sobre el día 20 pi, del 18% sobre el día 26 pi, del 23% sobre el día 33 pi, o del 24% sobre el 40 dpi. A partir de este día los valores inician un descenso alcanzando la normalidad alrededor del 77 dpi.

STURROCK *et al.* **(1977)**, tras administrar oralmente dosis altas de *T.spiralis* a babuinos, observan una marcada eosinofilia que permanece durante 2-3 semanas. Inyectando intravenosamente larvas infestantes, aparece rápidamente el aumento de eosinófilos, el cual no se produce al inyectar por la misma vía sustancias inertes (sepharosa).

Sin embargo **LIN** *et al.* **(1974)**, indican que los estadios enterales de *Trichinella* son los que pueden producir esta respuesta eosinofílica. Esta hipótesis queda avalada por **DESPOMMIER** *et al.* **(1974)**, al afirmar que

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

las inoculaciones parenterales con *T.spiralis* en ratas no producen aumento en los niveles de eosinófilos circulantes. Estos autores, administrando larvas vía oral e impidiendo posteriormente su evolución hasta adultos, al tratar con metiridina las fases evolutivas anteriores a éstos, observan la inexistencia de eosinofilia, hecho que no se produce cuando el tratamiento con esta droga se realizó tras la evolución del parásito a adulto. Sugieren pues, que el estado adulto de *Trichinella* sería el responsable de la eosinofilia, aunque concluyen que esta teoría no debe admitirse como totalmente esclarecida.

PINCUS *et al.* **(1986)**, estudiaron la eosinofilia en infestaciones primarias y secundarias en ratones infestados con *T.spiralis*. Observaron dos picos de eosinofilia periférica, el primero de ellos, en infestación primaria, apareció entre los días 5 y 9 pi y el segundo, entre los días 16 y 22 pi. En infestaciones secundarias el pico inicial fue más bajo y el segundo más alto y apareció antes.

El tratamiento con meteridina para eliminar adultos antes de que éstos produjeran larvas no alteró ni el curso de la eosinofilia en las infestaciones primarias ni la distribución bifásica de esta eosinofilia. Según ésto, concluyen estos autores, los adultos son los responsables de inducir la eosinofilia.

GROVE *et al.* **(1977 b)**, apuntan que, si bien los eosinófilos no influyen en la expulsión de los adultos, sí que pueden llegar a frenar la multiplicación o la migración de las formas parasitarias. En efecto, al inyectar a ratones recién infestados un suero antieosinofílico, el número de larvas detectado en su musculatura fue casi el doble del obtenido en animales a los que no se les aplicó este suero.

WASSON *et al.* **(1979)**, en concordancia con lo señalado por los autores anteriores, realizando estudios *in vitro*, comprobaron cómo en las larvas 1 se producen importantes alteraciones tras la adición de eosinófilos purificados. Este mecanismo de actuación lo califican como desconocido pero, sin embargo, intuyen la gran importancia que puede llegar a alcanzar, utilizado con fines terapeúticos, para ésta, y quizás también para otras

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

helmintosis.

Contrariamente a las teorías manifestadas por los autores ya citados, **MARTINEZ GOMEZ** *et al.* **(1985)**, destacan que la presentación de eosinofilia podría ser debida a una reacción inmunitaria. Esta reacción de tipo celular, inespecifica y de actuación inmediata, se establecería ante la presencia de sustancias procedentes de las larvas, durante sus fases tanto de migración como de penetración en las células musculares.

Por lo que respecta a estudios experimentales sobre herbívoros, la eosinofilia no es un signo clínico constante que haya sido observado por todos los autores consultados. Así, mientras **SOULE** *et al.* **(1989)** o **POLIDORI** *et al.* **(1989)**, comentan la presencia de eosinofilia en algunos de los caballos utilizados en sus respectivos trabajos, o **SMITH** *et al.* **(1990)**, sobre vacuno, a partir del día 7 pi, alcanzando su máximo valor alrededor del día 30 pi, por el contrario **TOMAŠOVIČOVÁ** *et al.* **(1991)**, durante el desarrollo de una infestación experimental en ovejas, indican que los valores permanecieron dentro de los límites fisiológicos.

En lo referente a otras células sanguíneas hay menos uniformidad en los valores expresados por los distintos autores, debido probablemente a las diferentes especies que han sido utilizadas como hospedadores.

CALERO *et al.* **(1982)**, sobre ratones infestados experimentalmente, observan una linfocitosis hacia el día 15 pi y neutrofilia entre los días 16 y 20 pi; sin embargo, estos animales no manifiestan variaciones en los porcentajes de monocitos y basófilos.

FRAYHA (1981), en su estudio de dos casos de trichinellosis clínica en humanos detectan un 56% de neutrófilos, 12% de linfocitos y un 3% de monocitos. **BORON** y **KLIMOVIC (1974)**, observan un incremento en el porcentaje de granulocitos en general durante la primera semana.

MARTINEZ-GOMEZ *et al.* **(1985)**, detectan en perros valores normales, o bien ligeramente descendidos en lo que se refiere a monocitos y neutrófilos señalando un incremento de linfocitos. Estos resultados no

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

concuerdan con los valores indicados por **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1980, 1981)** en ratones, en los que encuentran un número de linfocitos próximo al normal que desciende ligeramente sobre los días 15-20 pi y aumenta algo su porcentaje entre los 25-30 dpi.

Estos autores hallan, tanto en infestaciones puras por *T.spiralis*, como en infestaciones mixtas por ésta y *T.pseudospiralis* una considerable neutrofilia que alcanzó valores del 39%, esto es, un 10% más de los valores fisiológicos para esta especie animal. No obstante, las apreciaciones de **MARTINEZ-GOMEZ** *et al.* **(1985)** son coincidentes en su generalidad con las aportadas por **REINA** *et al.* **(1989 a)**, ya que éstos describen una clara neutropenia acompañada de una linfocitosis hasta del 24% en su experiencia de trichinellosis inducida de modo experimental en perros.

LARSH (1968), en cricetos y ratones, señala una linfopenia (39%) y una neutrofilia (54%) que revierten a la normalidad entre los 20-70 dpi. **CABAJ** *et al.* **(1979)**, indican las mismas alteraciones pero fijando su comienzo a los 19 dpi; simultáneamente a este proceso, los últimos autores indicados detectan una importante cantidad de macrófagos en sangre periférica. **BECK (1970)**, también en cricetos señala esta linfopenia, matizando que dicha alteración es observable entre la segunda y la quinta semana tras la infestación.

BOURÉE y **BADJAN (1989)**, observan una moderada elevación de los basófilos circulantes en ratas, tras la infestación con larvas de *T.spiralis*.

2.3.3.- BIOQUIMICA SERICA

2.3.3.1.- PROTEINAS TOTALES

Podemos citar el trabajo de **CHODERA** *et al.* **(1974)**, quienes detectan una notoria disminución en los valores proteicos de conejos, alcanzando niveles entre 3,4-6,2 g/dl al comienzo de la experiencia. Esta misma opinión la expresa **BOURÉE (1980)** en su trabajo en la especie

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

humana.

Igualmente **BOURÉE** y **BADJAN (1989)**, encuentran un descenso en los niveles de proteínas plasmáticas en ratas, disminución que se hace más evidente al aumentar la dosis infestiva, llegando a valores de 4,3 g/dl en el día 3 pi o 5,8 g/dl en el día 18 pi, en un grupo infestado con 2.000 larvas.

También **KOCIECKA (1981 b)**, observa un descenso en los niveles de proteínas totales en suero, mientras que **KOCIECKA** *et al.* **(1981)**, encuentran una significativa diferencia en las infestaciones por *T.spiralis* y *T.pseudospiralis*. Las proteínas totales en infestaciones por *T.spiralis* sufren un descenso en la 2ª-3ª semana, seguido de un incremento que no superó los niveles fisiológicos. Los animales infestados con *T.pseudospiralis*, por su parte, no mostraron ningún cambio en los niveles de proteínas plasmáticas.

MORENO *et al.* **(1985)**, en su trabajo sobre trichinellosis canina, detectan un incremento en los citados valores, llegando a alcanzar los 14,3 g/dl el día 6 pi. A partir de este momento, los valores descienden hasta niveles fisiológicos alcanzados alrededor de los días 9-16 pi. Por el contrario **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 b)**, manifiestan una ligera reducción durante los 8 primeros días de la experiencia, momento a partir del cual los valores proteicos tienden a estabilizarse hasta aproximadamente el día 40 pi, a partir del cual, las cifras aumentan ligeramente hasta alcanzar límites fisiológicos que se mantienen hasta el final de la experiencia.

LARSH (1968), afirma que en los análisis realizados en ratas, las proteínas totales del suero se incrementan, desde valores de 4,6-6,4 g/dl el día 0 de la experiencia, hasta cifras comprendidas entre 9,2-12,8 g/dl. Opinión similar a la expresada por **POLIDORI** *et al.* **(1989)** en su experimento en équidos.

Por último, tanto **READ (1970)** como **FRAYHA (1981)**, refiriéndose a ratas y humanos respectivamente, señalan la ausencia de alteración significativa en los valores de proteínas totales plasmáticas.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.3.3.2.- FRACCIONES PROTEICAS

En cuanto a la evolución de las diversas fracciones proteicas, parece existir bastante acuerdo entre la gran mayoría de autores consultados que abordan este tema.

BORON y KLIMOVIC (1974), expresan que el proteinograma en un estado agudo de trichinellosis muestra una hipoalbuminemia y una hipergammaglobulinemia que no decrece hasta las 8 semanas, tiempo de duración de su experiencia.

HERRERO ALONSO (1975), en su experiencia sobre trichinellosis en la rata blanca, observa las mismas alteraciones en cuanto a las fracciones proteicas, concretando que la bajada en la albúmina resultó ser de un 2,5% para los machos y un 3,5 para las hembras. Los niveles de globulinas sufrieron todos ellos un incremento, estimado en un 5-6% para las fracciones α, un 2-2,5% para las ß y un 0,5% para las γ . El cociente Albúmina-Globulina descendió desde 1,6 a un valor de 1,3.

KOCIECKA (1981 b), detecta, al igual que los autores anteriores, una disminución de la albúmina y un incremento en las fracciones globulínicas, especialmente las α y ß. También **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1978 a)**, en ratones infestados experimentalmente, están de acuerdo en la aparición de hipoalbuminemia, así como en el aumento de las fracciones α y γ , pero sin embargo observan una hipo ß-globulinemia.

STUMPF *et al.* **(1981)**, observan el incremento en las globulinas α_2 en un 75% de los pacientes humanos investigados, mostrándose las γ-globulinas elevadas en un 51% de los mismos. **BOURÉE (1980)**, indica un aumento en las α_1, α_2 y γ-globulinas, sin ofrecer más detalles al respecto.

VERNES *et al.***(1975)**, estudian las variaciones en las fracciones proteicas séricas de ratones "CBA" y ratas "Wistar", mediante electroforesis en acetato de celulosa e inmunodifusión radial. Tras las pruebas experimentales y la evaluación de los resultados, estos autores señalan una disminución significativa de las albúminas a partir del cuarto día

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

postinfestación, que se acentúa en el noveno dpi; paralelamente, se experimenta una hipergammaglobulinemia que se mantiene durante toda la experiencia, siendo las variaciones en α y ß-globulinas menos netas que las experimentadas en las γ-globulinas y aumentando ambas fracciones entre los 4 y 28 dpi. Citan, por último, que si todas las γ-globulinas se encuentran incrementadas desde el 7º día de la infestación, las IgG e IgA son las que alcanzan mayores valores manteniéndose éstos hasta el 4º mes postinfestación.

PAWLOWSKI (1983), establece dentro del grupo de desórdenes metabólicos producidos por un proceso de trichinellosis, la hipoalbuminemia. Esta, en casos graves, ocurre en la segunda semana, mientras que en otros casos no se manifiesta hasta la tercera semana tras la infestación, llegando a los valores más bajos durante la quinta y sexta semana pi. Ello sugiere que este descenso está relacionado con el proceso de crecimiento y enquistamiento de las larvas, ya que hay una demanda proteica y un cambio en el metabolismo del tejido muscular, opinión ésta manifestada también por **KASSUR** *et al.* **(1981)**.

En un proceso de trichinellosis canina experimental, **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 b)**, comprueban también una manifiesta hipoalbuminemia a partir de los 8-10 dpi hasta los 20 dpi, momento en el que los valores comienzan a aumentar alcanzando los límites fisiológicos, manteniéndose hasta los 66 dpi, en el que las cifras descienden nuevamente, presentando el mínimo valor al final de la experiencia (90 dpi). Paralelamente, las α y γ-globulinas no experimentan variaciones significativas, no así las ß-globulinas que mostraron un claro aumento a lo largo de la experiencia. El cociente albúmina-globulina, debido a estas variaciones, presentó un apreciable descenso, pasando de un rango entre 1,2-2,1 según animales y previamente a la infestación experimental, a 0,9-1,3 durante el proceso parasitario provocado.

Finalmente, apuntamos los trabajos realizados por **LARSH (1968)** y **READ (1970)**, sobre trichinellosis inducida tanto en conejos como en ratas. En el primero de los hospedadores, ambos autores detectan, a partir del séptimo dpi, una bajada en los niveles de albúmina del 62% al 46%

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

sobre las proteínas plasmáticas totales, alcanzando los niveles más bajos sobre el día 75 pi. Las γ-globulinas se incrementan entre un 14% y un 24%, a la vez que se produce el descenso de albúmina.

Junto a estas alteraciones observan una hiper α-globulinemia, pasando de un 13% hasta un 20% de las proteínas séricas totales, así como una hipo ß-globulinemia, descendiendo ligeramente desde un 11% a un 9,9%. A la vista de los resultados hallados, estos autores establecen una clara variación en el cociente albúmina-globulina, ya que descendió desde 1,6:1 hasta 0,8:1, volviendo a los 6,5 meses a alcanzar sus valores fisiológicos.

A excepción de lo descrito, estos autores, trabajando con ratas, comprueban que, a partir de la infestación, se puede detectar una elevación en el porcentaje de albúmina, que permanece hasta los 15 dpi, momento en el que comienza su descenso y se inicia el incremento de las γ-globulinas que permanece en estos valores hasta el día 25 pi. Por su parte, los niveles de α_1 , α_2 y ß-globulina se mantuvieron cercanos a los fisiológicos.

2.3.3.3.- GLUCOSA

En cuanto a los niveles de glucosa sérica, **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1977)** y **STEWART (1983 a)**, apuntan que debido a la malabsorción de nutrientes que se produce durante la fase enteral de *Trichinella*, proceso exacerbado en el caso de los hidratos de carbono y más concretamente de la glucosa, la glucemia disminuye durante la primera semana de infestación. Esta observación concuerda con la apuntada por **PAWLOWSKI (1983)**, que detecta una clara hipoglucemia en las infestaciones por *Trichinella*.

READ (1970), opina que el metabolismo de los hidratos de carbono puede estar ligeramente afectado en la trichinellosis y así, la glucemia detectada en perro, conejo y en la especie humana por este autor, es normal o algo más baja de lo normal, pero siempre con valores muy cercanos a los fisiológicos.

STEWART (1983 b), manifiesta que entre los 14 y 18 días

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

postinfestación, en los que se incrementa grandemente el glucógeno larvario, los niveles de glucosa sérica se mantienen dentro de los límites fisiológicos, estando esta opinión de acuerdo con la expresada por **HERRERO ALONSO (1975)**, el cual tampoco encuentra variaciones significativas en este parámetro.

REINA *et al.* **(1989 c)**, hablan de una clara hipoglucemia durante un proceso de trichinellosis experimental en perros. Este descenso en los niveles de glucosa plasmática, comienza a manifestarse en algunos animales desde los primeros días de la experiencia y se hace patente en todo el colectivo alrededor del día 10 pi, en el que ningún animal alcanza los 100 mg/dl de glucemia, situándose los valores obtenidos entre 86-94 mg/dl.

El día 14 pi la glucemia osciló entre los 64-94 mg/dl. Los valores más bajos de glucosa fueron observados a partir del día 70 pi con cantidades comprendidas entre los 31-62 mg/dl. Opinan estos autores que las lesiones producidas a nivel intestinal y hepático durante este proceso juegan un importante papel en el establecimiento de la hipoglucemia.

También **MORENO** *et al.* **(1985)**, en su trabajo sobre trichinellosis canina aportan datos sobre los niveles de glucosa sérica. Así entre los días 3 y 6 postinfestación observan hiperglucemia con un máximo de 254 mg/dl, y entre los días 9 y 16 pi los valores de glucosa llegaron a descender por debajo de los fisiológicos para la especie canina, con un mínimo de 23,5 mg/dl a los 16 dpi. Hacia el final de la experiencia (días 30-37), observan una tendencia a la normalidad.

En un intento de establecer las razones de estos cambios, opinan que la hiperglucemia de los primeros días puede deberse a la intoxicación intestinal o a la ligera fiebre producida durante esta fase, mientras que la hipoglucemia, coincidiendo con las opiniones manifestadas por **DESPOMMIER (1983)** y **REINA** *et al.* **(1989 c)**, puede estar ocasionada por los trastornos en la absorción intestinal, así como por los producidos en el hígado.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.3.3.4.- UREA

En cuanto a los trabajos que refieren los niveles plasmáticos de urea en los procesos trichinellósicos podemos citar los de **MORENO** *et al.* **(1985)** o los de **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1990)**, referidos a la especie canina. Los primeros autores indican la existencia de valores superiores a los normales, presentando un pico en el día 23 pi. Los otros autores, señalan un aumento en los niveles de urea durante los 5-10 primeros días. Entre los 12 y 16 días pi, estos niveles comienzan a descender y continúan en un lento y progresivo descenso hasta los 145 dpi, momento en el cuál los valores de urea vuelven a subir, hasta situarse entre los 175-183 dpi, en los niveles que tenían previos a la infestación.

HERRERO ALONSO (1975), sin embargo, no encuentra variaciones en este parámetro durante su experiencia con ratas blancas infestadas por *T.spiralis*.

2.3.3.5.- LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)

Según **GENTILINI** *et al.* **(1976)**, la liberación enzimática como consecuencia de la fase muscular en el ciclo evolutivo de *Trichinella*, se podía detectar mediante la valoración de la LDH en esta etapa del proceso de enfermedad. Los valores medios obtenidos para esta enzima por este autor fueron de 269 U/l, siendo sus límites de 121 y 587 U/l.

A este respecto **BOCZOŃ (1988)**, afirma que el incremento en los niveles séricos de LDH (iso-4 e iso-5), es indicativo de la presencia de trichinellosis. Los picos aparecen entre las 2-3 semanas de la infestación, en infestaciones severas, y en la 4ª semana en infestaciones moderadas.

URSELL *et al.* **(1984)**, en un estudio en humanos, observa un gran aumento de los niveles de LDH en suero, desde valores fisiológicos que oscilan entre 90 y 200 U/l hasta 2.480 U/l.

No tan grandes alteraciones, pero sí de significación positiva son las experimentadas por los niveles de LDH que recoge el trabajo de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

MURILLO VELARDE *et al.* **(1983)**, ya que, situando el límite superior de los valores normales en 250 U/l, obtiene valores de hasta 610 U/l.

GEORGIEVA *et al.* **(1980)**, infestan cobayas con dosis elevadas de *T.spiralis*, y detectan una elevación inicial de los niveles de LDH en suero, con un descenso posterior. Esta elevación se debe al incremento de la isoenzima LDH-5 hasta el día 30 postinfestación. Posteriormente comienza a descender, alcanzando los niveles mínimos varias horas antes de producirse la muerte.

Autores como **BOURÉE (1980)**, **STUMPF** *et al.* **(1981)**, o **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1985 a)**, realizan una ligera alusión a los niveles de LDH en suero de humanos y de ratones, existiendo unificación en sus criterios sobre la elevación de los valores plasmáticos de esta enzima. **STUMPF** *et al.*, concretan además que los niveles ascienden hasta 366 U/l en un 76% de los casos estudiados. También **BECK (1970)**, en cricetos, **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1988)** en perros, **SOULE** *et al.* **(1989)** y **POLIDORI** *et al.* **(1989)** en caballos, detectan un aumento en esta enzima.

NOVOSELSKA *et al.* **(1978)**, comprueban que los niveles séricos de LDH aumentan en comparación con los controles, mientras que en musculatura descienden durante los primeros 14-28 días. Sugieren que podrían explicarse estos hallazgos, bien por un descenso en la síntesis de enzimas, bien por un incremento en la permeabilidad de la membrana que provocaría un flujo de LDH hacia el torrente sanguíneo, o bien por ambas razones.

2.3.3.6.- CREATINQUINASA (CK)

Respecto a la enzima CK parece existir, al igual que con la LDH, un criterio común entre los autores que la estudian en el sentido de la elevación que sufren los niveles séricos de dicha enzima.

Comenta **PAWLOWSKI (1983)**, que el mayor incremento enzimático en un proceso de trichinellosis se produce en la CK, pudiendo alcanzar este incremento, a partir del día 18 pi, entre 2 y 150 veces el valor

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

fisiológico normal para la especie.

Autores como **FRAYHA (1981)**, **GENTILINI** *et al.* **(1976)**, **BOURÉE (1980)**, **MURILLO VELARDE** *et al.* **(1983)** o **PAWLOWSKI (1983)**, detectan la elevación de la CK en pacientes humanos.

URSELL *et al.* **(1984)**, encuentran la CK con un nivel de 100 U/l., cuando la normalidad se sitúa entre 0 y 50 U/l., mientras que **GENTILINI** *et al.* **(1976)**, encuentran valores entre 18 y 528 U/l., con una media de 86 U/l.. Estos hallazgos son muy similares a los obtenidos por **MURILLO VELARDE** *et al.* **(1983)**, que extraen de su experiencia valores comprendidos entre 65 y 575 U/l.

También **STUMPF** *et al.* **(1981)**, obtienen valores muy aproximados a los reseñados, observando un incremento en los niveles séricos de esta enzima en un 86% de los casos, con valores de hasta 232 U/l.

Podemos citar el trabajo de **STEWART (1983 a)**, que observa incrementos en los niveles séricos de CK hasta de 2,5 veces el valor fisiológico, o los trabajos de **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1988)**, que también observan un claro incremento de esta enzima durante la fase muscular del proceso desarrollado en perros.

STWART *et al.* **(1982)**, señalan un aumento de la CK cuando se evidencia la llegada de larvas a musculatura con la correspondiente presentación de miositis, datos citados igualmente por **TAKADA** *et al.* **(1985)**. Estos autores apuntan que el aumento de esta enzima se produce por el daño que el proceso provoca en la musculatura, lo cual induce seriamente a pensar en el papel de la miositis en las alteraciones de parámetros fisiopatológicos.

Por otro lado **GOMEZ CEREZO** *et al.* **(1989)**, sobre 10 pacientes humanos con trichinellosis, estudian la posible correlación entre las alteraciones electromiográficas y las alteraciones en la CK, encontrando que la electromiografía revelaba miopatías en todos los pacientes, y que los niveles de CK sólo estaban incrementados en 6 de ellos. Terminan

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

afirmando que la correlación entre estos dos test es baja.

Igualmente **POLIDORI** *et al.* **(1989)**, observa una elevación de esta enzima sobre los niveles fisiológicos en su estudio experimental en caballos, los cuales describen que la mayoría de las alteraciones séricas que venimos comentando ocurren entre las 4 y 9 semanas postinfestación. Estos autores postulan que los cambios en los parámentros bioquímicos señalados pueden ser debidos a lesiones musculares inflamatorias inducidas por la invasión de las larvas; también a mecanismos inmunes debidos a la infestación; a la inflamación del intestino delgado, particularmente del yeyuno y a la acción de otros factores no relacionados directamente con la infestación.

La excepción a todas estas referencias es la de **HERRERO ALONSO (1975)**, que manifiesta no haber encontrado variaciones significativas, tanto en los niveles de CK como en los de LDH, destacando la amplia dispersión de los valores obtenidos.

2.3.3.7.- ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST)

Esta enzima como indicativa de daño hepático o muscular, se encuentra alterada durante los procesos de trichinellosis, sufriendo, según la mayoría de autores consultados, un incremento en sus niveles plasmáticos.

El trabajo de **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1985 a)**, expresa una elevación en los niveles de AST tras trabajar con ratones experimentalmente infestados con larvas de *Trichinella*, pero sin indicar hasta dónde ascienden estos valores, al igual que **POLIDORI** *et al.* **(1989)**, en caballos.

READ (1970), BOURÉE (1980), FRAYHA (1981), STUMPF *et al.* **(1981), MURILLO VELARDE** *et al.* **(1983)** o **URSELL** *et al.* **(1985)**, señalan un incremento en los niveles séricos de AST, tras análisis realizados sobre casos humanos. Este incremento alcanza cifras de 400 U/l **(URSELL** *et al.*, **1984)**, de 100 U/l. **(FRAYHA, 1981)** o entre 32 y 156 U/l **(MURILLO VELARDE** *et al.*, **1983)**, situándose los valores normales en torno a las 40 U/l. **READ (1970)**, apunta que estos cambios se producen

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

durante las cuatro primeras semanas, para retornar a los valores fisiológicos alrededor de la séptima semana.

TOMAŠOVIČOVÁ *et al.* **(1991)**, estudian la actividad de la AST y ALT como indicadoras de daño muscular, en un proceso de trichinellosis experimental en ovejas, comprobando que el máximo valor en ambos parámetros fue alcanzado el día 19 pi, pero que durante toda la experiencia los niveles permanecieron dentro de los límites fisiológicos.

También **REINA (1987)**, **REINA** *et al.* **(1988)** y **REINA** *et al.* **(1992 b)**, hablan de las variaciones que esta enzima sufre durante la fase muscular de *T.spiralis* en perros, indicando que la AST duplica en algunos animales el valor previo a la infestación en el día 40 pi, descendiendo progresivamente hasta valores inferiores a los iniciales sobre los días 82-90 pi.

2.3.3.8.- ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT)

Aparte del trabajo de **TOMAŠOVIČOVÁ** *et al.* **(1991)** ya comentado, podemos citar los de **BOURÉE (1980)**, **STUMPF** *et al.* **(1981)** y **MURILLO-VELARDE** *et al.* **(1981)**, que comentan el incremento que la ALT presenta en la especie humana, citando **MURILLO-VELARDE** *et al.* valores entre 101 y 334 U/l, cuando los valores fisiológicos no sobrepasan las 45 U/l.

Por su parte, **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1992 b)**, observan que la ALT igualmente se ve incrementada en algunos perros experimentalmente infestados, sobre los días 5-8 pi en los que esta enzima llega a alcanzar niveles tres veces superiores a los iniciales. Con ligeras oscilaciones los valores se matienen altos hasta los 58-60 dpi, momento a partir del cual éstos descienden llegando incluso a ser inferiores a los previos a la infestación.

También **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1985 a)**, señalan este aumento en ratones convencionales y libres de gérmenes.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.3.3.9.- FOSFATASA ALCALINA

Son muy escasos los trabajos que hacen referencia a los niveles séricos de fosfatasa alcalina, de los cuales podemos destacar los de **BECK (1970), READ (1970), FRAYHA (1981), PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1985 a)** y **POLIDORI** *et al.* **(1989)**, en los que indican el aumento que sufre esta enzima en los procesos trichinellósicos. **FRAYHA (1981)**, comenta que, mientras los valores fisiológicos para esta enzima en la especie humana oscilan entre 20 y 85 μmol/min. y litro, los obtenidos en pacientes con *Trichinella* alcanzaron los 150 μmol/min. y litro.

Contrariamente a lo expresado por estos autores **BORGERS** *et al.* **(1975), REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1988)**, en perros, comprueban una tendencia al descenso en los niveles séricos de fosfatasa alcalina durante la primera semana, seguido por una ligera recuperación de los niveles, para posteriormente descender de nuevo, llegando, al final de la experiencia, a niveles inferiores a los detectados previamente a la infestación, apuntando en sus experimentos que dicho descenso puede deberse a un incremento de esta enzima en el hipertrofiado sistema "T" tubular (Retículo endoplásmico liso) que circunda interiormente al sarcolema. Dicha enzima jugaría un importante papel en el intercambio de moléculas a través de la célula muscular hospedadora, la cual nutre a la L1 de *T.spiralis* en ella instaurada.

2.3.3.10.- POTASIO

La mayoría de autores que hacen referencia a los niveles séricos de potasio en procesos trichinellósicos, indican un descenso en dichos niveles, asociado con alteraciones cardíacas. Así, **CHODERA** *et al.* **(1974)** o **LE MERCIER** *et al.* **(1977)**, en conejos y humanos respectivamente comprueban hipocaliemia y junto a ella alteraciones electrocardiográficas. **PAWLOWSKI (1983)**, coincide con la opinión dada por estos autores y al igual que **CHODERA** *et al.* comprueba la normalización del electrocardiograma y con él, de la funcionalidad cardíaca, tras la inyección de iones potasio.

También **REINA (1987)**, encuentra alteración en los niveles de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

potasio, manifestada por una disminución de la caliemia, seguida por un aumento de la misma hacia el final de la experiencia.

Opinión diferente expresan **HERRERO ALONSO (1975)** y **POLIDORI** *et al.* **(1989)**, ya que si bien observan alteración en los niveles plasmáticos de potasio, esta alteración es contraria a la detectada por los autores anteriores, denotando un incremento en los niveles séricos de este elemento, que aunque no importante, sí resultó estadísticamente significativo, en la experiencia de **HERRERO ALONSO (1975)**

2.3.3.11.- HIERRO

Respecto a los valores de hierro, **THEODOROPOULOS** y **GREVE (1986)**, expresan que en principio no se observan cambios en el hierro sérico, así como tampoco en la capacidad de los cerdos infestados para captar este mineral. En estos animales, se observó a su vez, un descenso en los niveles hepáticos de hierro y un aumento en los niveles esplénicos, mientras que en animales infestados e inoculados con hierro se encontraron aumentados los niveles tanto hepáticos como esplénicos.

Una evolución distinta a la descrita con respecto al hierro sérico la manifiesta **REINA (1987)**, para la especie canina, quien detecta un considerable aumento de la sideremia desde los primeros días postinfestación hasta los 20-22 días, fecha en la que los niveles descienden hasta valores normales, manteniéndose éstos hasta el final de la experiencia (90 días).

2.3.3.12.- OTROS PARAMETROS BIOQUIMICOS

Realmente son muy escasos los trabajos que citen la evolución de otros parámetros bioquímicos a parte de los ya referidos.

REINA (1987) completa, su trabajo experimental en perros con el estudio de otros elementos séricos además de los ya mencionados como son Magnesio, Calcio, Fósforo, Fosfatasa ácida, Bilirrubina, Creatinina y Sodio.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Comenta este autor que durante la experiencia no encontró alteración significativa en los niveles de Fósforo, Bilirrubina o Fostatasa ácida.

La Creatinina experimentó un incremento durante los 10 primeros días de la infestación en prácticamente todos los animales, incremento comprendido entre 0,07 y 0,36 mg/dl, a partir del día 12 y hasta el final de la experiencia la creatinina sérica alcanza valores inferiores a los que los mismos animales mostraron antes de la infestación. Igualmente **POLIDORI** *et al.* **(1989)**, detectan esta tendencia en su experimento en caballos.

Con respecto al Sodio, indica que coincidiendo con la llegada de las larvas a la musculatura (días 16-20-22), los valores séricos descienden entre 11,9 y 27,7 mEq/l. A partir del día 26 pi, los niveles de sodio se incrementan en la totalidad de animales. Así, sobre este día, el rango de valores hallados oscila entre 114,5 y 157,8 mEq/l, siendo a partir del día 66 cuando los niveles llegan a exceder el límite superior de los valores fisiológicos de la especie, llegando incluso a 173,6 mEq/l el día 77 pi.

El Magnesio sufre a partir del día 16 pi un ligero incremento en algunos animales, que se ve generalizado en todo el colectivo a partir de los días 26-28 pi, alcanzando valores hasta el final de la experiencia que, si bien no superan los límites fisiológicos propios de la especie, sí son significativamente superiores a los que este colectivo tenía antes de la infestación.

Finalmente y refiriéndose a los niveles séricos de Calcio, comprueba una clara hipocalcemia, que comienza a evidenciarse en algunos de los animales a partir del día 16 pi, alcanzando cifras de 4,4-7,9 mEq/l, cuando los niveles previos a la infestación eran de 10,2-14,4 mEq/l. Opinión contraria a ésta la expresan **BOURÉE** y **BADJANG (1989)**, que sin especificar los días en que acontece, indican que el incremento en la calcemia es proporcional a la dosis infestante, apuntando que obtuvieron los cifras mayores en el grupo inoculado con 2.000 larvas de *T.spiralis*, que en los grupos de ratas inoculados con 200 ó 1.000 larvas.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.3.4.- ANALITICA EN ORINA

FRAYHA (1981), revela en humana la presencia de elementos celulares en orina, así como una ligera proteinuria, alcanzando ésta un nivel de 240 mg/dl. También en algún caso observó la presencia de leucocitos y eritrocitos.

Contraria opinión expresa **BOURÉE (1980)**, al exponer que la orina extraída de personas con procesos trichinellósicos no contiene albúmina, mientras que, en la misma línea, el resto de parámetros no presentan alteraciones de consideración.

LARSH (1968), señala en cricetos la existencia de una poliuria inicial que dura tres semanas, a partir de las cuales desciende hasta llegar a la oliguria. También señala una reducción en la excreción de creatinina, posiblemente debida a la rotura del catabolismo tisular o incluso a la patología originada en el tejido muscular.

Sobre la excreción de creatina, **READ (1970)**, señala que los cricetos manifiestan un incremento en la excreción de ácido úrico y creatina entre los 7 y 17 días postinfestación, manteniéndose elevada entre los 30 y 60 dpi, mientras que se manifiesta de acuerdo con **LARSH (1968)**, sobre el detrimento en la excreción de creatinina.

ROGERS (1942), expone que la excreción de urea y nitrógeno total en ratas infestadas con *Trichinella* se incrementa inmediatamente tras la infestación, posteriormente declina, para aumentar de nuevo alrededor de los 13 dpi.

Finalmente **REINA (1987)**, concluye que los procesos ocasionados por *Trichinella*, cursan con la presencia de diferentes cantidades de proteínas en orina, que para el caso de los perros utilizados en su experimentación no sobrepasaron los 30 mg/dl, alteración corroborada histopatológicamente al observar cilindros hialinos en la luz de los túbulos renales.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.4.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

Según **WEATHERLY (1983)**, *Trichinella spiralis* tienen unas peculiaridades que pueden acentuar la dificultad de la interpretación de las alteraciones histopatológicas que produce, ya que se trata de un organismo complejo con una cutícula externa relativamente resistente, que cumple durante su ciclo evolutivo una fase de emigración y ofrece diferentes métodos de alimentación según se trate de preadultos, adultos, larvas recién nacidas o larvas enquistadas. Todos estos factores afectan a la naturaleza de la enfermedad y muchos de ellos no están totalmente conocidos.

Comenzaremos revisando el efecto de *Trichinella* sobre los órganos por los que tiene predilección durante su ciclo biológico, como son aparato digestivo y tejido muscular estriado, haciendo finalmente mención a otros órganos que pueden verse afectados como consecuencia de las migraciones que realiza el parásito.

2.4.1.- APARATO DIGESTIVO

2.4.1.1.- ESTOMAGO

GOULD (1970 a), describe que fueron observadas hemorragias y erosiones en la mucosa gástrica de conejos infestados con larvas de *Trichinella*, conejos que murieron como consecuencia de la infestación experimental, no encontrándose adultos en esa localización. **GURSCH (1949)**, sí describe la presencia de adultos en estómago de ratas que habían sido infestadas 15-16 días antes con 5.000 larvas, considerando que esta presencia puede ser debida a un retorno desde el intestino. En general, la mayoría de las más recientes revisiones sobre trichinellosis no mencionan el desarrollo de larvas o adultos en el estómago.

2.4.1.2.- INTESTINO DELGADO

En el intestino delgado es donde se produce, en la mayoría de especies hospedadoras, el asentamiento de las larvas 1 recién liberadas. En

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

esta localización y macroscópicamente, se observa un proceso de inflamación (enteritis) (**RACE** *et al.*, **1974; WEATHERLY, 1983**). Como consecuencia de la penetración de larvas infestantes en la mucosa se producen úlceras diminutas, hiperemia, petequias en serosa, edema a lo largo de todo el tracto intestinal, excesiva secreción mucosa e incluso débiles hemorragias (**WEATHERLY, 1983; CASTRO** y **BULLICK, 1983**).

En ratones Swiss **RACE** *et al.* (**1974**), encontraron, tras el establecimiento de unos 150-300 adultos, la presencia de un ligero infiltrado celular intestinal y de un incremento de células plasmáticas y linfocitos.

Los mismos autores, a los 6 dpi observaron una suave reacción inflamatoria con aglomeración focal de un moderado número de células plasmáticas, eosinófilos, neutrófilos y linfocitos en ratones no inmunodeprimidos (**RACE** *et al.*, **1974**). Esta reacción se acentúa especialmente sobre el día 10 postinfestación, mostrando el tejido una considerable infiltración celular con hasta un 50% de eosinófilos y una reacción mucosa muy apreciable.

A partir de este momento y coincidiendo con la eliminación de adultos, día 14 pi, comienza una inflamación que puede ir de subaguda a crónica. A partir del día 22 postinfestación, cuando la gran mayoría de los parásitos han sido eliminados, la reacción tisular diminuye gradualmente, quedando sólo una discreta inflamación en la que predominan linfocitos y células plasmáticas sobre neutrófilos y eosinófilos. Esto nos indica la existencia de una inflamación de tipo crónico.

En un continuo descenso inflamatorio, al día 16 pi, los niveles de células plasmáticas y linfocitos se normalizan y a los 40 dpi se reestablece la arquitectura normal de la mucosa intestinal. En los animales sensibilizados esta reconstrucción comienza algunos días antes, sobre el 36 dpi (**RACE** *et al.*, **1978**).

La histopatología del intestino delgado es indéntica en ratones inmunizados o no con la sola diferencia de su cronología, ya que en los

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

primeros todas las fases se realizan con mayor celeridad (**RACE** *et al.*, **1978**). Así, la inflamación en este tipo de animales comienza a las 24 horas pi, alcanzando su máximo nivel entre los 4 y 8 dpi. En esta fecha comienza la expulsión de adultos, disminuyendo la inflamación, que se mantiene de una forma moderada hasta el 15 dpi, y reestableciéndose definitivamente la arquitectura intestinal sobre el día 36 pi.

Estos autores afirman que los animales de experimentación que mejor desarrollan respuesta inflamatoria entérica, son aquellos en los que se produce un proceso de sensibilización o inmunización y no se someten a inmunodepresión. En los inmunodeprimidos, tras un tratamiento involutivo de áreas timodependientes, no se observa respuesta inflamatoria alguna, permaneciendo los parásitos hasta el día 38 en las células intestinales. Este hecho explica, a su vez, la dependencia tímica de la expulsión.

PRZYJALKOWSKI y **PYKALO (1988)**, estudiaron las alteraciones histopatológicas producidas en intestino delgado en ratones CV y GF (convencionales y libres de gérmenes), en infestaciones simples y mixtas con *T.spiralis* y *T.pseudospiralis*. En estos experimentos la mayor reacción a nivel intestinal se produjo en ratones CV infestados con *T.spiralis* entre los días 10-15 pi.

En la mucosa intestinal observaron infiltraciones de monocitos y focos con numerosos leucocitos, la mayoría eosinófilos y menos neutrófilos. También fueron observados abcesos intranodulares formados por concentraciones de leucocitos en la luz y fondo de las criptas glandulares, encontrando también adultos en la luz intestinal. Entre los días 15 y 20 pi en estos ratones el número e intensidad de las infiltraciones disminuyó y sobre el día 25 pi la membrana mucosa presentó una arquitectura normal.

En ratones GF sobre el día 10 pi se desarrolló un infiltrado celular similar al observado en ratones CV pero con mucha menos intensidad, no apareciendo los abcesos intranodulares. En ratones CV infestados con *T.spiralis* y *T.pseudospiralis*, entre los días 10 y 15 pi, aparecieron numerosos focos de monocitos y leucocitos en intestino, observándose también en este grupo los llamados por ellos abcesos intranodulares. En

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

ratones GF esta infestación mixta provocó sólo algunos focos de leucocitos en intestino.

El proceso originado en el intestino, según **BOURÉE (1980)**, es una inflamación catarral con engrosamiento de la mucosa y pequeñas hemorragias.

En ratas infestadas, según **LEONARD** y **BEAHM (1941)** cit. **WEATHERLY (1983)**, se encuentra una copiosa secreción de mucus y células, la mayoría de ellas polimorfonucleares. La reacción de la mucosa varía entre una descamación superficial moderada y una intensa inflamación intersticial. A veces, según los mismos autores, puede producirse colapsamiento de glándulas y degeneración en células mucosas.

En submucosa pueden observarse varios grados de inflamación, desde una ligera hiperemia con infiltración de piocitos, hasta una intensa infiltración de polimorfonucleares. Según **CASTRO** y **BULLICK (1983)**, se produce un aumento de enterocitos, así como de la secreción de mucus, creyéndose que se trata de una inflamación de naturaleza catarral.

En muscular de la mucosa se evidencian cambios similares, pero en niveles decrecientes desde la luz hacia el interior. Según **CASTRO** y **BULLICK (1983)**, se produce un fuerte cambio en la túnica muscular, ya que aumenta de grosor, no conociéndose bien si este cambio es debido a edema, hiperplasia o hipertrofia, pero sabiendo que se instaura a los pocos días tras la infestación (3-7). Concluyen que en reinfestaciones, las alteraciones observadas son siempre mucho menores.

ISMAIL y **TANNER (1972)** y **WILCKES** *et al.* **(1984)**, encuentran una fuerte infiltración eosinofílica en las primeras porciones del intestino delgado, aproximadamente a los 6 dpi; estos eosinófilos nunca se encontraron alrededor de los parásitos. Concluyen estos autores que la infiltración eosinofílica no está relacionada con la respuesta inflamatoria general, ya que ésta comienza a observarse el día 6 pi, y en los días 10-12 pi, experimenta su punto álgido; la respuesta eosinofílica, en ese momento, se encuentra notoriamente descendida.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

DUNN *et al.* **(1985)**, no encuentran eosinófilos en contacto con el nematodo, pero sí asociados a células dañadas de la mucosa, por lo que su actividad debe relacionarse más con células muertas que con el propio parásito. Igualmente la respuesta eosinofílica es siempre anterior a la respuesta inflamatoria general entérica, ya que se observan estos elementos formes a los 8 horas pi en la luz intestinal.

KARMANSKA (1981), en un estudio sobre los eosinófilos en diferentes tejidos de ratones infestados con *T.spiralis*, observaron a nivel de yeyuno que los animales no infestados mostraron un número de eosinófilos por mm^2 que oscilaba sobre los 13, valor que no se vió incrementado tras los primeros días de observación en los animales infestados. Sin embargo, el valor fue incrementándose desde el sexto día, cuando se detectaron 33 eosinófilos/mm^2, mostrando el nivel más alto (199/mm^2) el día 16 pi, decreciendo sobre el día 18 a la mitad aproximadamente.

En un estudio en conejo **TANNER (1968)**, no observa, contrariamente a lo descrito por los anteriores autores, eosinofilia en el tejido intestinal de estos animales.

Por su parte, **RUITENBERG** y **ELGERSMA (1980 a)** y **RUITENBERG** *et al.* **(1979, 1980 b)**, en sus estudios sobre cinética de leucocitos en el epitelio intestinal, observan una notable proliferación de mastocitos y leucocitos en la mucosa intestinal, relacionando la intensidad de estos aumentos con el grado de infestación. Estas poblaciones son independientes, concluyen **RUITENBERG** y **ELGERSMA**.

Los mastocitos se distribuyen uniformemente a través del estroma de las vellosidades, mientras que los leucocitos migran a través de la membrana epitelial, situándose primeramente en las criptas intestinales y base de las vellosidades, y posteriormente en una posición intermedia en estas últimas. Esta proliferación se observa desde el día 7 pi hasta el día 18 pi, con valores máximos los días 13 y 17 pi, siendo siempre mayor la proliferación de leucocitos que la de mastocitos.

RICHARDSON *et al.* **(1974)**, **MANSON-SMITH** *et al.* **(1978)**,

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

TEPPEMA *et al.* **(1981)** y **DUNN** *et al.* **(1985)**, estudian la respuesta histopatológica de la fase intestinal de *T.spiralis* en ratones, observando grandes cambios respecto a animales no infestados. Así, la mucosa se presenta muy achatada y con poca profundidad de la cripta, debido a la pérdida de la zona apical de la vellosidad. A este hecho se suma la hiperplasia sufrida por las criptas, descrita por **MANSON-SMITH** *et al.* **(1978)**. Todo lo cual redunda en una menor longitud de la superficie de absorción de la mucosa intestinal **(CASTRO** y **BULLICK, 1983)**.

Este descenso de la superficie llega a producir un fenómeno de malabsorción intestinal de nutrientes, sobre todo de glucosa, cuyo descenso plasmático, acentuado por el incremento de la absorción de este azúcar por parte de los estadios enterales de *T.spiralis*, **(STEWART** *et al.*, **1986)**, puede ocasionar una pérdida de peso del hospedador. Este proceso comienza el día 4 pi, tiene su máximo entre los días 10 y 12 pi y permanece durante la segunda semana pi, comenzando una fase de restablecimiento entre los 16 dpi y la 3ª semana, coincidiendo, a su vez, con la expulsión de los adultos.

Además del acortamiento de las vellosidades y la hiperplasia de las criptas, se originan procesos de fusión de estas cortas vellosidades a lo largo de algunos tramos de la superficie mucosa, lo que hace que la luz intestinal de los animales infestados sea mucho más grande **(WEARTHERLY, 1983)**.

CATTY (1969), aporta que en cobayas el daño debido a la invasión de la mucosa intestinal y los movimientos de larvas y adultos en ella, puede llegar a provocar necrosis tisular. En **1990 RENIER** *et al.*, describen el proceso de necrosis intestinal como una complicación de un proceso de trichinellosis en una paciente humana.

Otra de las lesiones que pueden evidenciarse en la fase entérica de la infestación por *Trichinella*, es el incremento notorio de las placas de Peyer, como apuntan **SINSKI** *et al.* **(1983)** al infestar ratones albinos con 200 larvas de *T.spiralis*.

Igualmente, **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1992 a)**, evidencian

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

hiperplasia e hipertrofia de placas de Peyer en perros infestados con *T.spiralis*, junto con procesos descamativos de la mucosa a nivel de duodeno, lesiones que generalmente van acompañadas, en la porción yeyunal, por un aumento de células caliciformes, configurando una enteritis catarral y la presencia en algunos de los animales de un proceso granulomatoso con abundantes esinófilos en mucosa y submucosa. A partir de los 26 dpi, las lesiones histopatológicas que encuentran son similares a las anteriormente descritas, haciéndose más notoria la hiperplasia de placas de Peyer, observada hasta los 60 dpi, siendo en esta última fase mucho menor el proceso descamativo. A partir de esta fecha comienza la regeneración de la víscera.

Estos cambios ocurren en todo el intestino delgado, pero fundamentalmente y con mayor intensidad en las primeras porciones (**CASTRO** y **BULLICK, 1983**). Junto a ellos, también se producen cambios en las células intestinales. Así, mientras que los animales controles presentan unas células cilíndricas propias de este epitelio con gran cantidad de citoplasma, las células de animales infestados se muestran achatadas, con apariencia cúbica y con mucho menos espacio citoplásmico (**WEATHERLY, 1983**), presentando en ocasiones picnosis nuclear (**DUNN** *et al.* **1985**).

Debido al proceso de instauración en su nicho intramulticelular, se produce fusión de las células del epitelio intestinal, convirtiéndose este conjunto en una estructura de tipo sincitial. **DUNN** *et al.* (**1985**), afirman que pueden verse células multinucleadas libres en la luz intestinal, tratándose posiblemente de células previamente ocupadas por nematodos.

LARSH y **RACE** (**1975**), unifican las hipótesis que relacionan la histopatología en el intestino con la expulsión de adultos del tracto intestinal de sus hospedadores. En este intento se concluye que hay una asociación clara entre los grados de infestación y la sensibilidad del hospedador con el tiempo e intensidad de la inflamación, así como una correspondencia entre la expulsión de los adultos y la remisión del proceso entérico. Igualmente afirman que la respuesta inflamatoria no sólo se produce por la acción mecánica del parásito sobre las células y tejidos, sino también por una

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

respuesta celular inmune de hipersensibilidad de tipo tardío.

Sobre el origen de esta respuesta, **EVRANOVA** y **EVRANOVA (1974)** señalan que gran parte de los procesos alterativos, morfológicos y funcionales acontecidos en la pared intestinal, son debidos a un efecto tóxico provocado por las larvas.

2.4.1.3.- INTESTINO GRUESO

En cuanto a la histopatología en el intestino grueso, pocos trabajos acometen los cambios acontecidos en esta zona del tubo digestivo. Según **WEATHERLY (1983)**, los cambios quizás sean similares a los que ocurren en el intestino delgado, aunque mucho más leves, debido al escaso número de parásitos que asientan en estos territorios. Concluye **WEATHERLY** que no existen estudios microscópicos sobre estos cambios en el intestino grueso.

2.4.2.- TEJIDO MUSCULAR ESQUELETICO

Algunos autores como **BOURÉE (1980)** o **PAWLOWSKI (1983)**, hablan de alteraciones macrocópicas describiendo los músculos como edematosos y flexibles, con cambio del color normal del músculo afectado en un rango entre rojo grisáceo hasta marrón rojizo. Durante la quinta semana postinfestación el músculo manifiesta pequeñas estriaciones grisáceas, que tras 2-3 meses pi cambian a pequeñas motas blanquecinas.

Este moteado blanquecino se incrementa tras los 6-18 meses pi, cuando las larvas enquistadas se calcifican. **GOULD (1970 a)**, describe los múculos tras la infestación por *Trichinella* como correosos y duros. Contrariamente a estas opiniones **REINA (1987)**, no encuentra en su experiencia ninguna alteración macroscópica ni en cuanto a la consistencia ni a la coloración de la musculatura.

Microscópicamente, las alteraciones que se producen en el músculo afectado son muy significativas, coincidiendo la mayoría de autores en la

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

presencia de un proceso inflamatorio granulomatoso. Así, **GOULD (1970 b)**, describe degeneración hialina, degeneración hidrópica, inflamación intersticial e incremento del número de núcleos de la célula. Como consecuencia de este proceso inflamatorio, gran número de larvas son destruidas. Se produce, así mismo, una rotura de capilares con las consiguientes pequeñas hemorragias y acumulaciones de polimorfonucleares, linfocitos y un tejido histiocitario presente en los espacios conectivos intersticiales.

REINA (1987) y **REINA** *et al.* **(1988)**, observan un proceso granulomatoso a partir del día 8 pi, y que se hace más evidente a partir del día 25 pi. Dicho proceso lo definen como miositis granulomatosa. Estos granulomas están representados por un centro rico en células histiocitarias, rodeado de una corona de células linfocitarias, cuyo límite con las células musculares adyacentes, es bastante impreciso. En estos granulomas se hallan también células gigantes localizadas preferentemente en la zona central.

Similares observaciones apuntan **BLOTNA-FILIPIAK** *et al.* **(1980)**, al infestar ratones Swiss con *T.spiralis* y *T.pseudospiralis*, observando en primer lugar que se origina una inflamación más intensa que cuando se infesta con una especie sola, con la aparición, a partir de la cuarta semana, de numerosos linfocitos. Puede observarse que la aparición de este infiltrado es más tardío que en las infestaciones por *T.spiralis* solamente, ya que, si bien en la infestación mixta pueden existir larvas en musculatura desde los 10 dpi, no es hasta el día 25 pi cuando se produce una fuerte infestación muscular, con lo cual el proceso inflamatorio e infiltrativo se retrasa.

BECK (1970), manifiesta que en cricetos esta miositis es observable desde el día 14 pi, manteniéndose de forma moderada entre los 26 y 40 dpi.

Por su parte **FRÖSCHER** *et al.* **(1982)**, estudiando cinco pacientes humanos que habían sufrido infestaciones por *Trichinella* entre 16 y 35 años atrás observan, además de síntomas neurológicos, dolores musculares de tipo crónico y notables focos inflamatorios o de miositis.

DRACHMAN y **TUNCHAY (1965)**, comentan que tanto el daño en

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

la fibra muscular como el infiltrado inflamatorio se incrementa grandemente después del día 20 pi. A su vez, se observa una perivasculitis prominente con acúmulos intersticiales de polimorfonucleares y linfocitos. Apuntan estos autores que a los 25 dpi la inflamación perivascular es menos evidente, y hay menor acúmulo de células inflamatorias; a los 32 dpi algunos quistes se encuentran totalmente libres de tejido inflamatorio circundante, mientras que otros aún tienen infiltrados inflamatorios focales.

Las publicaciones de **GABRYEL** *et al.* **(1967, 1969, 1970 y 1978)**, sobre los cambios morfológicos que se producen en el músculo están en buena medida en concordancia con lo expresado por los autores anteriores; así describen que, incluso 1 ó 2 días antes de la invasión de la fibra muscular, puede presentarse una reacción celular inflamatoria, y la llamada transformación basofílica focal del músculo, sin la cual, la larva no puede desarrollarse y muere.

Esta transformación no es más que una marcada basofilia citoplasmática que rodea a la larva, pero que también puede aparecer en ausencia de ésta. Según apuntan dichos autores la degeneración basofílica puede extenderse hacia fibras vecinas. Por ello en los primeros estadios la cantidad de fibras transformadas basofílicamente es mucho más numerosa que la cantidad de larvas encontradas en ella.

GUTOWSKA *et al.* **(1969)**, estudian también los cambios producidos en la fibra, definidos como degeneración basofílica. Según estos autores existe desde una gradual desintegración de las miofibrillas hasta una obliteración de la estructura fibrilar estriada, con incremento de su afinidad por los colorantes básicos. Todos estos cambios en la fibra son interpretados como una reacción del hospedador ante una hipotética sustancia segregada por el parásito, de ahí que puedan comenzar incluso antes de la llegada de las larvas a musculatura.

Esta basofilia típica, rodeando a la larva y en fibras ausentes de parasitación, es también observada por **GUTOWSKA** *et al.* **(1980)**, entre los 10 y 14 días tras la infestación de ratas Wistar con *T.pseudospiralis*, detectando que no son considerables las diferencias de acción patógena de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

cada especie de *Trichinella* sobre distintos hospedadores.

Por otra parte **PRZYJALKOWSKI** y **PYKALO (1988)**, comparan las alteraciones histopatológicas musculares en ratones CV y GF tanto en infestaciones simples como mixtas con *T.spiralis* y *T.pseudospiralis*, indicando que el único hecho común en la fase muscular fue la transformación basofílica de las fibras musculares tanto en ratones CV como GF en las tres formas de infestación.

WEATHERLY (1983), en ratones CBA, coincidiendo con **GUTOWSKA** *et al.* **(1980)**, observa los primeros cambios en el diafragma sobre el día 10 pi, y en el músculo gastronemio sobre el día 15. En este tiempo comienzan a observarse discretos focos de inflamación, con un exudado de células inflamatorias compuesto por eosinófilos, neutrófilos, linfocitos y macrófagos, no encontrando normalmente células plasmáticas.

El número de eosinófilos desciende a partir del día 30 pi, si bien los valores se mantienen por encima de los normales hasta el día 50 pi.

GROVE *et al.* **(1977 a)**, señalan el hallazgo en ratones Swiss hembras de un marcado infiltrado muscular a las 4 semanas pi, que persiste a las 8 semanas, mostrando un descenso considerable entre las 14 y 40 semanas.

PURKENSON *et al.* **(1974)**, afirman que la célula infestada es rodeada primeramente por fibroblastos y capilares, observándose también algunas células inmunocompetentes cercanas a la célula hospedadora. Describen también la presencia de una matriz acelular que separa la parte no parasitada de la célula hospedadora de la porción parasitada, apareciendo una zona fibrosa cercana a esta última que es sintentizada por la célula durante los primeros estadios de la infestación muscular.

El incremento en la vascularización de las fibras afectadas, **(PURKENSON** *et al.*, **1974)**, fue ya observado en **1952** por **HUMES** y **AKERS**, al estudiar histológicamente los músculos humanos y de ratón en la necropsia, y de cricetos mediante biopsia, incluso antes de que se

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

produjese el encapsulamiento. No se conoce totalmente la razón de este fenómeno, que puede deberse a la dilatación de los vasos existentes y a la formación de nuevos vasos, la mayoría capilares, como respuesta del endotelio vascular capilar. **LARSH (1968)**, apunta que este proceso puede comenzar sobre el día 9 pi, y prorrogarse hasta 280 días.

STEWART *et al.* **(1982)**, concluyen que la miositis trichinellósica comienza en el diafragma alrededor de los 13 dpi, elevándose frecuentemente hasta el día 24 pi y comenzando a declinar entre éste y el día 30 pi. Estas observaciones son totalmente coincidentes con las expresadas por **WEATHERLY (1983)** y notablemente similares a las expuestas por **PROKOPOWICZ** *et al.* **(1983)**, que observa fuertes reacciones granulocíticas a partir del día 10 pi. En el interior de este infiltrado leucocitario pueden encontrarse con relativa frecuencia larvas 1 de *Trichinella*.

Al mismo tiempo que comienza el proceso de encapsulamiento se inicia la disminución del proceso inflamatorio. Tras la formación de los quistes se puede observar en la periferia células gigantes tipo Langhans. Con frecuencia **(WEATHERLY, 1983)**, las células gigantes se ven asociadas a fibras musculares, conteniendo larvas muertas que no están encapsuladas. En algunas circunstancias, pocas semanas después de la infestación se observan gruesas células concentradas en los polos del quiste, así como acúmulos grasos **(BOURÉE, 1980)**.

2.4.3.- OTROS TEJIDOS

En este apartado incluimos las alteraciones histopatológicas de aquellos otros órganos, tejidos o cavidades que pueden verse afectados de alguna manera, tanto por el paso de las larvas como por la acción de sustancias químicas producidas por ellas.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.4.3.1.- MUSCULATURA CARDIACA

En músculo cardíaco también se presentan alteraciones dignas de mención. **WEATHERLY (1983)**, observa un proceso degenerativo, con alteraciones de la coloración que van desde amarillo pálido hasta marrón rojizo. También son frecuentes los granulomas intersticiales compuestos por neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, macrófagos e histiocitos, observación confirmada por gran cantidad de autores entre los que podemos citar a **GABRYEL** *et al.* **(1970), LE MERCIER** *et al.* **(1977), KASSUR** *et al.* **(1981), PARKER** *et al.* **(1984), URSELL** *et al.* **(1984)** o **REINA (1987)**, entre otros. En sus trabajos detectan la presencia de una miocarditis, que es una de las complicaciones más frecuentes en cualquier proceso trichinellósico, y que **PAWLOWSKI (1983)**, define como miocarditis eosinofílica.

En este proceso puede observarse el mencionado infiltrado inflamatorio en todo el miocardio, tanto perivascular como intersticial difuso. Además, este último autor declara la presencia de miofibrillas reducidas e hipercromáticas y finalmente, procesos de miocitolisis que pudieran llegar a necrosis tisular, no observándose en ningún momento presencia de larvas.

BERNARD y **SUDAK (1960)**, apuntan que, la infestación por *T.spiralis* produce en el miocardio de todos los animales susceptibles a esta parasitación similares alteraciones en cuanto a morfología celular, organización tisular, e incluso fisiología cardíaca, alteraciones que prontamente vuelven a la normalidad al no encapsularse las larvas en este tejido. Apunta **PAWLOWSKI (1983)**, que la miocarditis es un proceso frecuente sobre todo entre las 4ª y 8ª semana pi, apareciendo normalmente cuando los síntomas generales han cesado y han comenzado a remitir los musculares, constituyendo una recaída que puede llevar a la muerte de las personas.

WEATHERLY (1983), cita que la cavidad pericárdica puede observarse con tintes hemorrágicos o con fluido de color amarillento, en el cual pueden evidenciarse larvas 1. Tanto el pericardo como el epicardio se encuentran hiperémicos, pudiendo presentar granulomas intersticiales

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

compuestos por neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, macrófagos e histiocitos. Estos granulomas se presentan también con frecuencia en el endocardio, pudiendo hallarse en buen número de ocasiones extravasaciones hemorrágicas en esta capa endocárdica.

REINA (1987), encuentra edemas perivasculares en perros sacrificados a los 5 dpi, y focos de micro hemorragias a los 8 dpi sin embargo, estas lesiones no las conceptúa como importantes, ni por su intensidad, ni por su extensión.

Contrariamente a estas descripciones **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)**, afirman no encontrar lesiones, ni siquiera signo alguno de reacción orgánica en estos territorios.

2.4.3.2.- HIGADO

REINA (1987) y **REINA** *et al.* **(1989 c)**, respecto al cuadro lesional observado en el hígado indican que el parénquima hepático muestra básicamente dos procesos histopatológicos: degeneración glucogénica y presencia de granulomas de pequeño tamaño dispersos por la totalidad del parénquima, granulomas constituidos principalmente por histiocitos y eosinófilos. No observan estos autores aumento del tamaño de la víscera en ningún momento.

MIKHAIL *et al.* **(1978)**, describen en el día 4 pi lesiones hepáticas en ratas infestadas con *T.spiralis*. En este día el tracto portal presenta vías de migración de larvas, mostrando una densa infiltración linfocitaria proporcional al nivel de la infestación. Hacia el décimo día el parénquima muestra áreas de gruesa degeneración focal y de necrosis, que posteriormente evolucionan en proceso de regeneración, con la aparición de zonas de fibrosis.

PAMBUCCIAN y **CIRONEAU (1961)**, describen áreas hiperémicas, a veces de gran intensidad, observando al igual que **BECK (1970)**, un aumento de tamaño del órgano.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Gran similitud existe entre estas descripciones y las realizadas por **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)**, que también observan procesos infiltrativos tanto linfocitarios como de polimorfonucleares y macrófagos, ocupando las áreas portales y los acinis glandulares. También describen estos autores los procesos degenerativos y de necrosis sufridos en el parénquima, concretamente en los hepatocitos. Comentan que la reacción inflamatoria aumenta entre los 3 y 60 días, decreciendo gradualmente hasta los 8-10 meses. Finalmente definen la inflamación producida como una hepatitis reactiva no específica.

A estos trabajo debemos unir la aportación de **EVRANOVA** y **EVRANOVA (1974)**, que apuntan la fuerte influencia tóxica de la larva, provocando cambios morfológicos y alteraciones en los procesos metabólicos. Igualmente **REINA (1987)**, manifiesta esta opinión acerca de la influencia tóxica de las larvas de *Trichinella*, a la que este autor atribuye las alteraciones vasculares observadas en perros infestados con *T.spiralis*.

2.4.3.3.- RIÑON

GABRYEL *et al.* **(1981 a)**, **SITPRIJA** *et al.* **(1980)** y **WEATHERLY (1983)**, describen como proceso lesional típico en la trichinellosis una glomerulonefritis mesangio-proliferativa, con incremento de células mesangiales, aumento de su matriz y penetración de aquéllas en la luz de los capilares. **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)**, opinan que los primeros signos de este proceso comienzan sobre el 3° día postinfestación, llegando a ser muy intensos sobre el 60 dpi, y manteniéndose aún a los 8-10 meses pi. **SITPRIJA** *et al.* **(1980)**, observan depósitos de inmunoglobulinas en el área mesangial. Se producen depósitos de material hialino en la pared arteriolar, no observándose cambios en el intersticio tubular.

También pueden observarse hemorragias focales e infartos **(WEATHERLY, 1983)**. Este mismo autor concluye que todas estas lesiones pueden tener su origen en la invasión de un pequeño número de larvas, o bien en un proceso inmunitario de tipo sensitivo debido a inmunocomplejos.

REINA (1987) y **REINA** *et al.* **(1990)**, además de glomerulonefritis

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

mesangio-proliferativa observa la presencia de cilindros hialinos y celulares en la luz de los túbulos, posiblemente como consecuencia del paso de inmunoglobulinas o inmunocomplejos al espacio glomerular, y posteriormente a los túbulos. Indica este autor también, la presencia de edemas intertubulares, y de una nefritis intersticial crónica.

TODOROVA *et al.* **(1988, 1990)**, confirman el papel de los inmunocomplejos en la patogénesis de las alteraciones renales en los procesos trichinellósicos. Describen estos autores el desarrollo de una glomerulonefritis proliferativa en ratas infestadas con *Trichinella*, siendo ésta mucho más severa entre los días 30 y 50 pi, coincidiendo con los máximos niveles de inmunocomplejos circulantes. Mediante técnicas de inmunofluorescencia detectan depósitos de inmunocomplejos en la zona glomerular principalmente en membrana basal y mesangio, alcanzando el máximo de fluorescencia a los 56 dpi.

2.4.3.4.- BAZO Y GANGLIOS LINFATICOS

GABRYEL *et al.* **(1981 a)**, observan hinchazón y engrosamiento esplénico entre los días 13 y 60 pi, opinión compartida por **WEATHERLY (1983)** y **TAKADA** *et al.* **(1985)**. Según estos últimos también es posible la presencia de zonas hiperémicas. **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)**, describen folículos linfoides muy alargados y con marcados centros blásticos. Posteriormente se observa un detrimento en el tamaño de la víscera, comenzando a normalizarse todas las estructuras de este órgano.

Estos autores coinciden en que estas alteraciones se deben al proceso inflamatorio general producido en el organismo infestado, así como a un proceso de tipo inmunitario desencadenado en el hospedador durante la infestación.

REINA (1987), detecta la presencia de un bazo de éstasis sobre el 8º día tras la infestación, mostrando la existencia de una esplenitis hiperplásica. En el mismo estudio y sobre gánglios linfáticos observa una activa hiperemia, constatando un aumento del número de nódulos linfáticos a nivel de corteza, los cuales estaban constituidos por una zona central

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

amplia, representada por células histiocitarias y linfoblásticas, y una corona delgada de linfocitos, dicha corona estaba relacionada con el tejido linfoide internodular, constituyendo un cuadro típico de linfoadenitis hiperplásica. A nivel medular encuentra nódulos linfáticos muy pequeños pero con amplia zona germinativa, constituyendo la lesión más importante a este nivel la descamación de células reticulares con abundancia de linfocitos encontrada en los senos linfáticos medulares.

FAUBERT y **TANNER (1974)**, tras infestar 60 ratones Swiss con 100 larvas/animal, estudian los gánglios linfáticos mesentéricos, braquiales e ilíacos, encontrando un incremento de tamaño de estos gánglios durante el curso de la infestación. Esta alteración es la única descrita por **BOURÉE (1980)**, que la cita como tumefacción de gánglios mesentéricos.

Los gánglios mesentéricos incrementan su tamaño rápidamente, concretando el día 7 pi, como el primero en el que se observa este aumento y presentando el máximo el día 30 pi. Los braquiales e ilíacos posteriormente aparecen infartados, permaneciendo esta hipertrofia también por más tiempo, observándose aún incrementados hasta el día 90 pi.

Los gánglios de ratones infestados muestran lesiones tanto en el centro germinal como en la zona paracortical, siendo significativo que dichas lesiones aparecen con la hipertrofia ganglionar, desapareciendo paulatinamente cuando ésta remite. Opinan, finalmente, estos autores que este fenómeno no es dosis-dependiente.

2.4.3.5.- PULMON

Ya en **1904**, **OPIE**, según cita **WEATHERLY (1983)**, observó focos hemorrágicos en el pulmón de cobayas a la cuarta semana de su infestación, denotándose la presencia de fibrina, leucocitos y ligeras granulaciones eosinófilas acumuladas en la periferia de dichos focos. Al tiempo, describe dilatación de los capilares alveolares con engrosamiento de sus paredes, así como un trasudado hemorrágico desde los alveolos, presentando éstos un epitelio descamado y con tejido fibroso de reemplazamiento. En el centro de estos nódulos fibrosos los eosinófilos se

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

encuentran en gran cantidad, llegando a describir este autor un tejido con una coloración rojiza casi homogénea.

También, y citando a **ASKANAZY, WEATHERLY (1983)**, describe, en conejos infestados, hemorragias diseminadas debajo de la pleura y en pulmones, detectando, como **OPIE**, focos hemorrágicos en pequeños bronquios y grupos de alveolos. Estos focos hemorrágicos son debidos, posiblemente, a la rotura de capilares alveolares a causa de las obstrucciones provocadas por las larvas en estas localizaciones **(GOULD, 1970 a y b)**.

URSELL *et al.* **(1984)**, describen sinópticamente la presencia de un claro edema pulmonar y un proceso broconeumónico en las infestaciones por *Trichinella* en la especie humana, coincidiendo sus afirmaciones con las apuntadas por **BOURÉE (1980)** y **KASSUR** *et al.* **(1981)**.

Por su parte **PAWLOWSKI (1983)**, describe la presencia de infiltraciones focales en la base de los pulmones, que pueden producir reacción pleural o bien un síndrome pulmonar de graves consecuencias.

Finalmente **REINA (1987)**, describe como lesión más significativa la que se produce en el parénquima pulmonar alrededor del día 26 pi, caracterizada por un infiltrado celular interseptal, representado por histiocitos y algunos linfocitos, lo que da lugar a la presentación de la consiguiente neumonitis. Este infiltrado se acompaña de cierto edema perivascular, especialmente a nivel de arteriolas. Así mismo, el infiltrado provoca un colapsamiento de la cavidad alveolar, observando amplias áreas atelectásicas.

2.4.3.6.- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

WEATHERLY (1983), al igual que **PAWLOWSKI (1983)**, citan la presencia de encefalitis y meningoencefalitis en infestaciones graves en humana, pudiendo observarse larvas en el fluído cerebroespinal, lesiones similares a las descritas por **BECK (1970)** en cobayas.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Microscópicamente el tejido cerebral se encuentra edematoso e hiperémico, pudiendo observarse hemorragias tanto corticales como medulares (**URSELL** *et al.*, **1984; REINA, 1987**), llegando a detectar los primeros autores infartos en la corteza cerebral, así como zonas isquémicas rodeadas por halos hiperémicos hasta hemorrágicos. Lesión similar es detectada por **WEATHERLY (1983)**, al hablar de zonas de necrosis central, rodeadas de tejido infiltrativo granulomatoso.

Continúa **WEATHERLY** describiendo la existencia de infiltrados perivasculares compuestos de linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, fibroblastos y células plasmáticas, que pueden distribuirse de forma difusa por todo el parénquima del órgano cerebral. Según este mismo autor, son detectables con notoria frecuencia astrocitos y células de la microglía, opinión también compartida por **REINA (1987)**.

PARKER *et al.* **(1984); URSELL** *et al.* **(1984)** y **REINA (1987)**, describen las lesiones detectadas como una involución general del sistema nervioso central.

Por el contrario, **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)**, no detectan ningún cambio en el cerebro, manifestación similar a la realizada por **KASSUR** *et al.* **(1981)**, al expresar que el S.N.C. raramente se encuentra involucionado.

Estas lesiones producidas en cerebro se atribuyen a la presencia de las larvas y su metabolismo, y no al efecto de toxinas producidas por el parásito.

En cuanto a la médula ósea, ningún autor consultado describe lesiones a este nivel, apuntando únicamente **FOLDES (1953)**, la presencia en la especie humana de larvas en esa localización.

Según **WEATHERLY (1983)**, se han observado larvas en prácticamente todos los órganos, tejidos o fluidos corporales, tales como páncreas, placenta, glándula mamaria, cavidades pleural y peritoneal, orina, leche, bilis e incluso piel.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.5.- ESTUDIO INMUNOLOGICO: METODO ELISA

Desde los trabajos de **GOULD (1945 y 1952)** o **LARSH (1968)**, en los que se estudia la estructura antigénica, respuesta inmunitaria, etc., muchos son los artículos que refieren aspectos inmunológicos en las parasitaciones por *T.spiralis*.

Los métodos de detección de *Trichinella* en sus organismos hospedadores, han pasado por distintas etapas a lo largo de su historia. En el estudio inmunológico de la trichinellosis muchas técnicas han sido probadas, desde aglutinaciones con latex o bentonita, hasta las técnicas de precipitación circunlarval o de fijación de complemento.

Con la introducción de los marcadores, como el isotiocianato de fluoresceína o la peroxidasa para las técnicas de inmunofluorescencia o ELISA respectivamente, la sensibilidad diagnóstica ha aumentado grandemente (**RUITENBERG** *et al.*, **1983**).

Las técnicas inmunoenzimáticas son, en general, consideradas las más sensibles de todas, capaces de detectar infestaciones inferiores a 1 LPG (**GAMBLE** y **MURRELL, 1987**). Su sensibilidad puede ser de 10^5 a 10^6 veces superior a las técnicas de precipitación (**LJUNGSTRÖM, 1983**).

Sólo es comparable con la que posee el radioinmunoensayo, pero no participa de los inconvenientes de éste (**SANCHEZ VIZCAINO** y **CAMBRA ALVAREZ, 1981**). Es por esto que centraremos nuestra revisión en la técnica ELISA (Enzyme Linked Inmunosorbent Assay), toda vez que éste ha sido el método empleado por nosotros en nuestra experimentación.

En los trabajos consultados, parece existir cierto acuerdo a la hora de manifestar la prontitud con la que esta técnica detecta la presencia de anticuerpos en suero en los procesos por *Trichinella*.

LARSH (1968), señala que los anticuerpos séricos se pueden detectar por el método ELISA a partir de los 14 dpi, indicando, además,

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

que la concentración de anticuerpos es directamente proporcional a la dosis infestante. La misma cronología en la aparición y capacidad de detección de anticuerpos es manifestada por **LJUNGSTÖM (1974)**, **RUITENBERG** y **VAN KNAPEN (1977 b)**, **RAPIC (1980)**, **KOCIECKA (1981 b)**, **VAN KNAPEN** *et al.* **(1976 b y 1981 b)** y **TAKADA** *et al.* **(1985)**, que establecen dicha aparición entre los 10 y 11 dpi. Por su parte **SERRANO (1991)** y **NAVARRETE** *et al.* **(1991)**, detectan una clara respuesta serológica a partir del día 16 pi.

KOCIECKA (1981 b), indica además que el aumento de anticuerpos está íntimamente relacionado con la elevación del número de eosinófilos presentes en sangre.

BOURÉE (1980), marca un retraso en la aparición de la serología positiva, que detecta a la 3ª semana trás la infestación de los animales.

Otros autores como **KAZURA (1982)** y **VAN KNAPEN** *et al.* **(1981 a y 1984 a)**, establecen que la aparición de anticuerpos en suero se produce con posterioridad, citando el primero de ellos que ésta detección, en ratones, se produce a la 4ª semana de la infestación.

VAN KNAPEN *et al.* **(1984 a)**, señalan que, en el caso de infestaciones con pequeñas dosis de inóculo los anticuerpos tardan considerablemente en aparecer, aumentándose así mismo el tiempo en el que se incrementan sus niveles plasmáticos.

Así, en cerdos infestados con 150 larvas/animal las inmunoglobulinas no alcanzan niveles detectables hasta las 4 semanas, pero tan sólo en porcentajes del 5-6%. En el caso de infestaciones con 50 larvas/animal, la detección no es efectiva hasta las 12 semanas. Sin embargo, en infestaciones con 1.500 larvas/animal la seroconversión se detectó a partir del día 17 pi, alcanzando a los 28 dpi porcentajes de positividad del 75-85%.

Esta relación dosis/seroconversión es señalada igualmente por **GAMBLE** *et al.* **(1983)**, los cuales demuestran diferencias apreciables en la detección de anticuerpos en sangre entre animales infestados con 500 y

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

10.000 larvas.

En el mismo sentido se manifiesta **SERRANO (1991)** y **NAVARRETE** *et al.* **(1991)**, apuntando que dichas diferencias se manifiestan fundamentalmente según el número de larvas musculares establecidas, el cual no siempre guarda una relación directa con la dosis infestante.

RUITENBERG *et al.* **(1974)**, tras la experiencia realizada en cerdos a los que infestan con 5.000 larvas/animal, indican que el momento de la detección por ELISA de anticuerpos específicos se produce el día 3 pi, dato que no concuerda con los referidos hasta el momento, y que nos demuestra la sensibilidad de esta técnica.

Respecto a la evolución de los niveles de anticuerpos en sangre, **KAZURA (1982)**, citando a **CRANDALL** y **CRANDALL (1972)**, señala que los niveles más altos de anticuerpos se detectaron en la especie humana entre las 4 y 7 semanas desde el establecimiento de la enfermedad, no declinando estos niveles hasta los 2-3 meses. Señala este autor que el 25% de los sujetos objeto de este estudio muestran anticuerpos dos años después de haber superado el proceso agudo.

LJUGSTRÖM (1974), señala que el máximo nivel de anticuerpos en la especie humana ocurre entre las 4 y 7 semanas siguientes a la instauración de los síntomas clínicos, descendiendo estos niveles transcurridos dos o tres meses a partir de la aparición de los picos de elevación. A los 12 meses el 50-80% de los sueros de los pacientes presentan aún títulos positivos. Este porcentaje desciende al 20%, en 5 de los 25 pacientes estudiados, a los dos años de aparición de la enfermedad.

A este respecto **NAVARRETE** *et al.* **(1991)**, aprecian el mismo nivel de anticuerpos sobre el día 34 pi, manteniéndose en niveles muy altos al menos hasta el 82 dpi.

La persistencia de los distintos tipos de Ig en el hombre parece estar en relación con la gravedad de la infestación. En términos generales, las Ig

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

aparecen dos o tres semanas después de la aparición de los síntomas y tras un aumento durante uno o dos meses, descienden levemente durante varios meses. La IgG persiste incluso uno o dos años, la IgM persiste entre unos cuatro meses y un año y la IgA se presenta durante unos tres meses, salvo en casos graves (**LJUGSTRÖM, 1974; VAN KNAPEN *et al.*, 1982; LJUNGSTRÖM *et al.*, 1989**).

RAPIC (1980), en su trabajo llevado a cabo en cerdos naturalmente infestados con objeto de comprobar la fiabilidad y sensibilidad de la técnica ELISA, indica que a los 14 dpi ya pueden aparecer niveles detectables de anticuerpos. Señala que a los 28 dpi todos los animales fueron positivos, alcanzándose los títulos más altos a los 49 dpi.

En perro **REINA *et al.* (1987)**, citan una gran precocidad en la respuesta serológica detectable mediante un sistema micro-ELISA indirecto, detectando títulos positivos durante más de seis meses tras la infestación con *T.spiralis*.

SMITH y **SNOWDON (1987 b)**, infestando tres équidos con 1.000, 5.000 y 25.000 larvas de *T.s.spiralis*, obtienen resultados positivos a los 24 dpi con las dosis más altas, resultándoles con densidad óptica (DO) negativa, con las más bajas.

Otros trabajos detectan la respuesta de *Trichinella spp.* a las dos semanas en équidos, y tras unos valores máximos hacia los dos meses, los anticuerpos pueden desaparecer a las 20-40 semanas, cuando aún existen larvas viables en musculatura (**SOULE *et al.*, 1989; POLIDORI *et al.*, 1989**) especialmente con *T.s.nativa*, que produce resultados negativos, aunque sólo en infestaciones leves con menos de 10 LPG (**SOULE *et al.*, 1989**).

TOMAŠOVIČOVÁ *et al.* (1991), en un estudio de trichinellosis experimental en ovejas, encuentran anticuerpos anti-*Trichinella* mediante la técnica de aglutinación en látex, con títulos 1:8 y 1:32 a los 11 dpi, alcanzando los máximos títulos de 1:256 a los 35 dpi, alrededor del día 50 pi, estos valores decrecen hasta 1:64, permaneciendo así hasta el final de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

la experiencia. En este mismo estudio y utilizando el método ELISA determinan a los 11 dpi títulos de 1:50, siendo el máximo observado de 1:1600 a los 35 dpi, en un animal infestado con 7000 larvas de *T.spiralis*. Esta rápida producción de anticuerpos y los títulos alcanzados fue proporcional a la dosis infestiva y al número de larvas musculares halladas en la necropsia.

En el estudio experimental realizado con porcinos blancos e ibéricos, por convenio del equipo de parasitología de la Universidad de Extremadura y el Ministerio de Sanidad y Consumo y la Consejería de Sanidad de la Junta de Extremadura, con el objeto de llevar a cabo la estandarización del método ELISA indirecto con vistas a ser reproducido en un futuro en condiciones de matadero, siguiendo las recomendaciones de la C.E.E. y la O.M.S. a través de la Oficina Europea (Dres. Mantovani, Papasopoulos y Scorziello), asesores de dicho proyecto, **SERRANO (1991)** y **NAVARRETE *et al.* (1991)**, demuestran que la sensibilidad de la técnica ELISA, empleando dosis infestantes de 50-250 larvas/Kg p.v., es muy similar sea cual sea el origen del antígeno empleado, incluso cuando se ensayan mezclas antigénicas.

No obstante, sin diferencias estadísticamente significativas, los mejores resultados fueron obtenidos con un antígeno integrado a partes iguales (1/3 + 1/3 + 1/3) por tres aislamientos hispanos de diverso origen y encuadrados por **POZIO *et al.* (1989 a y b)**, en la población denominada *Trichinella spiralis sensu stricto*.

Igualmente evidencian la bondad del método ELISA al comprobar densidades ópticas elevadas tras 14-15 meses postinfestación, fecha en la cual se aprecia una drástica reducción de los niveles de parasitación muscular.

Otro aspecto a tener en cuenta es la influencia de otras parasitosis en la seroconversión evidenciada. **NAVARRETE *et al.* (1991)**, demuestran que la presencia de *Ascaris suun* y especialmente *Ascarops strongylina*, tiene una leve influencia en los valores de DO, indicando que no es suficiente para provocar reacciones falsamente positivas, siempre que el

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

límite diagnóstico se establezca correctamente.

LJUNGSTRÖM *et al.* **(1974)** indican que los resultados obtenidos con el método ELISA son similares a los obtenidos por hemaglutinación pasiva o inmunofluorescencia indirecta, indicando no obstante la mayor sensibilidad del método que nos ocupa, que además presenta ventajas tanto cualitativas como cuantitativas.

RUITENBERG *et al.* **(1983)**, comentan que las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y ELISA proporcionan definitivamente los datos más fiables para cualquier ensayo epidemiológico sobre *Trichinella.*

Similar opinión expresan **STUMPF** *et al.* **(1981)**, tras probar diferentes técnicas serológicas para el diagnóstico y detección de *Trichinella.* Así la aglutinación con latex ofrece en su experiencia sólo un 20,5% de positividad sobre casos conocidos de parasitación. La fijación de complemento obtiene un 22,7% de positividad, coincidiendo solamente el 50% de los positivos entre una y otra prueba. La técnica de inmunodifusión en gel de agar ofrece unos porcentajes de positividad notablemente mayores, ya que detecta un 79% de los casos positivos. Dentro de las técnicas que estos autores consideran con nivel aceptable para el diagnóstico de *Trichinella*, se citan la hemaglutinación indirecta, la inmunofluorescencia indirecta, la microprecipitación circunlarval y la técnica ELISA, con fiabilidades del 86, 94, 98 y 100% respectivamente.

Finalmente queremos concretar las conclusiones que **VAN KNAPEN** y colaboradores **(1980, 1981 b, y 1984 a)**, obtienen en distintos trabajos realizados en diferentes paises de la C.E.E., para comprobar la sensibilidad y fiabilidad de la técnica ELISA frente a otros métodos serológicos y directos de diagnóstico en cerdo. En los dos primeros se comparan los resultados obtenidos por la técnica ELISA frente a los obtenidos por triquinoscopia, digestión e IFI, y en el de 1984, únicamente frente a los dos métodos directos de control. Las conclusiones extraídas fueron las siguientes:

- Las técnicas serológicas ofrecen como resultado un mayor

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

porcentaje de positividad que los métodos directos.

- En cerdos infestados con escaso número de larvas, los métodos serológicos se distancian aún más de los directos en cuanto a porcentaje de positividad se refiere.

- Durante los primeros días de infestación, el método ELISA es el único capaz de detectarla o al menos el que mayor sensibilidad ofrece para la detección de bajos niveles de anticuerpos circulantes.

- La persistencia de los anticuerpos puede demostrarse con ELISA durante más tiempo que con IFI.

- Una vez detectada la seroconversión por IFI y ELISA, la fiabilidad de ambas técnicas es semejante.

- El método de micro-ELISA ofrece aún mayor sensibilidad que la misma prueba realizada en tubo (macro-ELISA).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

MATERIAL Y METODOS

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.- MATERIAL Y METODOS

3.1.- HOSPEDADORES. ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Como animales de experimentación hemos utilizado 12 cabritos (7 machos y 5 hembras), variedad majorera pertenecientes a la Agrupación Caprina Canaria.

Los animales procedían de un lote homogéneo de cabras lecheras que fueron sincronizadas mediante un tratamiento a base de progestativos vehiculizados en esponjas vaginales.

Los animales fueron desparasitados con ivermectina a razón de 0,2 mg/kg de peso a los 30 días de su nacimiento.

El estado clínico fue comprobado continuamente mediante la observación de los animales y la correspondiente analítica de sangre y heces hasta el comienzo de la experiencia, hecho que se produce cuando los animales contaban 2 meses de edad y un peso vivo medio de 10 kg.

3.2.- ALOJAMIENTO

Los animales se mantienten durante toda la experiencia en un habitáculo especialmente preparado en las dependencias de la Facultad de Veterinaria de Las Palmas de Gran Canaria, anulando, prácticamente, los riesgos de infección o infestación.

En todo momento se extreman las medidas higiénicas y de limpieza del hábitat de nuestros animales, quedando así el alojamiento en adecuadas condiciones para el desarrollo de la experiencia.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.3.- ALIMENTACION

Los animales fueron alimentados con lacto-reemplazante comercial. La leche reconstituída se distribuyó con tetina en dos tomas diarias hasta los 30 días de edad, y en una toma diaria hasta el destete a los 45 días.

A partir de los 15 días de edad dispusieron, además del lacto-reemplazante, de pienso y paja picada *ad libitum*. Tras el destete y hasta el sacrificio, los cabritos se alimentaron de la misma manera, suprimiendo el lacto-reemplazante.

La composición del pienso era: 50% maíz, 20% torta de soja, 25% de salvado y 5% de corrector vitamínico-mineral. Este pienso aportaba 1 UFL/Kg, 120 g. PDI/Kg, 10 g. Ca/Kg, 4 g. P/Kg y 5 g. sal/Kg.

3.4.- PARASITOS

La experiencia se ha realizado utilizando como material infestante un aislado sinantrópico de *T.spiralis*, denominado "LASO", obtenido de cerdo doméstico en Ciudad Real y mantenido en ratón en laboratorio. Este aislado, poseía conocidas características y buen asentamiento en cuantos animales se ha administrado. Ha sido tipificado según las normas de la I.C.T. (International Comission on Trichinellosis), como T1 (**POZIO *et al.*, 1989**).

Esta cepa fue mantenida en el laboratorio mediante pases en ratón "Swiss NBC", que proporcionaron una concentración suficiente de larvas 1 infestantes.

Las dosis administradas via oral en los primeros pases, mediante intubación, fueron de 500-600 larvas por ratón, en una concentración de 100 larvas por 0,15 cc., suministrando un volumen total de inóculo entre 0,75 y 0,90 cc.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Pasadas 6 semanas de la infestación y tras el sacrificio se procede a la obtención de su tejido muscular.

Con la trituración de este tejido se obtiene una escasa y homogénea cantidad del mismo, que se somete a digestión artificial ácido-pépsica, con objeto de conocer la cantidad de larvas por gramo existentes en la musculatura del ratón. Tras comprobar que la parasitación de todos los ratones es similar, se prepara como inóculo la cantidad de músculo necesaria para conseguir el número de larvas establecido.

3.5.- DOSIS INFESTANTE

Una vez obtenido el inóculo a partir de tejido muscular parasitado de ratones tipo Swiss NBC, se procedió al cálculo de la cantidad del mismo necesaria para infestar a cada animal. Estableciéndose como dosis infestante 1000 larvas/Kg de p.v. Dicha dosis se diseña como intermedia entre la disparidad de larvas/g de p.v. que la bibliografía aporta para las infestaciones experimentales. Así por ejemplo, **MARTINEZ-GOMEZ (1974)**, señala como inóculo adecuado para carnívoros 6,5±0,5 larvas por gramo (6.000-7.000 larvas/Kg de p.v.), mientras que **TOMAŠVIČOVÁ *et al.* (1991)**, en su trabajo experimental en ovino señalan una administración de 107-212 larvas/g de p.v., lo que hace un total de 3.000 a 7.000 larvas por ovino adulto de 28-33,8 kg de peso vivo.

3.6.- MEDIOS INSTRUMENTALES

3.6.1.- MICROSCOPIA OPTICA

-Microscopio estereoscópico NIKON SMZ-2 con sistema episcópico y diascópico de iluminación.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

-Microscopio estereoscópico NIKON SMZ-10 con fuente de luz fría de iluminación episcópica y lámparas halógenas para iluminación diascópica.

-Microscopio de ultragrancampo NIKON-OPTIPHOT.

-Microscopio NIKON-OPTIPHOT de contraste interferencial de Nomarsky.

Todos ellos con sistema automático de fotografía NIKON-HFK-II.

3.6.2.- HISTOLOGICOS

-Procesador de tejidos SHANDON DUPLEX-PROCESSOR.

-Dispensador de parafina SELECTA DISPENSER 496.

-Microtomo LEITZ Mod. 1512.

-Baño termostático de recogida de cortes SELECTA Mod. 101932.

3.6.3.- ANALISIS Y OTROS MEDIOS DE LABORATORIO

-Balanza electrónica de precisión AND, Mod. FX-320.

-Estufa SELECTA Mod. 210.

-Agitador orbital BRAUN CERTOMAT-R.

-Cabina de incubación BRAUN CERTOMAT-HK.

-Digestor artificial TRICHOMATIC 35. Type 10500

-Analizador hematológico semi-automatizado COULTER COUNTER

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

CBC5.

-Analizador automático de bioquímica HITACHI 717 (Boehringer Mannheim).

-Arcón congelador -80°C. KOTERMANN Mod. 2621.

-Centrífuga refrigerada JOUAN BR 3.11.

-Microcentrífuga ALC. Mod. 4204.

-Centrífuga ORTO Mod. TORNAX.

-Centrífuga de eppendorf ALC micro CENTRIFUGETTE 4204.

-Cubeta de electroforesis S-60 A/N de ATOM.

-Alimentador de electroforesis BIO-RAD 1000/500.

-Fotodensitómetro para electroforesis ATOM-434.

-Placas micro-ELISA de poliestireno BIOREBA, INOTECH.

-Microlavador de placas TITERTEK MICROPLATE WASHER 120 Flow lab.

-Lector de placas de ELISA BIO-TEK EIA READER, EL 307.

-Pipetas automáticas monocanales de varios volúmenes TRANSFERPETTE, GILSON y MENARINI y multicanales TITERTEK, MENARINI y EPPENDORF.

-Arcón congelador JOUAN VX-350.

-Autoclave con microprocesador PENTA 30 L.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

-Peachímetro METEOR Mod. 996.

-Reactivos: Kitts de Laboratorios Boheringer Mannheim, Menarini y Atom.

3.7.- DISEÑO EXPERIMENTAL

3.7.1.- INFESTACION

El tejido muscular infestado se suministró a los cabritos mediante sonda esofágica y tras un día de ayuno con objeto de facilitar el proceso de infestación.

3.7.2.- DESARROLLO DE LA EXPERIENCIA

Para el desarrollo experimental dividimos nuestro trabajo en tres etapas o fases, para las que dispusimos los animales en diferentes lotes.

-1ª Fase: **INTESTINAL** (días 1-7 postinfestación)

nº animales: 2 (lote nº 1)

objetivo: Estudio de la enfermedad en la fase intestinal del parásito.

observación clínica y toma de muestras (sangre): diaria

sacrificio: días 5 y 7 postinfestación.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

-2ª Fase: **EMIGRACION** (días 7-30 postinfestación)

nº animales: 2 (lote nº 2)

objetivo: Estudio de la enfermedad en la fase de emigración de larvas 1

observación clínica y toma de muestras (sangre): cada 3 días

sacrificio: días 20 y 30 postinfestación.

-3ª Fase: **MUSCULAR** (días 30-90 postinfestación)

nº animales: 4 (lote nº 3)

objetivo: Estudio de la enfermedad en la fase muscular del parásito (larva 1)

observación clínica y toma de muestras (sangre): semanal

sacrificio: días 45, 60 y 90 postinfestación. Un animal de este lote murió el día 23 postinfestación.

-Un 4º lote formado por dos animales se utilizó como lote testigo durante toda la experiencia, realizándose la observación clínica, así como la toma de muestras con la misma periodicidad reseñada en las distintas fases. El sacrificio de estos animales se realizó los días 20 y 90 postinfestación, al objeto de disponer de testigos histopatológicos una vez superada la fase de emigración y llegadas algunas larvas a músculo (día 20 pi) y al final de la experiencia, momento en el que todo el daño tisular posible se ha debido realizar.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

-Dos animales (lote nº 5) se utilizaron para comprobar la posibilidad de un aumento en la respuesta orgánica a la infestación por *Trichinella* cuando al animal se le provoca previamente una inmunosupresión, para ello, a este lote durante los 4 días previos a la infestación se les adminstró vía intramuscular 1 mg/día y animal de dexametasona. Uno de los animales fue infestado y el otro no, siendo utilizado como control de este lote. Estos animales se sacrificaron a los 90 días del comienzo de la experiencia, realizándose la observación clínica y toma de muestras durante toda la experiencia y con la periodicidad descrita en las distintas fases.

3.8.- METODOS PARASITOLOGICOS

3.8.1.- ANALISIS COPROLOGICOS

Se utilizan métodos de enriquecimiento por concentración de elementos de diseminación de parásitos en heces, ratones y cabras. Su objetivo fue el control de los mismos que, de alguna manera, pudieran tergiversar la observación de los cuadros patológicos y de las tasas de anticuerpos (por presencia de inmunidad inespecífica) a lo largo de toda la experiencia.

3.8.2.- TRIQUINOSCOPIA

Este método directo se utiliza para evidenciar la parasitación en todos los animales de laboratorio utilizados para mantener la cepa de *Trichinella* y obtener el inóculo para los cabritos, objeto de nuestro estudio. También se usa para la observación de la musculatura de los cabritos en las fases musculares de la enfermedad.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.8.3.- DIGESTION ARTIFICIAL

Utilizada a lo largo de toda nuestra experiencia para obtener larvas 1 libres de sus quistes y proceder posteriormente a nuevos pases en ratones o ratas, al igual que para detectar la concentración larvaria en las ratas antes de la infestación de los cabritos y el grado de infestación de los mismos en la fase muscular de la experiencia.

Para determinar el grado de infestación en los animales de nuestra experiencia, inmediatamente después del sacrifico se toman muestras de distintos músculos (musculatura cardíaca, lengua, maséteros, diafragma, intercostales, flexores y extensores) que conservamos en glicerina para su conservación hasta el momento de su estudio.

Para la realización de esta técnica hemos utilizado el digestor automático TRICHOMATIC 35. Type 10500(N. Foss-Electric - Denmark), que permite la digestión y separación de las larvas de *Trichinella* en 10 minutos, este equipo está basado en el método de digestión pépsica y presenta como ventaja respecto a los métodos tradicionales, su rapidez y fiabilidad. (**POLIDORI** *et al.*, **1988**; **KELNER** y **MATKY 1990**).

Para cada preparación de muestra son necesarios un filtro de policarbonato transparente (14 μ), un sobre de pepsina TM 35, una ampolla de solución de ácido clorhídrico (8,5%) y 400 ml. de agua. Después de la digestión, la suspensión es filtrada, y el filtro examinado al microscopio, procediéndose al recuento larvario.

3.9.- METODOS CLINICOS Y BIOPATOLOGICOS

3.9.1.- PARAMETROS CLINICOS

Con la cronología descrita en "Diseño experimental", se procede a la observación clínica general de los animales.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.9.2.-DETERMINACIONES HEMATICAS Y BIOQUIMICA SERICA

Con la periodicidad descrita anteriormente se realiza la toma de muestras mediante punción en la vena yugular utilizando agujas y jeringas desechables. De esta forma se extraen 10 ml. de sangre que dividimos de la siguiente manera:

-2,5 ml se depositan en tubos de poliestireno con EDTA tripotásico como anticuagulante, estas muestras nos servirán para el estudio de los parámetros hemáticos.

-7,5 ml se depositan en tubos de poliestireno con gránulos incorporados (Serotub) para la separación del suero, centrifugando durante 10 minutos a 3000 r.p.m., inmediatamente después de la obtención de la sangre. El suero así obtenido se separa en partes alícuotas y es congelado a -80°C. hasta el momento de su utilización en la determinación de la bioquímica sérica así como en el método ELISA.

DETERMINACIONES HEMATICAS

3.9.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS

Se ha realizado utilizando la cámara de Thoma y líquido isotónico (Isoton II) como diluyente. Los resultados se expresan en millones/μl.

3.9.2.2.- VALOR HEMATOCRITO

Este valor lo determinamos utilizando tubos capilares para hematocrito y centrifugando en microcentrífuga específica. Con la ayuda de un lector, obtenemos los resultados que se expresan en tantos por ciento.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.9.2.3.- HEMOGLOBINA

La determinación de este valor se ha realizado utilizando el contador hematológico Coulter Counter CBC5, empleando como reactivo hemolizante y de Ciano-hemoglobina ZAP-OGLOBINA, que hemoliza rápidamente los hematíes dejando los leucocitos y desprendiendo la hemoglobina. Mediante ténica fotométrica este contador mide la Cianometahemoglobina formada. Los resultados se expresan en gr/dl. de sangre.

3.9.2.4.- INDICES HEMATIMETRICOS DE WINTROBE

Una vez obtenidos los parámetros hemáticos, realizamos la determinación de tres índices hematimétricos:

-Volumen Corpuscular Medio (VCM), obtenido siguiendo la fórmula:

$$VCM = \frac{\text{Valor hematocrito x 10}}{\text{Recuento de eritrocitos (x } 10^6)}$$

Este índice queda expresado en μ^3 o femtolitros (fl).

-Hemoglobina Corpuscular Media (HCM), obtenida siguiendo la fórmula:

$$HCM = \frac{\text{Cantidad de hemoglobina (g) x 10}}{\text{Recuento de eritrocitos (x } 10^6)}$$

Este índice queda expresado en picogramos (pg.).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

-Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM), obtenida siguiendo la fórmula:

$$CHCM = \frac{\text{Cantidad de hemoglobina (g.)} \times 100}{\text{Valor hematocrito}}$$

Este índice queda expresado en g/dl.

3.9.2.5.- RECUENTO DE LEUCOCITOS

Para el recuento de glóbulos blancos utilizamos el contador hematológico Coulter Counter CBC5, utilizando como líquido diluyente solución isotónica (Isoton II), y como reactivo hemolizante ZAP-OGLOBINA. Los resultados se expresan en miles/μl.

3.9.2.6.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS

El recuento diferencial de leucocitos se hace sobre extensiones de sangre utilizando el método de tinción Panóptico rápido que emplea tres soluciones preparadas comercialmente:

-Solución 1: solución metílica de triarilmetano

-Solución 2: solución tamponada de xanteno

-Solución 3: solución tamponada de tiazina

Una vez seco el frotis sanguíneo se introduce durante 8 segundos en cada una de las soluciones consecutivamente, se lava con agua abundante y queda listo para su examen.

Los resultados se expresan en tantos por ciento.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

BIOQUIMICA SERICA

Las determinaciones séricas las hemos realizado utilizando el sistema automático Hitachi 717 (Boehringer Mannheim), empleando Kitts comerciales de reactivos de los Laboratorios Boehringer Mannheim y Menarini (para el Magnesio).

Como calibrador y control de calidad hemos utilizado el correspondiente para sistemas automáticos, Precinorm U y Precipath U (Boehringer Mannheimm).

3.9.2.7.- PROTEINAS TOTALES

-Reactivos: HiCo Proteínas totales (TP) compuesto por dos soluciones:

1.- Reactivo para blanco (NaOH:0,40 mol/l; K-Na-tartrato:64 mmol/l).

2.- Reactivo biuret (NaOH:0,4,0 mol/l; K-Na-tartrato:0,64 mmol/l; KJ:61 mmol/l; sulfato de cobre:24,3 mmol/l).

-Fundamento: En solución alcalina, las proteínas forman con los iones de cobre un complejo coloreado.

Los resultados se expresan en g/dl.

3.9.2.8.- FRACCIONES PROTEICAS

El estudio de las diferentes fracciones proteicas se realiza mediante electroforesis en acetato de celulosa y posterior cuantificación densitométrica.

-Reactivos:

1.- Solución Tampón (Veronal sódico 0,04 M-Dietilbarbiturato sódico 8,24 g/l.).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.- Colorante Negro Amido 10B (0,5 gr en 45 ml. de metanol + 45 ml. de agua + 10 ml. de ácido acético).

3.- Decolorante Negro Amido 10B (47,5 ml. de metanol + 47,5 ml. de agua + 5 ml. de ácido acético).

4.- Solución transparentadora A (870 ml. de metanol + 30 ml. de ciclohexanona); B (ácido acético). En el momento de su uso se mezclan las soluciones A y B en la proporción 9:1.

-Método: Utilizamos el procedimiento de semimicroelectroforesis, empleando com base para la emigración tiras de "Cellogel" sobre puente de 8,5 cm. y un voltaje de 200 V. durante 35 minutos.

El procedimiento realizado se resume como sigue:

1.- Inmersión de las tiras en el tampón durante 15 min.

2.- Montaje de las tiras sobre el puente de electroforesis.

3.- Aplicación de los sueros sobre las tiras de cellogel con aplicador múltiple SEMI-MICRO.

4.- Conexión a la corriente eléctrica en las condiciones ya expuestas.

5.- Coloración con Negro Amido 10 B durante 10 min.

6.- Decoloración efectuando 3-4 baños bajo agitación con solución decolorante.

7.- Deshidratación en baño de metanol durante 1 min.

8.- Trasparentado de las tiras con la mezcla trasparentadora durante un máximo de 2 min. y extensión de las tiras sobre una placa de vidrio, finalizando el proceso a temperatura ambiente hasta una trasparencia completa.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

9.- Cuantificación mediante fotodensitometría, evaluando tanto el coeficiente Albúmina-globulina como los porcentajes de cada una de las fracciones proteicas.

3.9.2.9.- GLUCOSA

-Reactivos: Gluco-quant® Glucosa compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón fosfato: 70 mmol/l, pH 7,7; Mg^{2+}: 4 mmol/l; ATP: 1,3 mmol/l; NADP: 1,3 mmol/l.

2.- Tampón fosfato: 70 mmol/l, pH 7,7; Mg^{2+}: 4 mmol/l; HK ≥ 8,3 U/ml; G6P-DH ≥ 15 U/ml.

-Fundamento:

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + \text{NADP}^+ \xrightarrow{\text{G6P - DH}} \text{gluconato-6-P} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

Las unidades se expresan en mg/dl.

3.9.2.10.- UREA

-Reactivos: Urea (BUN) compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón Tris/succinato: 150 mmol/l, pH 8,0; ADP: 1,5 mmol/l; NADH: 0,23 mmol/l; GLDH ≥ 0,70 U/ml; α-cetoglutarato: 13,8 mmol/l.

2.- Tampón Tris/succinato: 150 mmol/l, pH 8,0; ADP: 1,5 mmol/l; ureasa ≥ 35 U/ml.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

-Fundamento:

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{ureasa}} 2\,NH_3 + CO_2$$

$$2\ \alpha\text{-cetoglutarato} + 2NH^{+4} + 2NADH \xrightarrow{\text{GLDH}} 2\ \text{L-glutamato} + 2\ NAD^+ + 2\ H_2O$$

Las unidades se expresan en mg/dl.

3.9.2.11.- LDH

-Reactivos: LDH opt. compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón fosfato: 52 mmol/l, pH 7,5; NADH: 0,22 mmol/l.

2.- Tampón fosfato: 52 mmol/l, pH 7,5; piruvato: 3,64 mmol/l.

-Fundamento:

$$\text{Piruvato} + NADH + H^+ \Longleftrightarrow \text{lactato} + NAD^+$$

Los valores se expresan en U/l.

3.9.2.12.- CK

-Reactivos: CK NAC activado compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón imidazol: 0,11 mol/l, pH 6,7; glucosa: 21,5 mmol/l; acetato Mg: 11 mmol/l; EDTA: 2,15 mmol/l; ADP:2,5 mmol/l; AMP: 6,1 mmol/l; diadenosinpentofosfato: 12 μmol/l; NADP: 2,5 mmol/l; N-acetilcisteína: 25 mmol/l; HK $\geq$ 3,1 U/ml; G6P-DH $\geq$ 1,8 U/ml.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2.- Creatinfosfato: 186 mmol/l; tampón imidazol: 0,11 mol/l; glucosa: 21,5 mmol/l; acetato Mg: 11 mmol/l; EDTA: 2,15 mmol/l.

-Fundamento:

$$\text{Creatinfosfato} + \text{ADP} \xleftrightarrow{\text{CK}} \text{creatina} + \text{ATP}$$

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xleftrightarrow{\text{HK}} \text{glucosa-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{Glucosa-6-P} + \text{NADP}^+ \xleftrightarrow{\text{G6P-DH}} \text{gluconato-6-P} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

Los valores se expresan en U/l.

3.9.2.13.- AST

-Reactivos: HiCo ASAT/AST/GOT compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón Tris: 400 mmol/l, pH 7,8; L-aspartato: 1200 mmol/l; NADH: 0,91 mmol/l; MDH $\geq$ 2,1 U/ml; LDH $\geq$ 3,0 U/ml.

2.- α-cetoglutarato: 75 mmol/l.

-Fundamento:

$$\alpha\text{-cetoglutarato} + \text{L-aspartato} \xleftrightarrow{\text{GOT}} \text{L-glutamato} + \text{oxalacetato}$$

$$\text{oxalacetato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xleftrightarrow{\text{MDH}} \text{L-malato} + \text{NAD}^+$$

Los valores se expresan en U/l.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.9.2.14.- ALT

-Reactivos: HiCo ALAT/ALT/GPT compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón Tris: 280 mmol/l, pH 7,3; L-alanina: 1400 mmol/l; NADH: 0,53 mmol/l; LDH ≥ 3,5 U/ml.

2.- α-cetoglutarato: 94 mmol/l.

-Fundamento:

$$\alpha\text{-cetoglutarato} + \text{L-alanina} \xrightleftharpoons{GPT} \text{L-glutamato} + \text{piruvato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + H^+ \xrightleftharpoons{LDH} \text{lactato} + NAD^+$$

Los valores se expresan en U/l.

3.9.2.15.- FOSFATASA ALCALINA

-Reactivos: HiCo Fosfatasa alcalina opt. compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón dietanolamina: 4,08 mol/l, pH 9,8;$MgCl_2$: 2,04 mmol/l.

2.- Tampón dietanolamina: 1,02 mol/l, pH 9,8; $MgCl_2$: 0,51 mmol/l; p-nitrofenilfosfato: 61 mmol/l.

-Fundamento:

$$\text{p-nitrofenilfosfato} + H_2O \xrightarrow{\text{fosfatasa alc.}} \text{fosfato} + \text{p-nitrofenol}$$

Los valores se expresan en U/l.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.8.2.16.- BILIRRUBINA

-Reactivos: HiCo Bilirrubina (T-BIL) compuesto por dos soluciones:

1.- Acido clorhídrico: 200 mmol/l; detergente.

2.- Sal de 2,5-diclorofenildiazonio: 6,0 mmol/l; ácido clorhídrico: 200 mmol/l; detergente.

-Fundamento: La bilirrubina total se copula con un compuesto diazonio a la correspondiente azobilirrubina. El detergente libera la bilirrubina indirecta.

Los valores se expresan en mg/dl.

3.8.2.17.- CREATININA

-Reactivos: Creatinina PAP (CREA) compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón fosfato potásico: 100 mmol/l, pH 7,9; ferrocianuro potásico: 5 μmol/l; 2,4,6-tribromo-3-ácido hidroxibenzoico: 8,6 mmol/l; detergente: 0,3%; 4-aminofenazona: 0,8 mmol/l; creatinasa $\geq$ 20 U/ml; sarcosina-oxidasa $\geq$ 12 U/ml; peroxidasa $\geq$ 1 U/ml; ascorbato oxidasa $\geq$ 10 U/l.

2.- Tampón fosfato potásico: 20 mmol/l, pH 7,9; detergente: 0,3%; creatinasa $\geq$ 123 U/ml.

-Fundamento:

$$\text{Creatinina} + H_2O \xrightarrow{\text{creatininasa}} \text{creatina}$$

$$\text{Creatina} + H_2O \xrightarrow{\text{creatinasa}} \text{sarcosina} + \text{urea}$$

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

$$\text{Sarcosina} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{sarcosina-oxidasa}} \text{glicina} + HCHO + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{deriv.fenólico} + \text{4- aminofenazona} \xrightarrow{\text{peroxidasa}} \text{colorante rojo de benzoquinonimina}$$

Los resultados se expresan en mg/dl.

3.9.2.18.- γ-GT

-Reactivos: HiCo γ-GT nuevo compuesto por dos soluciones:

1.- Tampón Tris: 492 mmol/l, pH 8,25; glicilglicina:492 mmol/l.

2.- L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida: 17,7 mmol/l.

-Fundamento:

$$\text{L-}\gamma\text{-Glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida} + \text{glicina} \xrightarrow{\gamma GT} \text{L-}\gamma\text{-glutamilglicilglicina} + \text{5-amino-2-nitrobenzoato}$$

Los resultados se expresan en U/l.

3.9.2.19.- CALCIO

-Reactivos: Calcio (Ca) compuesto por dos soluciones:

1.- 2-amino-2-metilpropanol-(1): 1,5 mol/l, pH 10,7.

2.- o-cresolftaleína-complexona: 0,18 mmol/l; 8-hidroxiquinolina: 13,8 mmol/l; ácido clorhídrico: aprox. 60 mmol/l.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

-Fundamento: En solución alcalina, el Ca^{2+} forma un complejo violeta con o-cresolftaleína-complexona.

Los resultados se expresan en mg/dl.

3.9.2.20.- FOSFORO

-Reactivos: Fósforo inorgánico (PHOS) compuesto por dos soluciones:

1.- Reactivo para blanco: ácido sulfúrico: 0,36 mol/l; cloruro sódico: 150 mmol/l; detergente.

2.- Reactivo fosfato: Molibdato amónico: 3,5 mmol/l; ácido sulfúrico: 0,36 mol/l; cloruro sódico: 150 mmol/l.

-Fundamento: En solución ácida, el fosfato inorgánico forma un complejo de fosfomolibdato de amonio.

Los resultados se expresan en mg/dl.

3.9.2.21.- HIERRO

-Reactivos: Hierro sin desproteinización (Fe) compuesto por dos soluciones:

1.- Acetato sódico: 170 mmol/l, pH 5,5; detergentes/ácido ascórbico.

2.- FerroZine*: 16 mmol/l.

-Fundamento: El Fe^{3+} es separado de la transferrina por medio de una mezcla de detergente en un medio pH ligeramente ácido, y es reducido a Fe^{2+} con ácido ascórbico. El Fe^{2+} forma un complejo de color con

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

FerroZine*.

Los resultados se expresan en μg/dl.

3.9.2.22.- SODIO, POTASIO y CLORO

El sistema de medición es por potenciometría directa.

Los resultados se expresan en mEq/l.

3.9.2.23.- MAGNESIO

-Reactivos: Menagent Magnesio 60 seg. compuesto por dos soluciones:

1.- Cromógeno: Calmagite: 0,35 mmol/l; EGTA, DMSO y conservantes.

2.- Tampón: Agentes coaligantes en un Tampón a pH 11,6 y tensoactivos.

-Fundamento:

$$\text{Calmagite} + Mg^{++} \xrightarrow{OH^-} \text{complejo } Mg^{++} \text{ - Calmagite}$$

Los resultados se expresan en mg/dl.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.9.3.-DETERMINACIONES EN ORINA

Dada la dificultad que la especie caprina presenta para la obtención de orina mediante sondaje, la toma de muestras se realizó mediante cistocentesis en todos los animales en el momento del sacrificio. Procediendo inmediatamente a su análisis.

-Densidad: Su determinación se realizó utilizando un refractómetro.

El resto de las determinaciones se realizan mediante tiras reactivas Combur-9-para la detección de 9 parámetros:

-Leucocitos

-Nitritos

-pH

-Proteínas

-Glucosa

-Cuerpos cetónicos

-Urobilinógeno

-Bilirrubina

-Sangre

El examen microscópico del sedimento urinario lo realizamos "en fresco" previa centrifugación de las muestras a 1500 r.p.m. durante 5 min., decantando el sobrenadante y colocando una gota del sedimento entre un porta y un cubreobjetos para su observación microscópica.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.10.- METODOS HISTOPATOLOGICOS

3.10.1.-NECROPSIA

El sacrificio de los animales se realiza mediante inyección en la vena yugular de Tiopental (Tiobarbital 1 g), tras lo cual se les practica necropsia reglada y completa, observando macroscópicamente todos los órganos, tejidos y aparatos.

3.10.2.- TOMA DE MUESTRAS

Para el estudio estructural se toman muestras de 1 cc. de tamaño (las cuales se fijan en formaldehído al 10%), de distintos órganos (Intestino delgado, Intestino grueso, Hígado, Pulmón, Bazo, Gánglios linfáticos, Riñón, Sistema nervioso central y Corazón) y músculos (lengua, maseteros, diafragma, intercostales, flexores y extensores).

3.10.3.- METODOS PARA MICROSCOPIA OPTICA

Las muestras fijadas en formaldehído al 10% se incluyen en parafina y se efectúan cortes histológicos en secciones de 2-3 μm. de grosor. Dichos cortes se recogen en un baño termostático y se fijan al portaobjetos en estufa a 60° C.

Para la tinción de dichos cortes se utiliza, basicamente, el método de hematoxilina-eosina, acudiendo a técnicas más específicas, como P.A.S. (Acido Periódico de Shiff), Tricrómico de Masson, Picrofuscina de Van Giemsom, Azán de Gomori o Azán de Heidemheim para la determinación de alteraciones más concretas.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.5.- ESTUDIO INMUNOLOGICO

3.5.1. RECOGIDA DE MUESTRAS

A los animales de la experiencia, incluidos los controles y los inmunodeprimidos, se les extrajo sangre, según cronología expuesta en el capítulo 3.7.2., parte de la cual fué desuerada con el objeto de ser utilizada en un estudio serológico complementario a la evolución del proceso patológico experimentalmente inducido en los animales de estudio. Dicha cronología incluye tomas de sangre los días -7, -4, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 13, 16, 20, 23, 26, 30, 37, 44, 51, 58, 65, 72, 75, 79 y 90 pi.

El estudio serológico realizado para conocer la evolución de los anticuerpos anti-*Trichinella* durante el experimento se realizó mediante la técnica inmunoenzimática ELISA, que según la práctica totalidad de autores (ver capítiulo 2.5.) se erige como la más idónea y sensible para estudios como el presente.

3.5.2. TECNICA ELISA. REACTIVOS

TAMPON CARBONATO 0.1 M CON 0.02% DE AZIDA SODICA

$Na_2 CO_3 . 10 H_2O$ . . . . . 28.6 g.
$Na N_3$ . . . . . .0.2 g.
H_2O destilada . . . . . c.s.p 1000 ml.

Ajustar el pH a 9.6 y conservar a 4°C.

BSA AL 5%

BSA: Seralbúmina bovina, Fracción V (Sigma Chemical Company).
BSA . . . . . 1 g.
P.B.S. . . . . 20 ml.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

P.B.S. 0.01 M

Na Cl . . . . . 26.3 g.
Na_2 H PO_4 . 2 H_2O . . . . . 4.1 g.
NaH_2PO_4 . 1 H_2O . . . . . 0.956 g.
H_2O destilada . . . . . c.s.p 3000 ml.

Ajustar el pH a 7.2-7.3 y conservar a 4°C.

P.B.S.- TWEEN 20 (PBS-Tw20)

P.B.S. 0.01 M . . . . . 1000 ml.
TWEEN - 20 . . . . . 0.5 ml.

TAMPON CITRATO-FOSFATO

Acido cítrico (1 H_20) . . . . . 5.85 g.
Na_2H PO_4 . 2 H_2O . . . . . 11.07 g.
H_2O destilada . . . . . c.s.p 1000 ml.

Ajustar el pH a 5 y conservar a 4°C.

SO_4 H_2 3N

SO_4 H_2 concentrado . . . . . 80 ml.
H_2O destilada . . . . . c.s.p 500 ml.

ANTIGENOS

Hemos utilizado antígenos larvarios brutos salinos, siguiendo las pautas del grupo de trabajo sobre triquinelosis de la CEE (**RUITENBERG** *et al.*, **1976**). El proceso de obtención es el siguiente:

- Obtención de larvas musculares mediante digestión pépsica estándar, a partir de ratones infestados con la cepa LASO, de características biológicas conocidas y ya comentadas.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

- Tamizado y selección de las larvas: las larvas obtenidas en el paso anterior se colocan en un aparato Baerman con solución fisiológica a 37°C una hora, de tal forma que sólo las larvas infestantes y activas logran atravesar la malla de gasa y llegar al final del tubo de goma pinzado.

- Lavado de las larvas varias veces en PBS.

- Homogeneización con potter manual en tampón carbonato con azida sódica al 0.02% a 4°C, comprobando microscópicamente el grado de trituración.

- Agitación del homogeneizado durante 48 horas, siempre a 4°C.

- Centrifugación a 45.000 g durante una hora a 4°C y recuperación del sobrenadante, despreciando la fracción insoluble.

- Valoración de la concentración de proteínas mediante el método de Lowry.

Estos antígenos son congelados de forma fraccionada, para evitar descongelaciones y recongelaciones innecesarias, hasta el momento de su uso a -80°C.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

INMUNOCONJUGADO ANTIESPECIE

Inmunoglobulinas de conejo anti-IgG (Molécula completa) de cabra, conjugadas con peroxidasa de rábano picante (A-3540 de SIGMA CHEMICAL Co.).

SUSTRATO

OPD: 1,2 - Fenilenediamina diclorhidrato (Dakopatts A/S, S2000) (Sigma Chemical Company, No. P-1526)

OPD . . . . . 200 mg.
Tampón citrato-fosfato . . . . . 100 ml.
H_2O_2 30 vol . . . . . .30 μl.

Disolver la OPD en el citrato-fosfato no antes de una hora de su uso, evitanto la luz y el contacto con metales. Añadir el agua oxigenada inmediatamente antes de su uso.

3.5.3. METODOLOGIA

Hemos empleado el método de micro-ELISA indirecto de dobles anticuerpos, que describimos a continuación:

Se utilizan placas de poliestireno de micro-ELISA, de 96 pocillos de fondo plano y 350 μl de capacidad. En cada pocillo se depositan 100 μl de antígeno a la concentración adecuada, disuelto en buffer carbonato con azida sódica al 0.02 %. A continuación las placas se someten a un período de incubación de 3 horas a 37°C, para permitir la adsorción del antígeno a las paredes del pocillo. Dicha incubación se establece como óptima tras la unanimidad existente sobre el particular en trabajos anteriores (**NAVARRETE** *et al.*, **1989**; **SERRANO, 1991**).

Tras este período el exceso de antígeno no fijado es arrastrado por un lavador automático mediante una serie de tres lavados de 10 segundos cada uno, con una solución PBS-Tw20. A continuación se realiza un cuarto lavado de mayor duración (60 segundos). Seguidamente las placas son sacudidas enérgicamente sobre un papel de filtro para eliminar las gotitas del líquido de lavado que puedan quedar en los pocillos.

Con objeto de tapizar perfectamente las zonas de los pocillos que no han sido recubiertas por el antígeno y evitar así posteriores adsorciones no específicas de inmunoglobulinas u otras proteínas, se depositan seguidamente 200 μl de BSA al 5% incubándose las placas media hora a 37° C. Inmediatamente después se someten a un nuevo proceso de lavado, idéntico al anterior.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Las placas con el antígeno y postapizadas con BSA, se mantienen a -80°C hasta el momento de su uso. Para ello se introducen en bolsas de plástico que son selladas herméticamente por calor.

Una vez descongeladas las placas a temperatura ambiente, cada pocillo es rellenado con 100 μl de suero a la dilución deseada en PBS-Tw20.

Tras la incubación a 37°C, durante 1/2 h., la placa es sometida a un nuevo proceso de lavado con el objeto de eliminar los anticuerpos que no han reaccionado con el antígeno.

Seguidamente, se añaden 100 μl de inmunoconjugado antiespecie por pocillo, en nuestro caso la anti-IgG porcina conjugada con peroxidasa, diluido en PBS-Tw20 a la concentración idónea. La placa es de nuevo incubada media hora a 37°C, tras lo cual se realiza un último proceso de lavado, igual a los anteriores, para eliminar las inmunoglobulinas marcadas que no hayan reaccionado con el complejo antígeno-anticuerpo.

Terminado éste, se añaden 100 μl de sustrato, elaborado como máximo una hora antes de su uso dada la poca estabilidad del preparado. El sustrato es incubado a temperatura ambiente en una cámara oscura, frenándose la reacción trascurrido este período de incubación con 50 μl de SO_4H_2 3N.

La solución de sustrato, prácticamente incolora o con una ligera tonalidad amarillenta, en presencia de peroxidasa, se torna de color anaranjado intenso o rojizo, con una intensidad proporcional a la cantidad de anticuerpos fijados al antígeno.

La lectura de la coloración se realiza a simple vista, especialmente para detectar errores o coloraciones anormales. Posteriormente se realiza una lectura de la densidad óptica a 490 nm en un lector automático.

Para comprobar que todos los pasos de la técnica han sido realizados correctamente, es necesario reservar unos pocillos en cada placa para

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

realizar los siguientes controles:

- Control de sustrato: En una serie de pocillos no se depositan ningún tipo de suero ni conjugado, para comprobar la coloración de fondo debida al sustrato. En estos pocillos la coloración es inapreciable a simple vista, indicando lo contrario que el sustrato se encuentra en mal estado.

- Control del inmunoconjugado: Se realiza en una serie de pocillos sin suero problema, siendo éste sustituido por PBS-Tw20 solamente. Este control nos puede dar información sobre numerosos errores de procedimiento (procesos de lavados inadecuados, reactivos en mal estado, etc.).

- Control positivo: Debido a la imposibilidad de utilizar sueros de cabra de positividad contrastada frente a *Trichinella*, se utiliza como referencia una mezcla de sueros de las cabras infestadas en nuestro experimento y mantenidas hasta el final del mismo, etapa ésta en la que, teóricamente al menos, el nivel de anticuerpos debe ser mayor.

- Controles negativos: Se utiliza una mezcla de sueros de los animales experimentales, previamente a la administración del inóculo infestante. Al igual que el control positivo, la repetitibilidad de su lectura garantiza la correcta realización de la técnica.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

3.5.4. ESTANDARIZACION DE LA TECNICA

Con el objeto de determinar las condiciones en las que el método ELISA proporciona los mejores resultados en nuestras condiciones laboratoriales, conociendo que en ningún caso la bibliografía consultada recoge la infestación de cabras con el agente nosógeno utilizado por nosotros, hemos realizado varias experiencias, estudiando algunos factores, como son las concentraciones de antígeno, suero e inmunoconjugado, así como el tiempo de incubación del sustrato, dentro de los márgenes usuales utilizados con este tipo de técnicas (**SANCHEZ VIZCAINO y CAMBRA-ALAVAREZ, 1987**).

Así, ensayamos varias concentraciones de antígenos, oscilantes entre 1 y 20 μg/ml, concretamente 1, 5, 10 y 20 μg/ml, y de suero a diluciones dobles a partir de 1:80 y hasta 1:10240; igualmente la concentración idónea de conjugado fué comprobada ensayando las de 1:1000, 1:2500, 1:5000, 1:10000, 1:15000 y 1:20000, a las que adicionamos las concentraciones de 1:8000 y 1:12000 en una segunda prueba.

Finalmente, el tiempo óptimo de parada de reacción fué probado a 30' y posteriormente a 60', no deteniendo por tanto la reacción con sulfúrico y midiendo el valor de extinción, sólo en este caso, a 450 nm, con lo que obtuvimos unos valores de DO menores en todos los casos, ya que la adición de sulfúrico incrementa, en su caso, el color de la reacción.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Durante la primera fase (intestinal) de nuestra experiencia la temperatura de todo el colectivo permaneció dentro de estos límites.

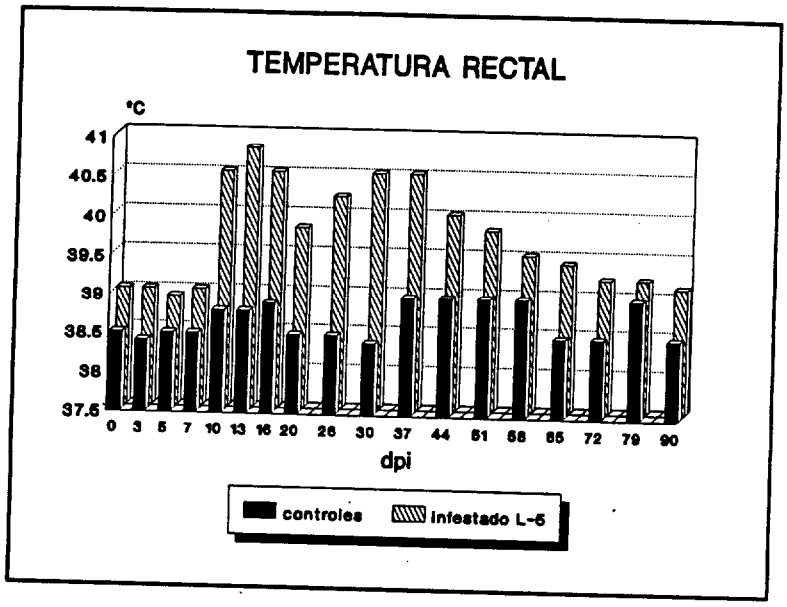


Gráfico 1: EVOLUCION DE LA TEMPERATURA EN EL ANIMAL PREVIAMENTE TRATADO CON DEXAMETASONA E INFESTADO (LOTE 5) Y TEMPERATURAS MEDIAS EN LOS ANIMALES CONTROL A LO LARGO DE LA EXPERIENCIA.

Es a partir del día 10 pi cuando observamos las primeras variaciones, concretamente el animal infestado del lote 5 alcanza los 40,5 °C, llegando a los 40,8 °C en el día 13 pi. Entre los días 16 y 20 pi hay un ligero incremento de la Tª que afecta a todo el colectivo y que alcanza los 39,9 °C de media, llegando algún animal a los 40,4 °C el día 20 pi, momento a partir del cual no se observa ninguna elevación por encima de los 39,5 °C, salvo el animal infestado del lote 5 que permanece con una temperatua elevada y que alcanza los 40,5 °C los días 30 y 37 pi, descendiendo paulatinamente a partir de este día y alcanzando temperaturas

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

RESULTADOS

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.1.- SINTOMAS

El cuadro clínico observado a lo largo de nuestra experiencia ha sido leve, para la mayoría de animales que componen el colectivo experimental.

Entre los días 9 y 12 postinfestación (pi), observamos la aparición de un proceso anoréxico que afecta al 100% de animales infestados.

Sobre los días 14-15 pi, algunos animales de nuestro colectivo (33%), presentaron un proceso diarreico, viéndose también afectado un animal del lote testigo. Análisis coprológicos demostraron la presencia de ooquistes de *Eimeria spp.*, por lo que decidimos el tratamiento de todos los animales con Amprol 20% a razón de 0,5 g/kg de peso, durante 5 días vía oral. Tras este tratamiento la diarrea desaparece en los animales afectados, excepto en uno de ellos que continuó con diarrea persistente y empeoramiento en su estado general con fiebre, conjuntivitis, exudados nasales y oculares, anorexia y pérdida de peso. Este animal empeoró progresivamente y ante una muerte inminente lo sacrificamos el día 23 pi.

Otro animal que presentó una acusada sintomatología fue el infestado del lote 5 (tratado con dexametasona), que además del proceso diarreico antes mencionado, presentó, a partir del día 11 pi, un cuadro de conjuntivitis con abundante exudado seromucoso. En días sucesivos continuó acompañado de exudado nasal mucoso (Fig. 40), disnea, tos y cierta intolerancia al ejercicio, manteniéndose en estas condiciones hasta el final de la experiencia.

El proceso de conjuntivitis con abundante exudado seromucoso apareció también en otro animal del grupo experimental sobre el día 27 pi y continuó hasta los 90 días postinfestación (dpi).

Los parámetros clínicos observados fueron temperatura, frecuencia respiratoria y frecuencia cardíaca.

Con respecto a la **temperatura**, antes de la infestación nuestro grupo de animales presentó un temperatura rectal entre 38,2 y 39,3 °C.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

similares a las obtenidas previa inoculación, al final de la experiencia.

Los animales que integran el lote testigo, al igual que el del lote 5 y no infestado, mantienen durante toda la experiencia una temperatura que oscila entre los 38 y 39,5 °C. En el gráfico 1 aparecen los valores medios de temperatura obtenidos a lo largo de la experiencia en el lote testigo así como en el animal previamente tratado con dexametasona e infestado (lote 5).

En relación a la **frecuencia respiratoria** los valores normales en cabras adultas se sitúan entre los 25 y 35 resp/min, siendo más alta esta frecuencia en animales jóvenes que en adultos (**SMITH, 1990**). En nuestro colectivo experimental encontramos antes de la infestación frecuencias comprendidas entre 32 y 52 resp/min.

No encontramos variaciones significativas durante los diez primeros días de la experiencia. Es a partir del día 13 pi cuando observamos alguna alteración, concretamente en el animal del lote 5 e infestado evidenciamos una ligera taquipnea que alcanza 56 resp/min. Esta misma frecuencia fue observada en dos animales del lote 3 entre los 16 y 30 dpi. Pero el incremento más significativo se produce en el animal del lote 5 e infestado, a partir de los 44 dpi, con una frecuencia de 76 resp/min en ese día, llegando a alcanzar 124 resp/min a los 58 dpi, y manteniendo frecuencias superiores a las 75 resp/min hasta el final de la experiencia.

El resto de animales infestados, no muestra variaciones tan elevadas aunque destacamos las obtenidas sobre el día 51 pi, con 71 resp/min de media. A partir de este momento y hasta el final de la experiencia los valores se mantienen próximos a las 50 resp/min.

En los animales que componen el lote testigo la frecuencia respiratoria osciló entre las 32-44 resp/min.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En el gráfico 2 se muestran las frecuencias respiratorias registradas a lo largo de la experiencia en el lote control, en el infestado del lote 5, así como en el animal del lote 3 sacrificado a los 90 dpi.

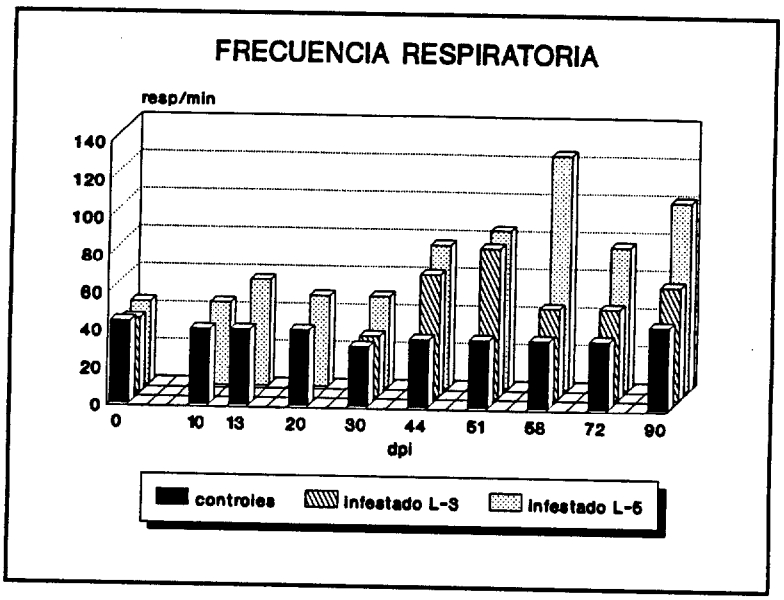


Gráfico 2: FRECUENCIAS RESPIRATORIAS EN LOS ANIMALES CONTROL, INMUNODEPRIMIDO E INFESTADO Y EN EL INFESTADO SACRIFICADO A LOS 90 dpi.

La **frecuencia cardíaca** en cabras adultas oscila entre 70 y 90 lat/min (**SMITH, 1990**). Antes de la infestación, establecemos en nuestro colectivo un rango fisiológico ligeramente superior debido a la edad de nuestos animales y comprendido entre 100 y 144 lat/min.

Los animales testigo mantuvieron durante toda la experiencia una frecuencia cardíaca comprendida entre 84 y 130 lat/min.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En algunos de los animales del colectivo experimental, se observaron en algunas fases de la experiencia frecuencias más altas que las que éstos presentaban antes de la infestación. Este hecho fue observado en dos animales, que entre los días 30 y 51 pi, mostraron una frecuencia cardíaca elevada hasta en 22 y 36 lat/min respectivamente, de 142 y 124 lat/min el día 0 a 164 y 160 lat/min en estos días. A partir de este momento y hasta los 90 dpi, en el último animal sacrificado, observamos una disminución progresiva en la frecuencia cardíaca hasta alcanzar valores incluso ligeramente inferiores a los que tenía al comienzo de la experiencia.

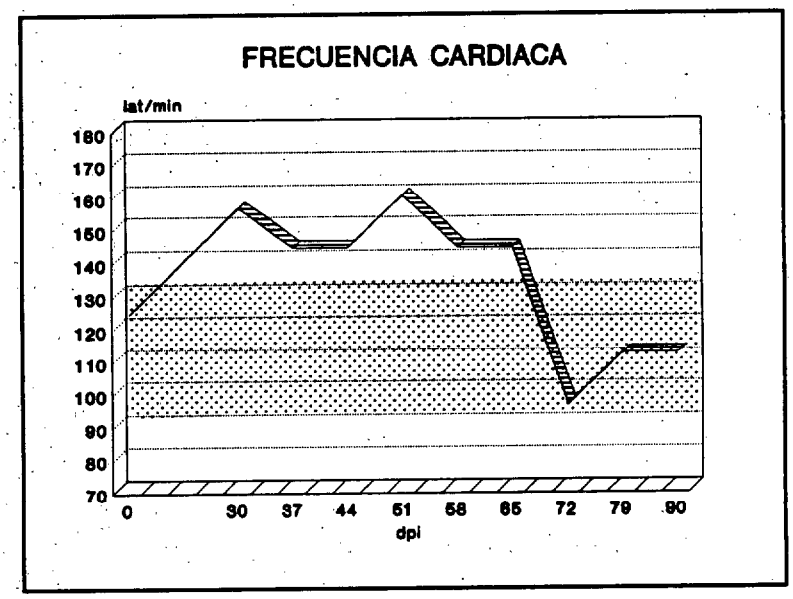


Gráfico 3: EVOLUCION DE LA FRECUENCIA CARDIACA EN EL ANIMAL SACRIFICADO A LOS 90 dpi. LA ZONA PUNTEADA REFLEJA EL RANGO DE VALORES FISIOLOGICOS.

No todos los animales infestados muestran estas alteraciones, concretamente el tercer animal integrante del lote 3 presentó una frecuencia cardíaca practicamente constante hasta los 45 dpi en que es sacrificado, esto

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

mismo fue observado en el animal del lote 5 e infestado que presentó una frecuencia cardíaca muy constante durante el proceso experimental.

En el gráfico 3 se refleja la evolución de la frecuencia cardíaca en el animal infestado del lote 3 y sacrificado a los 90 dpi.

4.2.- PARAMETROS HEMATICOS

4.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS

La bibliografía consultada en nuestra revisión muestra una gran variación en los niveles fisiológicos de eritrocitos en cabras, indicando los distrintos autores valores comprendidos entre 8 y 20 millones/μl, (**CASTRO**, *et al.* **1977**, **EDJTEHADI, 1978**; **SCHALM**, *et al.* **1981** y **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987**). De estos autores quien hace referencia a cabras de edad similar a las de nuestro colectivo experimental es **EDJTEHADI (1978)**, quien establece el límite fisiológico en cabras de 2-6 meses de edad entre 15,7 y 20,9 millones/μl.

En nuestro trabajo, antes de la infestación, los valores se situaron entre 15 y 18 millones/μl.

A lo largo de la experiencia hemos observado una tendencia a la disminución de estos niveles y que comenzamos a detectar a los 5 dpi. En este momento, uno de los animales integrantes del lote 1 y sacrificado ese día mostró 13 millones/μl de hematíes, cuando desde antes de la infestación y hasta los 3 dpi su nivel de eritrocitos era de 16 millones/μl y ligeramente inferior a los 4 dpi con un nivel de 15 millones/μl.

En el otro animal integrante de este lote, la reducción la observamos a los 6-7 dpi, cuando el nivel de hematíes fue de 14,1-14,5 millones/μl, siendo en este animal el nivel eritrocitario desde el comienzo y hasta los 5 dpi cercano a los 16 millones/μl.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

A los 7 dpi, momento en el que comenzamos el control a los animales que integran el lote 2, es manifiesta la disminución de eritrocitos observada en uno de estos animales, ya que en este día mostraba un cifra de 13,5 millones/μl, cuando en este animal el nivel de eritrocitos antes de la infestación fue de 15,5 millones/μl. En días sucesivos y hasta los 20 dpi, la reducción eritrocitaria continuó de forma progresiva y así el nivel de hematíes fue de 12,5 millones/μl a los 10 dpi, 11 millones/μl a los 13 dpi y en torno a los 10,5 millones a los 16-20 dpi. En el gráfico 4 se representa la evolución de eritrocitos que comentamos en este animal.

Igualmente hemos observado reducciones en la cifra de eritrocitos en el otro animal integrante del lote 2. Este, antes de la infestación mostraba una tasa de eritrocitos de 17 millones/μl, mantuvo este nivel hasta los 13 dpi y a partir de los 16 dpi, comenzó a descender, siendo en este día de 16 millones/μl. A los 26-30 dpi, el nivel fue de 14,1 millones/μl.

A los 30 dpi, también en las cabras que integran el lote 3 la tasa de eritrocitos fue sensiblemente inferior al nivel eritrocitario que estos animales mostraron al comienzo de la experiencia. Así, en una de estas cabras la cifra inicial fue de 18 millones/μl, y a los 30 dpi, el nivel eritrocitario fue de 12,7 millones/μl. Importantes disminuciones se observaron también este día en los otros dos animales de este lote; en ellos, antes de la infestación la cifra de eritrocitos fue de 17 y 15,4 millones/μl respectivamente, siendo a los 30 dpi esta cifra de 14 y 11,4 millones/μl.

En días sucesivos y a lo largo de esta última fase experimental los valores sufren un ligero incremento, pero no alcanzan en ningún momento niveles próximos a los que detectamos al comienzo. Así, la cifra que estos animales mostraron en el momento de su sacrificio fue de 15,5 millones/μl a los 45 dpi; 14,8 millones/μl a los 60 dpi y 13 millones/μl a los 90 dpi. En el gráfico 4 queda reflejada la evolución de este parámetro a lo largo de la experiencia en este último animal.

Por otra parte, en el animal infestado del lote 5, el nivel más bajo fue detectado a los 23 y 58 dpi con 15,4 millones/μl de hematíes, cuando al comienzo el nivel fue de 17,6 millones/μl.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En el lote control, durante toda la experiencia, la tasa se mantuvo entre 13,3 y 15,2 millones/μl de hematíes. Los valores de eritrocitos de este lote quedan igualmente reflejados en el gráfico 4.

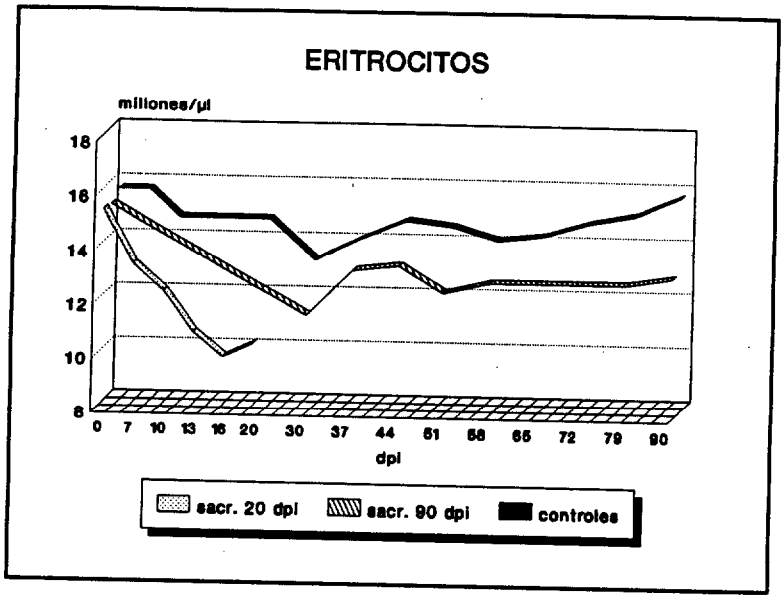


Gráfico 4: RECUENTO DE ERITROCITOS A LO LARGO DE LA EXPERIENCIA EN LOS ANIMALES SACRIFICADOS A LOS 20 Y 90 dpi, ASI COMO EN LOS ANIMALES CONTROL.

4.2.2.- VALOR HEMATOCRITO

La evolución que hemos observado en nuestra experiencia para el valor hematocrito es paralela a la encontrada para los niveles de eritrocitos.

Al comienzo, los valores quedaron comprendidos entre el 30% y el 37%, estas cifras coinciden con las expresadas por **EDJTEHADI (1978)**, como fisiológicas en cabras de 2-6 meses de edad y que establece entre el

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

30,5% y el 39,6%.

Igual que comentamos en el caso de los eritrocitos, la primera reducción fue observada a los 5 dpi. El animal sacrificado este día mostraba un hematocrito del 27%, siendo inferior este valor respecto al del comienzo, en un 5%.

A los 7 dpi, el hematocrito descendió un 4% (de 34% a 30% y de 32% a 28% respectivamente en el animal sacrificado a los 7 dpi y en uno del lote 2). En este último, igual que ocurrió con los eritrocitos, el hematocrito descendió progresivamente hasta los 20 dpi alcanzando el 22% ese día.

En el otro animal integrante del lote 2 el descenso fue paulatino siendo la disminución más acusada sobre los 26-30 dpi, con una minoración de un 6% con respecto al valor inicial (de 35% a 29%).

A los 30 dpi, la reducción de hematocrito en el lote 3 se fijó entre un 6% y un 11% (de 35% a 29%, de 37% a 26% y de 35% a 26%, respectivamente en los animales sacrificados a los 45, 60 y 90 dpi).

A partir de los 30 dpi, y siguiendo la tendencia observada con los glógulos rojos, el hematocrito experimentó ligeras elevaciones, pero sin alcanzar los valores obtenidos antes de la infestación. Así, en estos animales, a los 45 dpi el hematocrito fue del 33%; a los 60 dpi fue del 30% y del 29% a los 90 dpi.

En el animal infestado del lote 5, también observamos una ligera reducción que llegó a ser del 4% a los 23 y 58 dpi (de 33% a 29%).

En el lote control el hematocrito fue más constante, quedando comprendido entre el 30% y el 33%, sin embargo, en uno de los animales no infestados y sin continuidad en el tiempo el hematocrito llegó a ser del 27%, lo que representó un descenso de un 3%.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En el gráfico 5 se reflejan el valor hematocrito de los animales sacrificados a los 20 y 90 dpi.

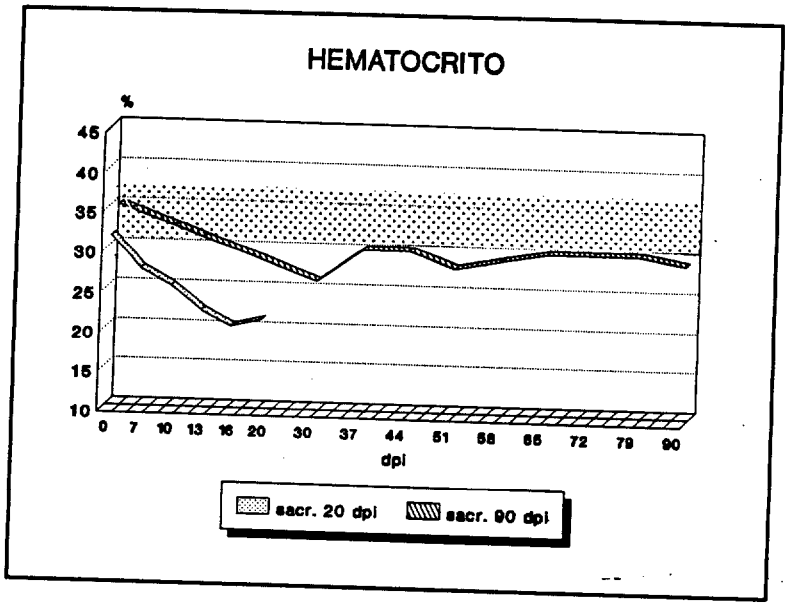


Gráfico 5: VALOR HEMATOCRITO EN LOS ANIMALES SACRIFICADOS A LOS 20 Y 90 dpi. LA ZONA PUNTEADA REFLAJA LOS LIMITES FISIOLOGICOS EN NUESTRA EXPERIENCIA.

4.2.3.- HEMOGLOBINA

Con respecto a la hemoglobina, hemos observado la misma tendencia que en los parámetros anteriormente descritos.

Al comienzo de la experiencia los valores estuvieron comprendidos entre 8,4 y 10,6 g/dl, lo que los sitúa dentro del rango fisiológico (7,5-11,5 g/dl, según **EDJTEHADI, 1978**).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Las reducciones son mínimas durante las primeras etapas, suponiendo una minoración de 0,5-1,5 g/dl en algunos animales a los 5-7 dpi.

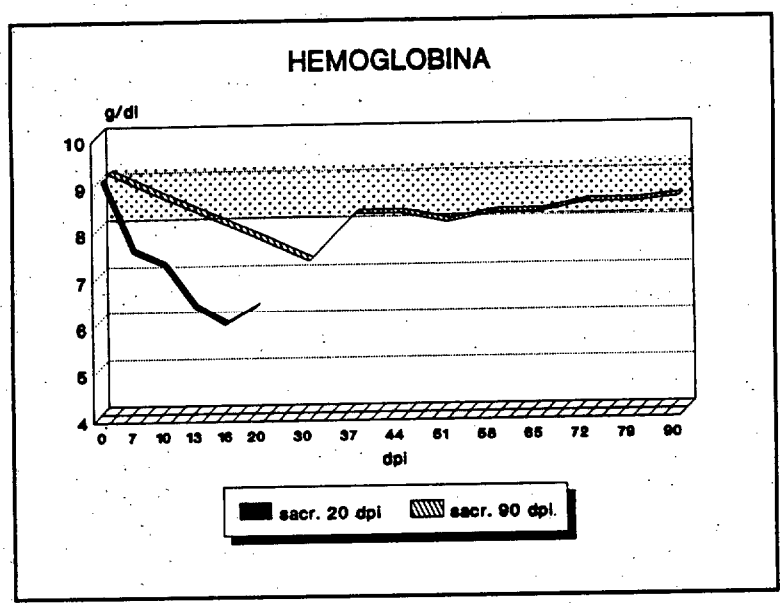


Gráfico 6: NIVELES DE HEMOGLOBINA EN LOS ANIMALES SACRIFICADOS A LOS 20 Y 90 dpi. LA ZONA PUNTEADA REFLEJA LOS LIMITES FISIOLOGICOS EN NUESTRA EXPERIENCIA.

Sin embargo, la más importante fue detectada a los 16 dpi en el que un animal del lote 2 tuvo ese día un valor de 6 g/dl lo que supone una reducción de 3 g/dl con respecto al valor inicial.

También importantes reducciones fueron observadas a los 30 dpi, en el que la hemoglobina descendió entre 1,5 y 2,9 g/dl (de 9,7 g/dl a 8,2 g/dl, de 10,6 g/dl a 7,7 g/dl y de 9,1 a 7,2 g/dl respectivamente en los animales integrantes del lote 3. A partir de ese día los valores aumentaron pero sin alcanzar los obtenidos antes de la infestación.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En el lote control la cantidad de hemoglobina estuvo comprendida mayoritariamente entre 8 y 9,2 g/dl, salvo en uno de los testigo en el que la hemoglobina llegó a ser de 7,6 g/dl sobre los 30 dpi, lo que supuso un descenso de 1,2 g/dl con respecto al valor observado antes de la infestación en este mismo animal.

En el gráfico 6 se refleja la evolución de hemoglobina en los animales sacrificados a los 20 y 90 dpi.

4.2.4.- INDICES HEMATIMETRICOS DE WINTROBE

Durante toda la experiencia ninguno de los índices hematimétricos experimenta variaciones significativas con respecto a los valores obtenidos antes de la infestación.

Así, el volumen corpuscular medio (VCM) osciló entre 19 y 21 μ^3 lo que concuerda con los valores indicados por los autores consultados (15,5-24,5 μ^3, **EDJTEHADI, 1978**).

Para la hemoglobina corpuscular media (HCM) los límites fisiológicos están comprendidos entre 5,25 y 6,5 pg (**EDJTEHADI, 1978**), siendo los valores hallados por nosotros antes y durante la experiencia entre 5,8 y 6,9 pg.

Finalmente, la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) osciló durante toda la experiencia entre 25,8 y 32 g/dl, muy cercanos por tanto, a los valores fisiológicos expresados en la bibliografía que hace referencia a cabras jóvenes (26,3 y 32,4 g/dl, **EDJTEHADI, 1978**).

4.2.5.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS

El límite fisiológico que la mayoría de autores consultados citan, queda establecido entre 4.000 y 14.000 leucocitos/μl (**CASTRO**, *et al.*

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

1977; SCHALM, *et al.* 1981 y FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987).

Por otra parte, EDJTEHADI (1978), en referencia a cabras de 2-3 meses de edad, lo establece en 19.750 ± 2.570 leucocitos/μl. En nuestro trabajo, los niveles de leucocitos circulantes que las cabras muestran antes de la infestación oscilan entre 9.800 y 24.400/μl, el valor medio fue de 16.200/μl.

A partir de estos valores hemos observado algunas variaciones en ciertas fases de la experiencia que comentaremos refiriéndonos a valores medios, debido a que en los animales que componen nuestro colectivo hemos observado la misma tendencia al aumento o a la disminución coincidiendo en el tiempo, por esto, al hablar de valores medios reflejamos la tendencia observada en el colectivo respecto a este parámentro.

Durante la fase intestinal, observamos un aumento progresivo de estos niveles, pues partiendo de unos valores medios de 13.820 leucocitos/μl antes de la infestación , se alcanza el día 7 pi, un nivel medio de 18.233 leucocitos/μl, en los tres animales infestados que fueron controlados ese día.

En el desarrollo de la siguiente fase de emigración larvaria nos encontramos con una disminución progresiva del número de leucocitos que alcanzan el día 13 pi un nivel medio de 10.600 leucocitos/μl, para aumentar de nuevo llegando a los 19.000 leucocitos/μl a los 26 dpi, momento a partir del cual y hasta los 65 dpi, los niveles se estabilizan próximos a los 16.000 leucocitos/μl.

Entre los 72 y 90 dpi, los valores son similares a los obtenidos antes de la infestación.

Por su parte, los animales testigo muestran en todo momento valores comprendidos entre 10.100 y 13.400 leucocitos/μl.

En el gráfico 7 se muestran los valores medios obtenidos en este parámetro. La zona punteada refleja los valores obtenidos en el lote testigo.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

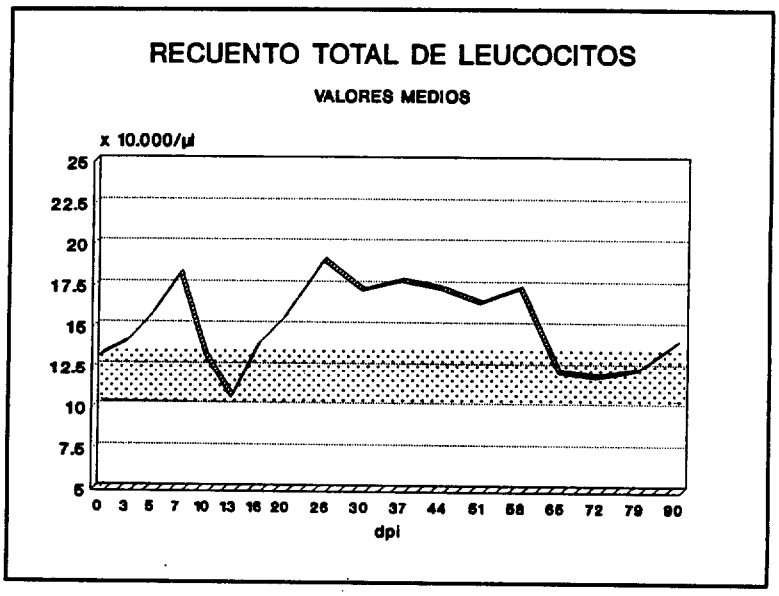


Gráfico 7: NIVELES MEDIOS DE LEUCOCITOS. LA ZONA PUNTEADA REFLEJA LOS VALORES FISIOLOGICOS EN NUESTRA EXPERIENCIA.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.2.6.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS

A lo largo de nuestra experiencia, hemos observado una gran variabilidad en cuanto a los porcentajes de neutrófilos segmentados y de linfocitos tanto en animales infestados como en los testigo.

Así, en los animales no infestados el porcentaje de neutrófilos oscila entre el 30%-67%, y el de linfocitos entre el 33%-60%, valores próximos a los referidos en la bibliografía consultada (30%-51% de neutrófilos y 35%-70% de linfocitos, **CASTRO**, *et al.* **1977**; **EDJTEHADI, 1978**; **SCHALM**, *et al.* **1981** y **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987**).

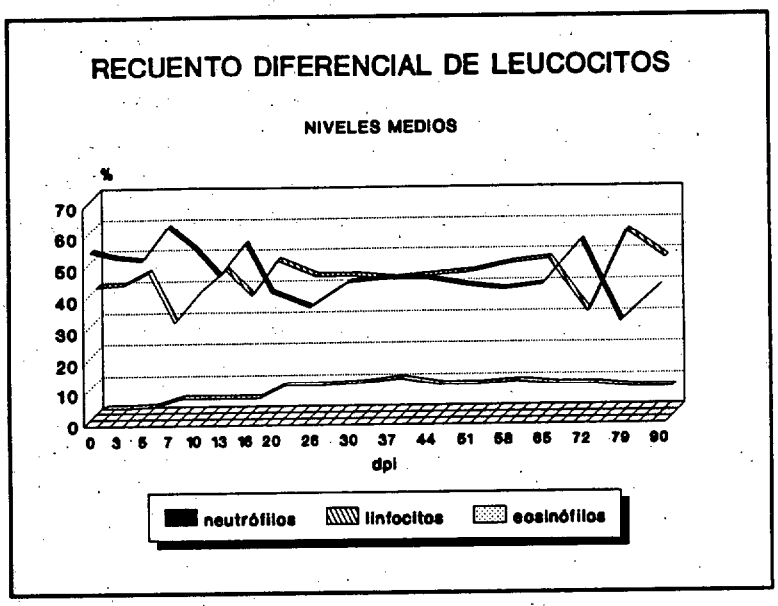


Gráfico 8: VALORES MEDIOS DE NEUTROFILOS, LINFOCITOS Y EOSINOFILOS

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En el colectivo de animales infestados, los valores son similares a los obtenidos en los controles, oscilando entre el 38%-71% los neutrófilos y entre el 31%-65% los linfocitos, sin variaciones individuales que representen continuidad en el tiempo y por lo tanto podamos atribuir algún significado fisiopatológico.

Para eosinófilos, basófilos y monocitos los valores fisiológicos en la cabra están comprendidos entre el 0%-8% en el caso de los eosinófilos, hasta el 4% los monocitos y hasta el 2% los basófilos (**CASTRO**, *et al.* **1977; EDJTEHADI, 1978; SCHALM,** *et al.* **1981** y **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987**).

En nuestra experiencia, con respecto a los eosinófilos, los animales muestran al comienzo de la misma, niveles comprendidos entre 0 y 4%.

Sobre los 20 dpi estos niveles se incrementan ligeramente, detectándose valores medios del 8% entre los 20 y 30 dpi, llegando en un animal a observarse un 12% a los 20 dpi y un 17% a los 30 dpi, sin embargo, el nivel medio es del 10% el día 37 pi, aunque es en este momento cuando hallamos el valor más alto en un animal que presentaba el 20% de eosinófilos. Desde este día y hasta el final de la experiencia los niveles se mantienen entre el 7 y el 9%.

En los animales control el porcentaje de eosinófilos osciló entre el 0 y el 4%.

Los niveles de monocitos detectados en la fase experimental de nuestro trabajo, no muestran diferencias apreciables, oscilando el porcentaje entre el 0 y el 4% sobre el total de leucocitos.

Los basófilos están ausentes durante toda nuestra experiencia.

En el gráfico 8 aparecen los valores medios obtenidos en nuestra experiencia para neutrófilos, linfocitos y eosinófilos.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.3.- BIOQUIMICA SERICA

4.3.1.- PROTEINAS TOTALES

Los resultados obtenidos de proteínas séricas no mostraron variaciones sensibles durante el desarrollo de la experiencia, oscilando los niveles proteicos entre 5,16 y 7,46 g/dl, dentro siempre del rango fisiológico (4,7-8,2 g/dl, **KANEKO, 1980**; **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987** y **LAVIN** *et al.* **1989**).

4.3.2.- FRACCIONES PROTEICAS

Hallamos las siguientes fracciones electroforéticas: albúminas, α, β_1, β_2 y γ-globulinas.

Las proporciones relativas de albúminas obtenidas antes de la infestación estuvieron comprendidas entre 44,1% y 55,5%.

En la bibliografía consultada, se reflejan valores similares, quedando el rango fisiológico comprendido entre 43 y 57% (**KANEKO, 1980**; **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987** y **LAVIN** *et al.* **1989**).

Durante el desarrollo experimental observamos un descenso en el porcentaje de albúminas entre los 20 y 51 dpi. Esto lo observamos en todo el colectivo de animales infestados aunque no con la misma intensidad en todos ellos, y así por ejemplo, el día 20 pi, la albúmina descendió entre un mínimo de 1,7% (del 47% al 45,3%), y un máximo del 13% (de 54,6% a 41%), en el animal infestado perterneciente al lote 5.

Sobre el día 30 pi el descenso es más acusado, encontrando un mínimo de un 6% en dos animales, y siendo el máximo observado en ese día, de un 15,8% en el animal del lote 5. En ese momento, la albúmina era de un 38,8% en ese animal.

En días posteriores aún encontramos niveles de albúmina inferiores, con valores medios del 40%, siendo entre los 37 y 51 dpi, cuando hallamos los niveles más bajos. Así, a los 37 dpi, el valor de albúmina más bajo fue del 35,3%, lo que supuso en ese animal una minoración del 12%; el día 44 pi el nivel más bajo lo alcanzó el animal del lote 5, con un 33,9% de albúmina, lo que representa un 16% menos de albúmina que al comienzo de la experiencia; el día 51 pi otro animal del lote 3 mostraba un 38,5% de albúmina, lo que equivale a un 16,9% menos que antes de la infestación. A partir del día 51 pi y hasta el final de la experiencia los valores paulatinamente van alcanzando niveles similares a los que existían al comienzo del proceso experimental.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

La fracción α-globulina mostró unos porcentajes previos a la infestación comprendidos entre 6,6% y 11,7%. Los niveles fisiológicos expresados por los autores consultados nos los ofrecen comprendidos entre 6,5% y 11% (**KANEKO, 1980**; **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987** y **LAVIN** *et al.* **1989**). En nuestra experiencia, hay una tendencia general al mantenimiento de estos valores, si bien en un animal existieron ligeros aumentos sobre los 51-65 dpi con porcentajes de 17% y 14,8% respectivamente en estos días, lo que supuso un incremento de un 10,4% y un 8,2%. Esta observación no se hizo extensiva al resto del colectivo.

Respecto a la fracción $ß_1$-globulina, obtuvimos, previamente a la infestación, unos porcentajes comprendidos entre 9,1 y 12,8% respecto a las proteínas séricas totales, similares a los valores fisiológicos descritos en la bibliografía consultada (**KANEKO, 1980** y **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987**).

A lo largo de la experiencia hemos observado un ligero incremento de los niveles de esta fracción globulínica, que comenzamos a evidenciar sobre los 7 dpi. En este momento la media en animales infestados es de 12,7%.

En días sucesivos hay un leve pero continuo incremento y a los 20 dpi el nivel medio de esta fracción es de 15,3%, lo que supone incrementos individuales entre 1,8% y 7,6% respecto al valor que estos animales presentaban antes de la infestación. El incremento máximo fue observado a los 30 dpi, en el que dos animales mostraban un 16,6%.

A partir de los 65 dpi los valores descienden a niveles próximos a los detectados antes de la infestación y experimentan una ligera subida (13,5%) en los últimos controles de la experiencia.

La fracción $ß_2$-globulina antes de la infestación mostró unos porcentajes entre 5,1% y 9,4% que también se incluyen dentro del rango fisiológico (4,6-9,3%, **KANEKO, 1980** y **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987**), y se mantienen dentro de estos límites durante el desarrollo experimental.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

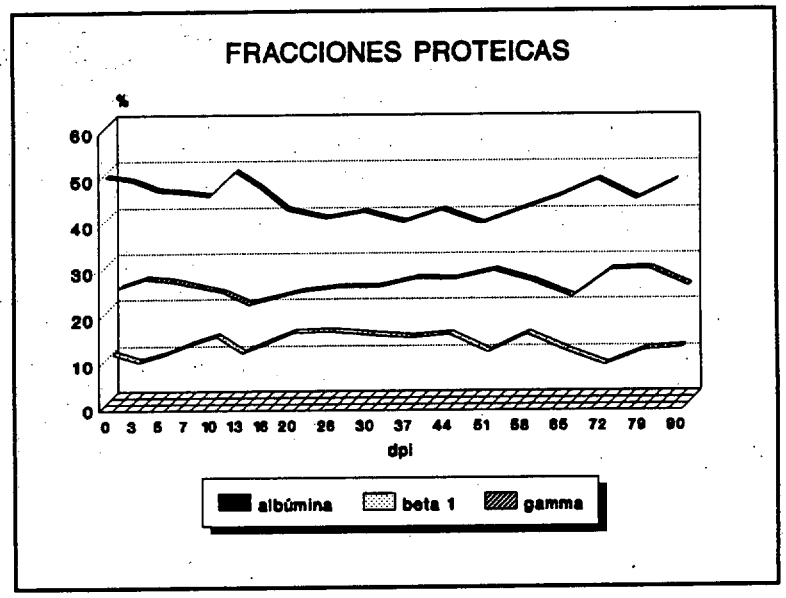


Gráfico 9: EVOLUCION DE LAS FRACCIONES ALFA, BETA 1 Y GAMMAGLOBULINAS DURANTE LA EXPERIENCIA. NIVELES MEDIOS.

Con respecto a la fracción γ-globulina, la bibliografía consultada ofrece unos valores bastante dispares, señalando algunos autores unos porcentajes situados entre 14% y 46% (**KANEKO, 1980**), mientras otros establecen unos valores medios en cabras jóvenes de 28% (**LAVIN, *et al.* 1989; FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987**).

Previamente a la infestación el porcentaje de γ-globulinas osciló entre 21% y 28,3%. En líneas generales no observamos una clara tendencia a la variación de esta fracción globulínica, si bien, en el animal que habíamos tratado con dexametasona, detectamos a partir de los 44 dpi un sensible aumento de la fracción γ-gloubulina con un 42,2% y disminuyendo progresivamente alcanza valores fisiológicos al final de la experiencia.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

La evolución de las fracciones proteicas α, β_1 y γ-globulinas aparece reflejada en el gráfico 9.

Anterior a la infestación obtuvimos un cociente albúmina/globulina que osciló entre 0,78-1,24 similar a los señalados por los autores consultados (0,6-1,26 **KANEKO, 1980**). En este parámetro obtenemos una sensible reducción, coincidiendo con los animales que experimentan hipoalbuminemia. Así, entre los 20 y 51 dpi el rango medio observado para el cociente albúmina/globulina se situó entre 0,67 y 0,76.

Los descensos máximos individuales observados fueron de 0,34 (de 0,88 a 0,54) observados sobre los 37 dpi en un animal sacrificado a los 45 dpi; 0,56 (de 1,24 a 0,68) también a los 37 dpi en un animal sacrificado a los 60 dpi y 0,59 (de 1,24 a 0,68) a los 51 dpi en el animal sacrificado a los 90 dpi.

4.3.3.- GLUCOSA

Según los distintos autores consultados, los niveles de glucosa en la cabra se sitúan entre 42 y 75 mg/dl (**KANEKO, 1980; FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987; LAVIN, *et al.* 1989**).

En nuestra experiencia, antes de la infestación, hallamos una glucemia en torno a los 56-83 mg/dl.

Durante el desarrollo experimental los valores medios se situaron entre 62 y 80 mg/dl, es decir, se presentaron sin ninguna variación a lo largo del periodo.

4.3.4.- UREA

Antes de la infestación los valores de urea se sitúan entre 14 y 43 mg/dl, quedando situados dentro de los límites fisiológicos expresados por otros autores (10-45 mg/dl,. **KANEKO**, 1980; **FERNANDEZ DEL**

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

PALACIO, 1987; LAVIN *et al.* 1989).

Desde los primeros días postinfestación estos valores aumentan notablemente en los animales infestados alcanzando los niveles más altos a los 3 y 7 dpi, en los que obtenemos valores medios de 56,5 y 58 mg/dl respectivamente, llegando un animal a alcanzar 67 mg/dl en estos días.

A partir de los 10 dpi los niveles decrecen y se sitúan los valores medios entre 23 y 36,5 mg/dl, manteniéndose hasta los 72 días en que observamos una ligera elevación, comprendida entre 41 y 49 mg/dl y mantenida hasta los 90 dpi.

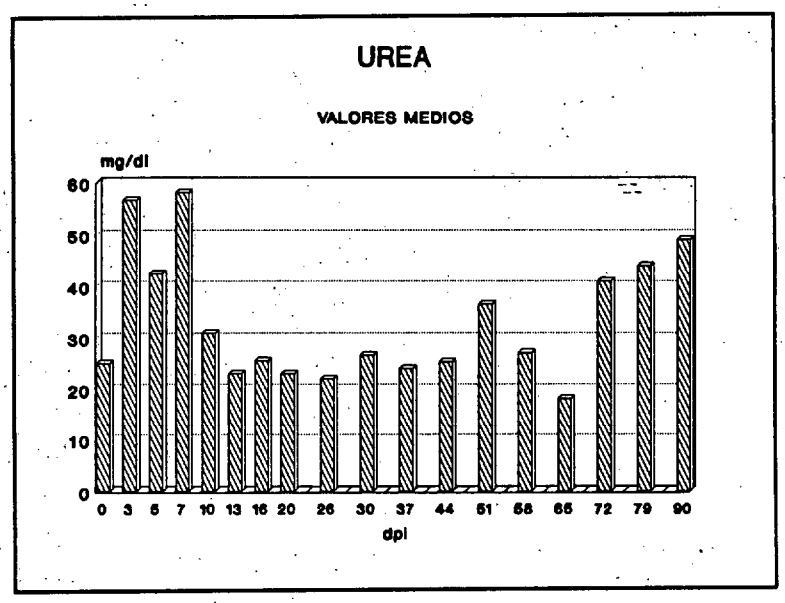


Gráfico 10: NIVELES MEDIOS DE UREA (mg/dl)

En los animales control los niveles de urea estuvieron comprendidos siempre entre 26 y 34 mg/dl.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Los niveles medios de urea a lo largo del proceso experimental quedan reflejados en el gráfico 10.

4.3.5.- LDH

Los valores de actividad enzimática sérica de la LDH en cabras, se extienden, según los diferentes autores, en un amplio rango de 226 a 578 U/l (**CASTRO** *et al.*, **1977**; **LAVIN** *et al.*, **1989**); existiendo, asimismo, cierta discrepancia sobre la influencia de la edad, raza, y sexo (**RUIZ** *et al.*, **1990**), en la actividad de esta enzima.

Antes de la infestación los valores que obtenemos se sitúan entre 467 y 771 U/l, siendo el valor medio de 604 U/l, por lo tanto son, ligeramente superiores a los expresados por los distintos autores.

A partir de los 16 dpi observamos un notable incremento en la actividad sérica de esta enzima que en ese momento no afecta a todo el colectivo de animales infestados, ya que sólo detectamos este aumento en un animal del lote 2 que ese día muestra un valor de LDH de 641 U/l, lo que supone un incremento con respecto del valor al comienzo de 141 U/l. Esta cifra continúa aumentando en días sucesivos y a los 26 dpi el nivel fue de 876 U/l y de 891 U/l a los 30 dpi, momento en el que este animal es sacrificado. A los 30 dpi, es claro el aumento en la actividad sérica de esta enzima en otros dos animales alcanzándose valores de 890 y 991 U/l de LDH, lo que representa un incremento con respecto al valor antes de la infestación de 390 y 524 U/l respectivamente.

En estos animales a partir de los 37 dpi, comenzamos a observar una disminución en los niveles, permaneciendo hasta el momento en que son sacrificados, ligeramente superiores a los observados al comienzo de la experiencia. Otro animal del lote 3 tuvo un claro aumento, aunque sin llegar a los niveles antes comentados, alcanzando el máximo valor el día 65 pi con un incremento en ese momento de 195 U/l (de 548 U/l a 743 U/L), permaneciendo por encima de las 650 U/l hasta el final de la experiencia.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Los animales control mostraron valores comprendidos entre 328 y 518 U/l.

En el gráfico 11 están representados los niveles de esta enzima en el animal del lote 3, sacrificado a los 60 dpi, así como los niveles enzimáticos en el lote control.

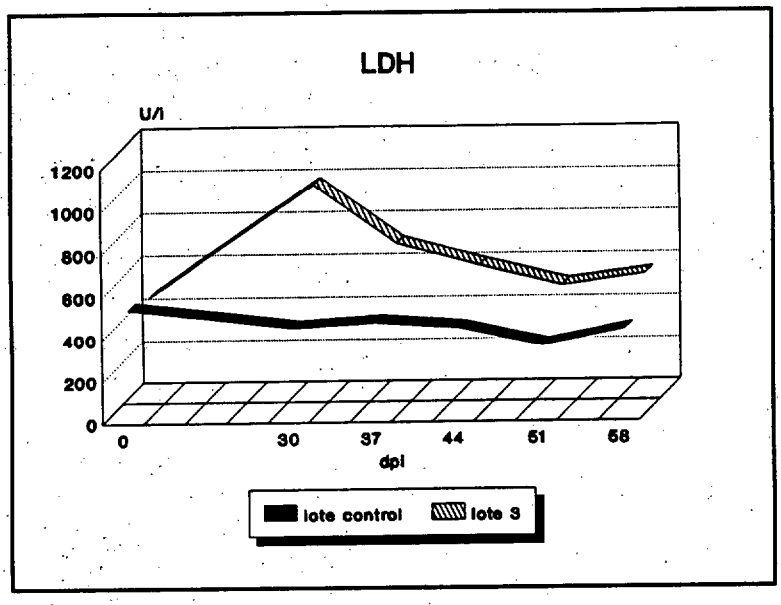


Gráfico 11: NIVELES DE LDH (U/l) EN EL ANIMAL DEL LOTE 3 SACRIFICADO A LOS 60 dpi. Y NIVELES DE LDH EN EL LOTE CONTROL.

4.3.6.- CK

Hay una gran variación en los niveles de CK en el suero de nuestra especie hospedadora, así, mientras se expresan niveles normales de 0,8-8,9 U/l (**KANEKO, 1980**), otros autores establecen los límites fisiológicos entre 75 y 194 U/l (**LAVIN, 1989**)

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En nuestro estudio hallamos, previamente a la infestación, unos valores comprendidos entre 160 y 338 U/l. A lo largo de la experiencia no hemos observado variaciones significativas de estos niveles, ya que la actividad sérica de la CK permaneció en niveles similares a los que los animales mostraron antes del comienzo de la experiencia.

3.4.7.- AST

El rango fisiológico en la actividad de la aspartato aminotransferasa varía significativamente dependiendo de los autores consultados. Así, mientras para algunos el límite fisiológico se sitúa entre 13 y 37 U/l (**KANEKO, 1980**), otros autores establecen un margen mucho más amplio entre 17 y 192 U/l (**RAVIART, 1987**). **LAVIN** *et al.* (**1989**), en cabras jóvenes lo establece entre 56 y 158 U/l, con un valor medio de 71,6 U/l.

Los valores que nosotros obtenemos antes de la infestación son muy similares a los expresados por **LAVIN** *et al.*, ya que quedan comprendidos entre 67 y 153 U/l.

Durante la expreriencia son escasas las variaciones que observamos en este parámetro, no obstante, constatamos un aumento a los 26-30 dpi, aunque no en el 100% de animales infestados, ya que fue detectado en un animal del lote 2 y dos animales del lote 3. Este incremento registrado supuso una elevación entre 37 y 45 U/l con respecto a los valores que estos animales tenían al comienzo.

3.4.8.- ALT

Al igual que ocurre con la actividad sérica de otras enzimas, existe según los distintos autores un amplio margen en los niveles de ALT. Así, algunos sitúan su rango fisiológico entre 0 y 82 U/l (**KANEKO, 1980; FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987; RAVIART, 1987**). En referencia a cabras jóvenes, **LAVIN** *et al.* (**1989**) establecen el margen entre 10 y 30 U/l, con un valor medio de 14,2 U/l.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Los valores que hemos obtenido antes de la infestación se sitúan entre 3 y 18 U/l, no observando ninguna variación durante el desarrollo experimental.

3.4.9.- FOSFATASA ALCALINA

Al igual que lo expresado con otros parámetros, los niveles séricos de actividad de fosfatasa alcalina varían considerablemente según los autores consultados, coincidiendo éstos en la gran variabilidad existente entre razas e incluso entre individuos de una misma raza. Así, los límites fisiológicos se sitúan, según los distintos autores, entre 54 y 1.041 U/l (**KANEKO, 1980; BOGIN,** ***et al.*****, 1981; KRAMER y CARTHEW, 1985, FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987** y **LAVIN,** ***et al.*** **1989**).

Esta misma variabilidad la detectamos nosotros en nuestro colectivo experimental antes de la infestación, obteniendo niveles séricos de actividad fosfatasa alcalina entre 135 y 963 U/l.

Debido a la existencia de márgenes tan alejados, para la descripción de la evolución que sufre esta enzima en nuestra experiencia adoptaremos el criterio de hacerlo individualmente, resaltando sólo aquellos casos que nos aporten una mejor idea de sus alteraciones.

Durante los 7 primeros días postinfestación, observamos en uno de los animales una sensible reducción en los niveles de fosfatasa alcalina, ya que antes de la infestación presentaba 963 U/l y el día 7 pi, 416 U/l. El animal sacrificado el día 5 pi no mostró alteración en los niveles de esta enzima estando el valor entre 123 y 135 U/l.

Por el contrario, en el resto de animales que componen nuestro grupo experimental observamos una tendencia generalizada al aumento en los niveles séricos de fosfatasa alcalina con respecto a los niveles que estos mismos animales mostraban antes de la infestación.

El primer incremento lo detectamos en uno de los animales del lote

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

2, que a los 7-10 dpi casi duplica el valor inicial de la enzima, ya que al comienzo fue de 315 U/l y ascendió a 590 y 566 U/l. En días posteriores descendió llegando a niveles de 293 U/l a los 16-20 dpi, volviéndose a incrementar en días sucesivos.

Así el día 26 pi encontramos un aumento considerable en el nivel sérico de esta enzima con un nivel de 925 U/l, alcanzando el valor de 1121 U/l a los 30 dpi en que fue sacrificado.

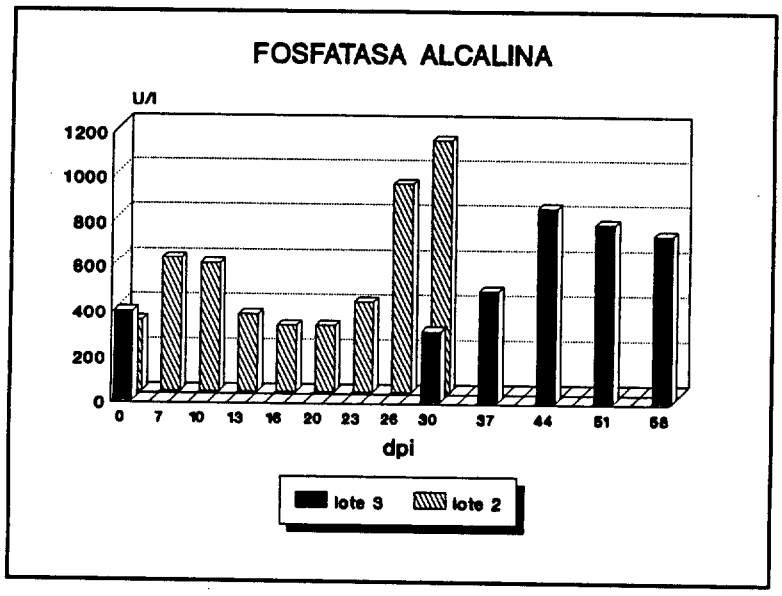


Gráfico 12: NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA EN LOS ANIMALES SACRIFICADOS A LOS 30 Y 60 dpi.

A los 37 días del inicio de la experiencia, el nivel es superior al inicial en los tres animales que componen el lote 3, con aumentos de 318, 94 y 272 U/l respectivamente en los animales sacrificados a los 45, 60 y 90 dpi. Ese día el valor de la fosfatasa alcalina en esos animales fue de 633, 492 y 527 U/l.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Estos valores continúan en aumento y el día 44 pi alcanzan niveles de 813, 861 y 539 U/l respectivamente. A partir del día 51 pi hay un ligero descenso pero continuando casi el doble del valor inicial hasta los 60 y 90 dpi en los que los animales fueron sacrificados.

Durante toda la experiencia los animales control mostraron unos niveles comprendidos entre 361 y 487 U/l.

En el gráfico 12 aparecen los niveles de fosfatasa alcalina en los animales sacrificados los días 30 y 60 pi.

4.3.10.- POTASIO

Observamos, antes de la infestación, unos niveles que oscilan entre 3,62 y 6,11 mEq/l de potasio sérico, los cuales, coinciden con los establecidos como fisiológicos por otros autores, que los sitúan entre 3,2 y 6,7 mEq/l (**CASTRO**, *et al.* **1977**; **KANEKO, 1980**; **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987** y **LAVIN**, *et al.* **1989**).

Estos resultados han permanecido practicamente estables durante la experiencia y sólo destacamos la disminución de estos niveles observada en 2 animales, no coincidiendo en el momento de su presentación.

Así, a los 26 dpi en un animal del lote 2 el nivel sérico de potasio fue de 2,6 mEq/l, lo que supone la mitad del valor que este animal mostró al inicio de la experiencia y durante el desarrollo de la misma. A los 44 dpi otro animal del lote 3 presentó un nivel de 3,22 mEq/l, lo que representa 0,82 mEq/l menos que antes de la infestación.

En los animales testigo, los niveles de potasio permanecen comprendidos entre 3,7 y 5,4 mEq/l, a lo largo de la experiencia.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.3.11.- HIERRO

Los niveles fisiológicos de hierro en suero de cabras oscilan entre 94 y 214 μg/dl (**KANEKO, 1980** y **BIAGI**, *et al.* **1987**). Anteriormente a la infestación observamos en nuestro colectivo experimental niveles séricos de hierro comprendidos entre 84 y 167 μg/dl, con un valor medio de 120 μg/dl.

A lo largo de la experiencia, hemos observado una disminución en estos niveles en el 100% de animales infestados. Esta disminución se hace patente a partir de los 7 dpi, en el que observamos una media de 76 μg/dl (64-94 μg/dl). Entre los 13 y 26 dpi los niveles continúan aún más bajos, siendo los valores medios de 49,5 μg/dl a los 13 dpi, 52 μg/dl a los 20 dpi y 81 μg/dl a los 26 dpi.

A partir de los 30 dpi, estos valores aumentan, con niveles ligeramente superiores, en todos los animales infestados, que los detectados antes de la infestación, oscilando estos niveles medios hasta el final de la experiencia entre 138 y 200 μg/dl.

De todos los animales infestados es el del lote 5, en el que observamos de forma más importante esta disminución, que comienza a manifestarse desde los primeros días, siendo el nivel a los 7 dpi de 10 μg/dl. Entre los 13 y 30 dpi este nivel se mantiene de 30 a 45 μg/dl y a partir de los 44 dpi, obsevamos un aumento, manteniéndose entre 98 y 158 μg/dl, hasta el final de la experiencia.

En el lote control el nivel se estableció entre 117 y 217 μg/dl.

En el gráfico 13, se muestran los niveles de hierro sérico observados en nuestro experimento en los animales infestados (valores medios), en el tratado con dexametasona e infestado y en el lote control.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

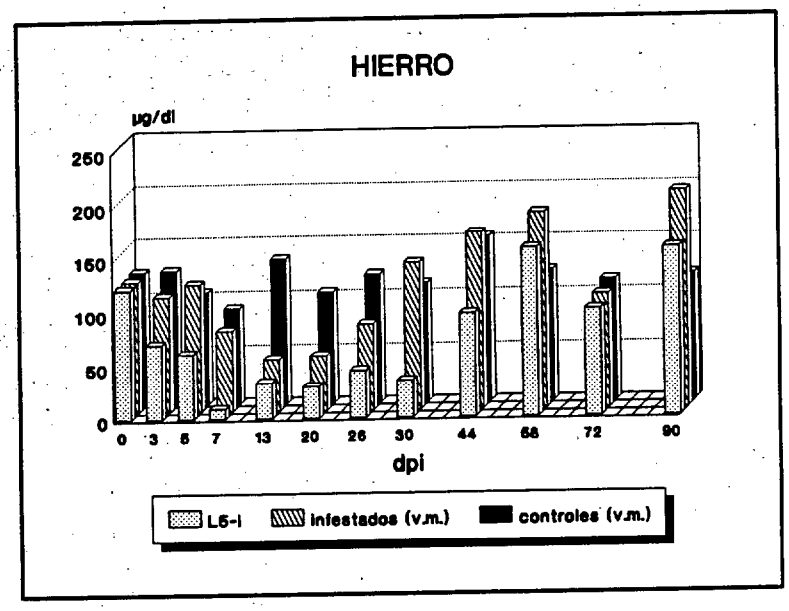


Gráfico 13: NIVELES DE HIERRO SERICO A LO LARGO DE LA EXPERIENCIA.
L5-I.(infestado lote 5), infestados v.m. (valores medios) y controles v.m. (valores medios).

4.3.12.- OTROS PARAMETROS BIOQUIMICOS

4.3.12.1.- SODIO

Previamente a la infestación detectamos unos niveles comprendidos entre 138 y 149 mEq/l, siendo los valores normales referidos por los autores consultados de 139-155 mEq/l (**CASTRO**, *et al.* **1977**; **KANEKO, 1980**; **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987** y **LAVIN**, *et al.* **1989**).

Durante todo el desarrollo experimental no encontramos ninguna variación en los niveles séricos de sodio.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.3.12.2.- CLORO

Los niveles normales de cloro sérico se sitúan entre 105-121 mEq/l (**CASTRO**, *et al.* **1977**; **KANEKO, 1980** y **BIAGI**, *et al.* **1987**). En nuestro experimento, antes de la infestación el nivel de cloro osciló entre 93 y 107 mEq/l, permaneciendo estable durante todo el proceso experimental.

4.3.12.3.- MAGNESIO

Con respecto a los niveles de magnesio sérico tampoco hemos observado ninguna alteración durante el desarrollo de nuestro experimento. Los niveles quedan comprendidos entre 1,7 y 2,5 mg/dl, coincidiendo estos valores con los expresados por otros autores (**CASTRO**, *et al.* **1977**; **KANEKO, 1980**; **BIAGI**, *et al.* **1987** y **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987**).

4.3.12.4.- CALCIO

Los niveles de calcio sérico dados como fisiológicos por los autores consultados se sitúan entre 7,2 y 11,7 mg/dl (**KANEKO, 1980**; **BIAGI**, *et al.* **1987**; **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987** y **LAVIN**, *et al.* **1989**).

Los obtenidos por nosotros, previamente a la infestación, quedan comprendidos entre 8,8 y 11,2 mg/dl. Estos valores premanecieron prácticamente constantes durante toda la experiencia.

4.3.12.5.- FOSFORO

Los valores que los autores consultados establecen como normales para el fósforo inorgánico en suero de cabras, oscilan normalmente en un rango comprendido entre 4,10 y 10,99 mg/dl (**KANEKO, 1980**; **BIAGI**, *et al.* **1987**; **FERNANDEZ DEL PALACIO, 1987** y **LAVIN**, *et al.* **1989**).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En nuestra experiencia, previamente a la infestación, obtuvimos unos niveles de fósforo comprendidos entre 4,30 y 11,98 mg/dl, permaneciendo sin variaciones significativas durante el experimento.

4.3.12.6.- γ-GT (GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA)

Antes de la infestación el nivel sérico de esta enzima osciló entre 23 y 47 U/l, siendo el valor medio de 31 U/l. A lo largo de los 90 días ha permanecido dentro de estas límites que son similares a los expresados por otros autores como fisiológicos para la cabra (32 U/l, **KANEKO, 1980** y 26-43 U/l, **LAVIN** *et al.*, **1989**).

4.3.12.7.- CREATININA

El nivel de creatinina sérica no ha sufrido ningún incremento durante el experimento, ajustándose a los valores obtenidos al comienzo del mismo y que se situaron entre 0,32 y 0,99 mg/dl, siendo éstos ligeramente inferiores a los expresados por la mayoría de autores como valores normales (1-1,8 mg/dl, **CASTRO** *et al.*, **1977**; **KANEKO, 1980**; **LAVIN** *et al.*, **1989**).

4.3.12.8.- BILIRRUBINA TOTAL

Los valores fisiológicos de bilirrubina sérica en la especie caprina pueden oscilar entre 0-0,69 mg/dl (**CASTRO** *et al.*, **1977**; **KANEKO, 1980** y **FERNANDEZ DEL PALACIO** *et al.*, **1991**).

En las cabras objeto de nuestro estudio antes de la infestación los valores se situaron entre 0,10 y 0,23 mg/dl.

A lo largo de la experiencia hemos detectado ligeras elevaciones con respecto a estos valores afectando a distintos animales y siempre de forma aislada, no superando en ningún caso 0,5 mg/dl.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.4.- ANALITICA EN ORINA

En referencia al análisis tanto fisico-químico como microscópico de la orina de los animales que componen nuestro colectivo experimental, y dado que sólo pudimos disponer de una muestra por animal, recogida en el momento de su sacrificio, no podremos comparar los resultados obtenidos con los que pudieran tener antes de la infestación.

Con respecto a la densidad urinaria ésta osciló entre 1.027 y 1.070.

El pH osciló entre 7 y 9.

En todo momento hubo ausencia de leucocitos, hematíes, hemoglobina, nitritos, glucosa, cuerpos cetónicos y bilirrubina, igualmente, la tasa de urobilinógeno fue normal en todas las muestras.

Con respecto a las proteínas, éstas estuvieron ausentes en todas las muestras, salvo en la procedente del animal del lote 3, sacrificado a los 90 dpi. La proteinuria detectada en este animal alcanzó 500 mg/dl.

El estudio microscópico del sedimento urinario, demostró la ausencia de elementos celulares o de otra naturaleza, excepto en el animal que mostró proteinuria en el que se detectaron algunos cilindros epiteliales.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.5.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

4.5.1.- APARATO DIGESTIVO

Desde los primeros días postinfestación, macroscópicamente, el aparato digestivo, presenta un aspecto hiperémico (Fig. 1 y 4), acompañado en algunas ocasiones de abundante secreción mucosa, junto con un aumento de tamaño de las placas de Peyer, aumento que, si bien es ligero a los 5 y 8 dpi, resulta más manifiesto a partir de los 20 dpi y hasta los 30 dpi, llegando a ser intenso hasta el final de la experiencia.

Microscópicamente, a nivel intestinal, encontramos en los días 5 y 8 pi un proceso de enteritis catarral descamativa (Fig. 2), que se mantiene hasta los 23 dpi (Fig. 3), coincidiendo su desaparición a los 30 dpi, con la aparición de un proceso de enteritis crónica hiperplásica (Fig. 6).

Histopatológicamente, a nivel de placas de Peyer, se presenta desde el 5° dpi un proceso hipertrófico (Fig. 5), junto con procesos de reticulohistiocitosis y linfocitolisis, hechos que observamos de forma moderada hasta los 30 dpi, y de forma muy intensa desde el día 45 pi hasta el final de la experiencia.

A nivel de capa muscular, en lo referente a procesos vasculares, observamos hiperemia y edema, muy intensos durante los primeros días de la experiencia y en disminución paulatina hasta los 45 dpi, (Fig. 13), desapareciendo a partir de los 60 dpi.

Los procesos de miofibrolisis y miositis simple aparecen de forma muy ligera a los 45 dpi y se mantienen con la misma intensidad hasta el final de la experiencia (Fig. 14).

El animal infestado del lote 5, presenta a los 90 dpi una enteritis crónica hiperplásica. En placas de Peyer se observa igualmente un proceso hipertrófico junto a reticulohistiocitosis y linfocitolisis.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Fig. 1.- Enteritis catarral con hipertrofia de gánglios linfáticos mesentéricos (5 dpi).

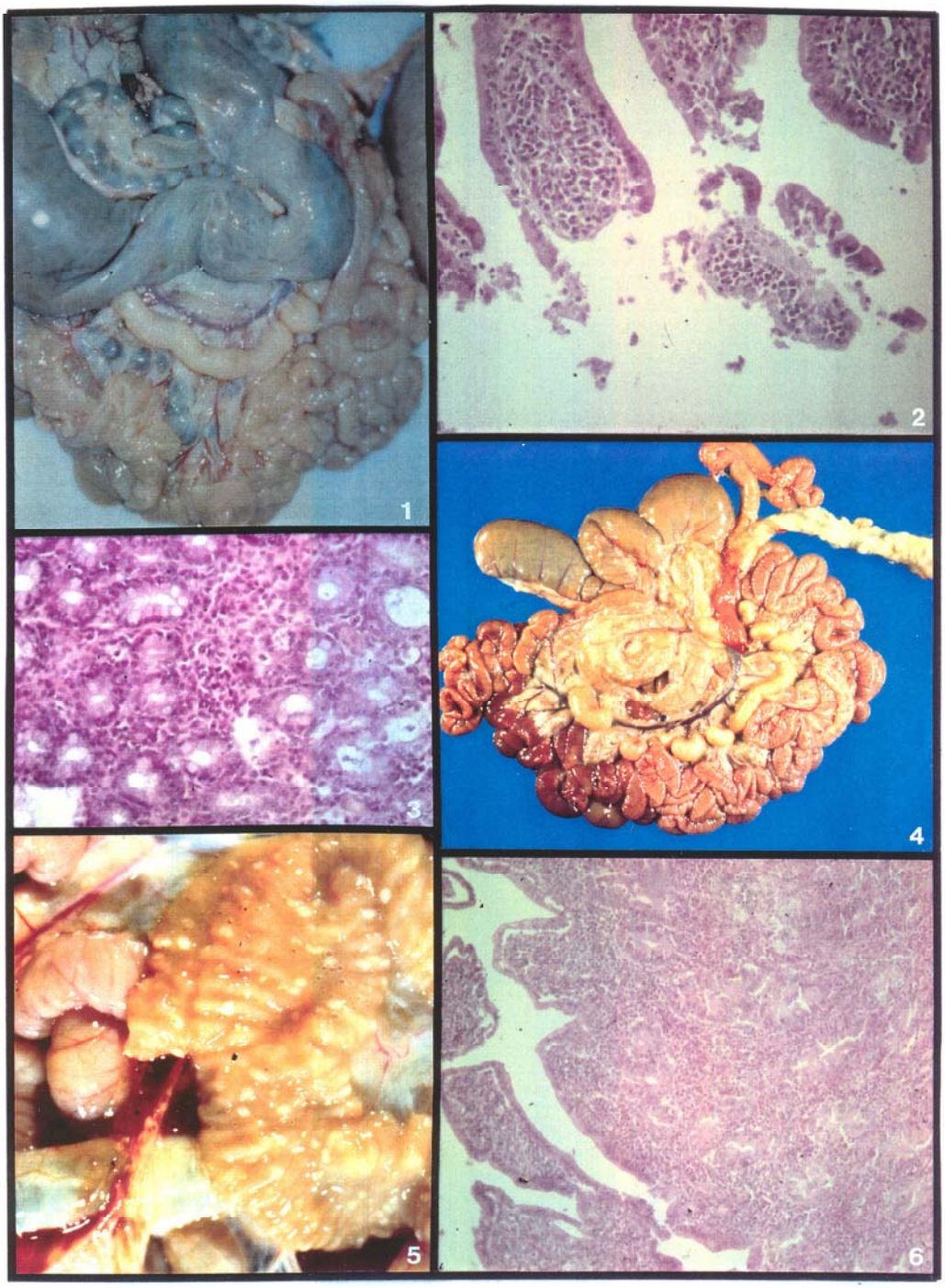
Fig. 2.- Enteritis descamativa (250 x) (5 dpi).

Fig. 3.- Enteritis catarral (250 x) (23 dpi).

Fig. 4.- Enteritis catarral generalizada. Enteritis necrótico hemorrágica de ileon (8 dpi).

Fig. 5.- Enteritis catarral en ileon. Hipertrofia de placas de Peyer (20 dpi).

Fig. 6.- Enteritis crónico hiperplásica (180 x) (44 dpi).



©Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Bibliotecs Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.5.2.- TEJIDO MUSCULAR ESQUELETICO

A partir de muestras tomadas de diafragma, maseteros, lengua, intercostales, flexores y extensores, encontramos desde los 5 dpi, una intensa reacción vascular representada por fenómenos de hiperemia y edema. Estos procesos se mantienen de forma intensa a los 8 dpi y comienzan a disminuir en intensidad a los 20 dpi, apareciendo de forma muy ligera a los 30 y 45 dpi, momento a partir del cual desaparecen.

Un proceso de degeneración zenkeriana comienza a evidenciarse de forma ligera a los 20 dpi (Fig.7), continuando con poca intensidad hasta los 30 dpi, momento que coincide con la aparición de lisis miofibrilar. Degeneración zenkeriana y miofibrolisis están presentes de forma moderada a los 45 dpi, y son muy intensos a los 60 y 90 dpi (Fig. 10 y 11).

Las reacciones inflamatorias generalizadas que constituyen un cuadro de miositis simple se observan de forma poco intensa desde los 20 a los 30 dpi, siendo el proceso de intensidad media a los 45 dpi, y ya muy intenso a los 60 y 90 dpi.

Las reacciones inflamatorias localizadas, constituyendo procesos granulomatosos, comienzan con poca intensidad a los 30 dpi y están presentes hasta el final de la experiencia de forma muy intensa. (Fig. 8, 9 y 10). Cabe destacar la presencia de quistes parasitarios intrafibrilares desde los 20 dpi, que si bien son poco numerosos hasta los 30 dpi, aumentan considerablemente a partir del día 45 pi, estando presentes ya de forma muy intensa en los días 60 y 90 pi (Fig. 8 y 9).

En el animal infestado del lote 5 los hallazgos se corresponden con las observaciones realizadas en los animales sacrificados los días 60 y 90 pi, siendo muy intensos, por tanto, los procesos de degeneración zenkeriana, miofibrolisis, miositis simple, así como, la presencia de granulomas.

Finalmente señalar que en este animal así como, en el sacrificado a los 90 dpi, se observó macroscópicamente en diafragma zonas blanquecinas de miodegeneración (Fig. 12).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Fig. 7.- Musculatura esquelética. Miodegeneración (350 x) (20 dpi).

Fig. 8.- Lengua. Quistes parasitarios junto a reacción granulomatosa (250x) (44 dpi).

Fig. 9.- Musculatura esquelética. Quistes parasitarios junto a reacción granulomatosa (180 x) (90 dpi).

Fig. 10.- Musculatura esquelética. Degeneración zenkeriana. Presencia de granulomas parasitarios (180 x) (90 dpi).

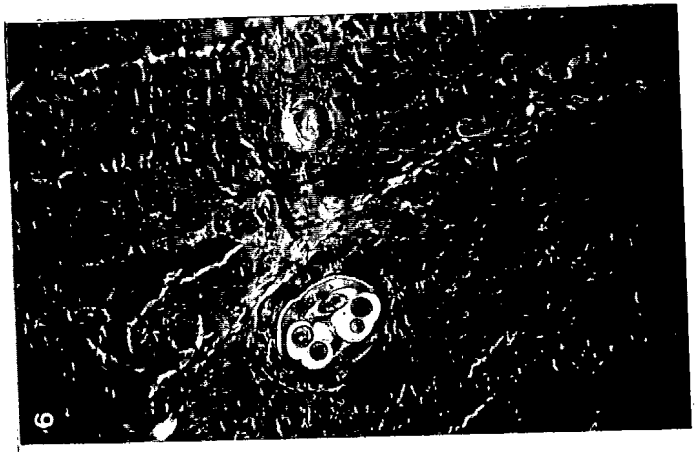
Fig. 11.- Musculatura esquelética. Miofibrolisis (180 x) (90 dpi).

Fig. 12.- Diafragma. Zonas blanquecinas de miodegeneración (90 dpi).

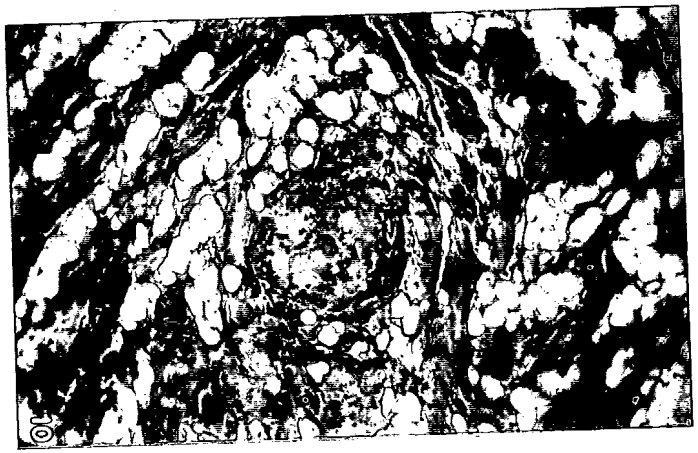
Fig. 13.- Musculatura lisa intestinal. Edema interfascicular (250 x) (45 dpi).

Fig. 14.- Musculatura lisa. Miositis tras extravasación de elementos formes (180 x) (90 dpi).

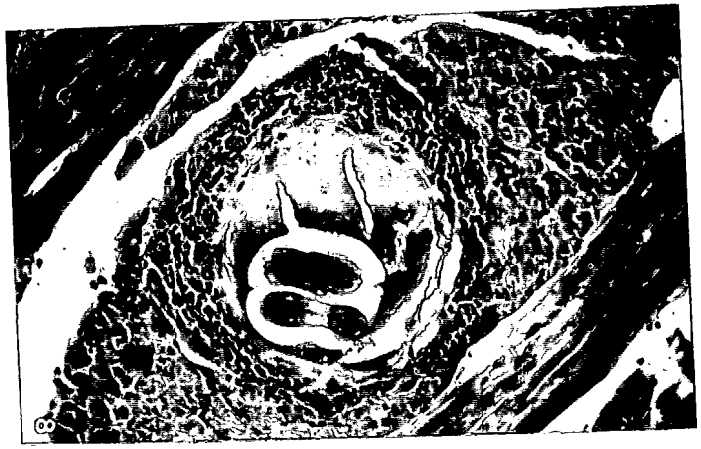
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004



9

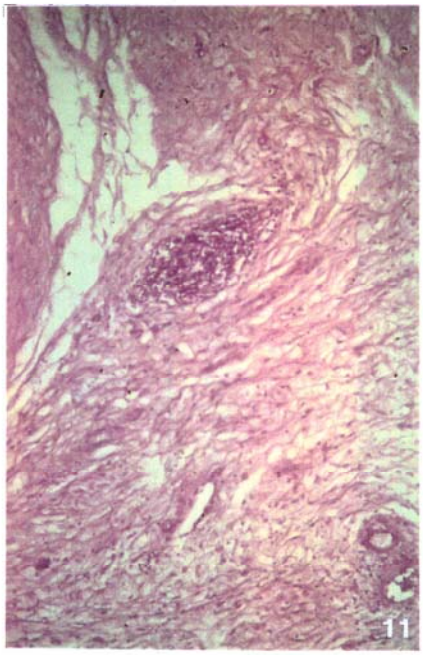


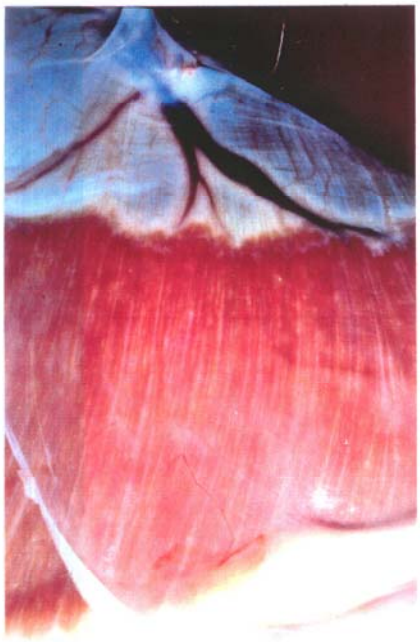
10

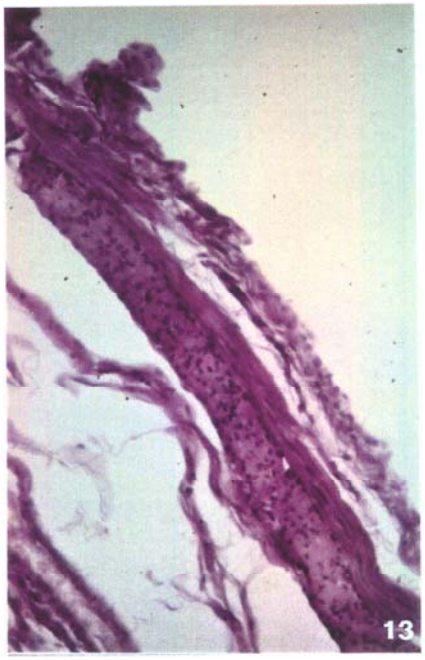


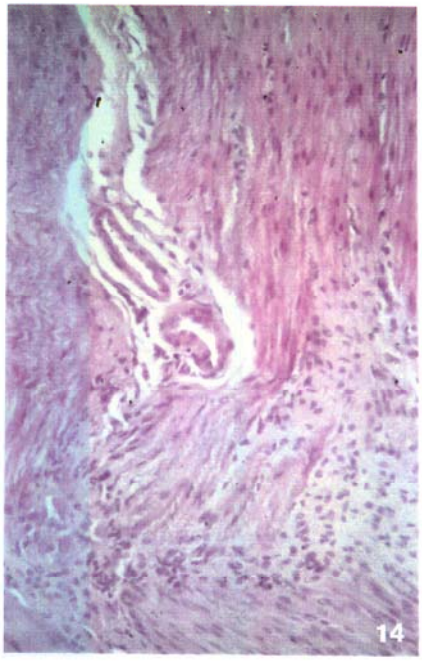
8

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004









© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

11.

13.

14.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.5.3.- MUSCULATURA CARDIACA

En musculatura cardíaca se observan procesos de hiperemia intensos y edema interfascicular desde el día 5 pi. A los 20 y 30 dpi se mantienen en niveles medios (Fig. 15), y a los 45 dpi aparecen de forma escasa.

Desde el 5° dpi es observada una reacción inflamatoria o miocarditis simple, fenómeno que aumenta progresivamente hasta los 20 ó 23 dpi (Fig. 16), en los que alcanza una gran intensidad. A partir de los 30 dpi, este proceso tiende a remitir apareciendo sólo muy levemente en el animal sacrificado a los 45 dpi.

Como fenómeno contrapuesto, es a partir de los 30 dpi cuando comienzan a evidenciarse granulomas miocárdicos (Fig. 17), que si bien son escasos hasta los 45 dpi, aumentan a los 60 y 90 dpi (Fig. 18).

En el animal infestado del lote 5, se observa un proceso de miocarditis granulomatosa de gran intensidad (Fig. 20).

4.5.4.-HIGADO

A nivel hepático, observamos desde los primeros días postinfestación trastornos vasculares generalizados en forma de estasis centrolobulillar, proceso que alcanza su máximo grado en los días 20 y 23 pi y aunque con menor intensidad, se mantiene hasta el final de la experiencia.

Se observa también un proceso de degeneración glucogénica evidenciable desde el día 5 pi y que permanece hasta el día 90 pi (Fig. 24).

Así mismo, observamos una reacción inflamatoria generalizada que constituye un cuadro de hepatitis simple celular, proceso que alcanza una gran intensidad a los 30 dpi y se matiene hasta el día 90 pi.

Cabe también destacar, la existencia de pequeños granulomas distribuidos por el parénquima hepático evidenciables en escaso número a los 45 dpi (Fig. 23), y de forma más intensa a los 90 dpi (Fig. 25).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Fig. 15.- Corazón. Hiperemia en musculatura cardiaca (180 x) (20 dpi).

Fig. 16.- Corazón. Miocarditis simple celular (250 x) (23 dpi).

Fig. 17.- Corazón. Granuloma miocárdico (250 x) (30 dpi).

Fig. 18.- Corazón. Miocarditis granulomatosa (180 x) (90 dpi).

Fig. 19.- Corazón. Atrofia serosa. Miodegeneración miocárdica en borde apical (45 dpi).

Fig. 20.- Corazón. Miocarditis granulomatosa (180 x) (90 dpi).

Fig. 21.- Hígado. Degeneración hepática. Tumefacción turbia (8 dpi).

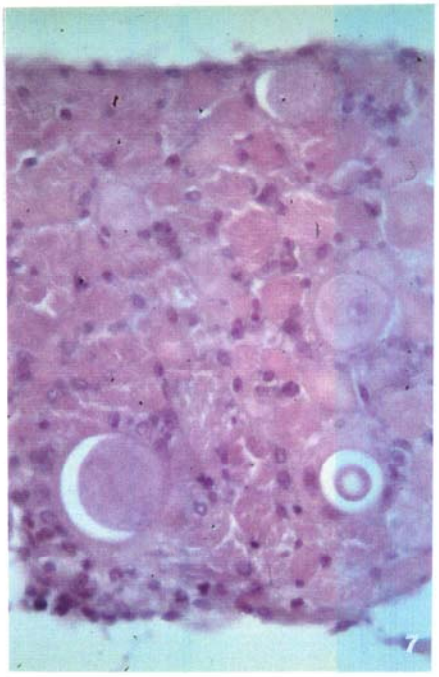
Fig. 22.- Hígado. Hemorragia subcapsular con zona de degeneración. Repleción de vesícular biliar (23 dpi).

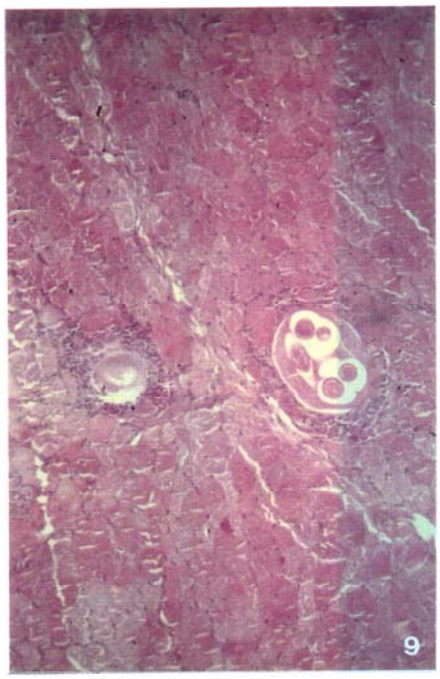
Fig. 23.- Hígado. Granulomas hepáticos (250 x) (45 dpi).

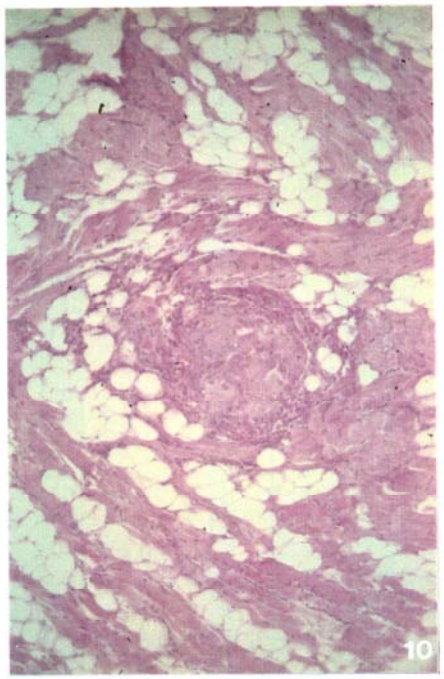
Fig. 24.- Hígado. Degeneración glucogénica (350 x) (90 dpi).

Fig. 25.- Hígado. Granulomas hepáticos (250 x) (90 dpi).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

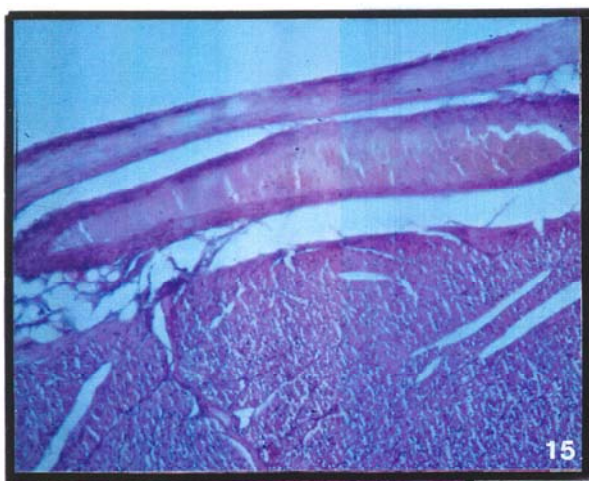


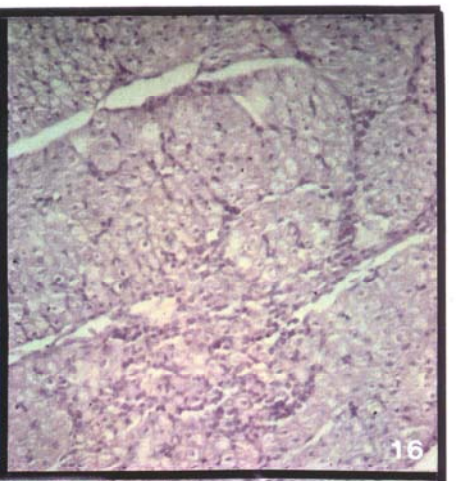


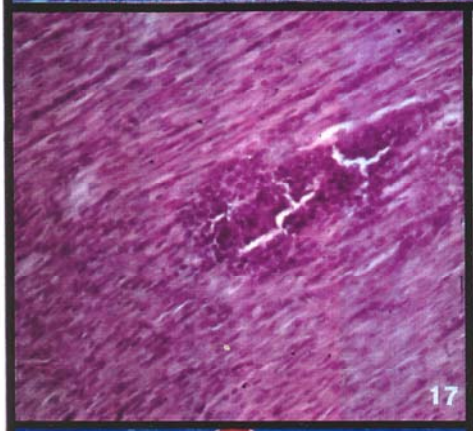


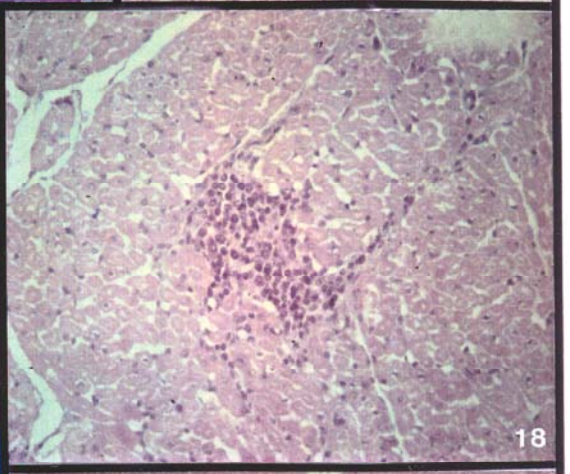
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

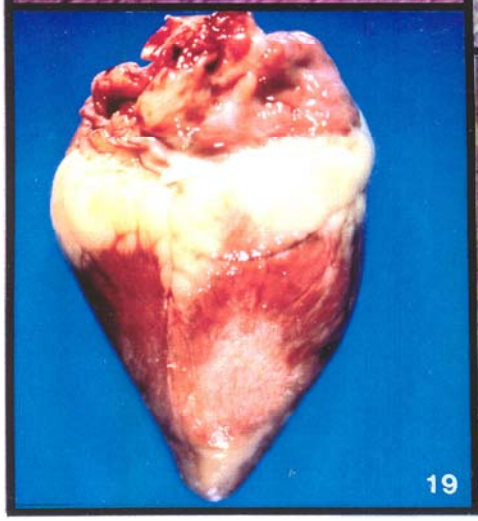
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

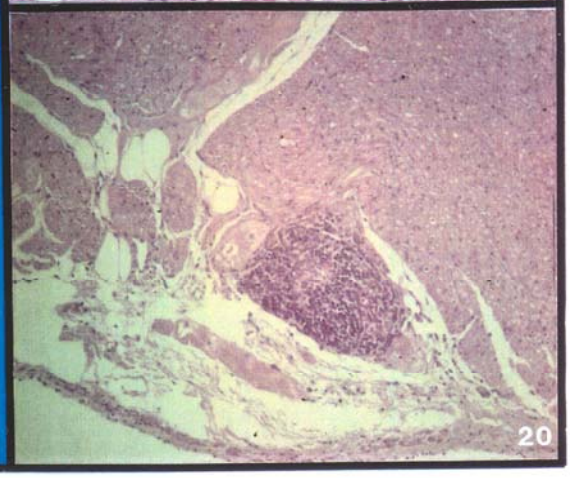






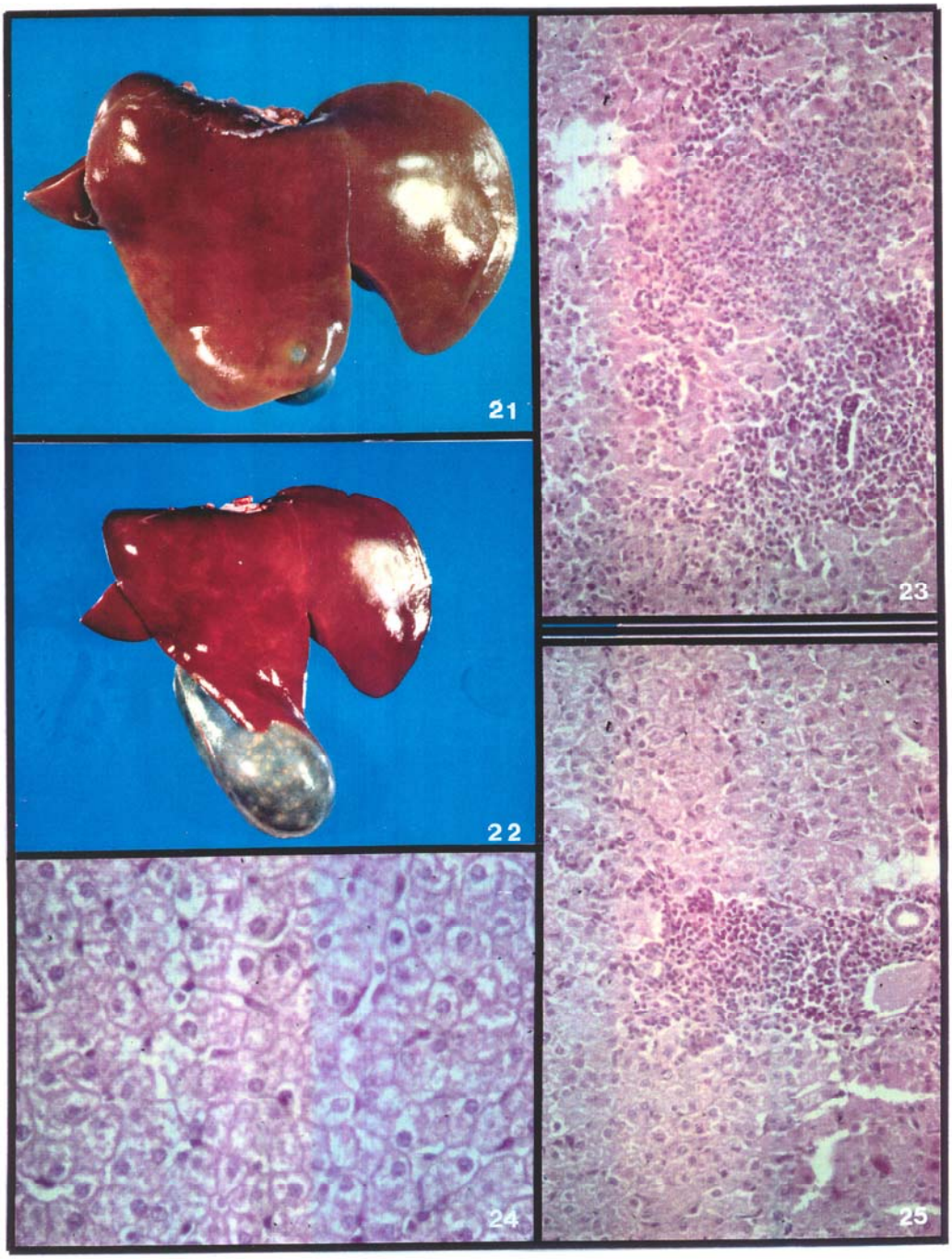






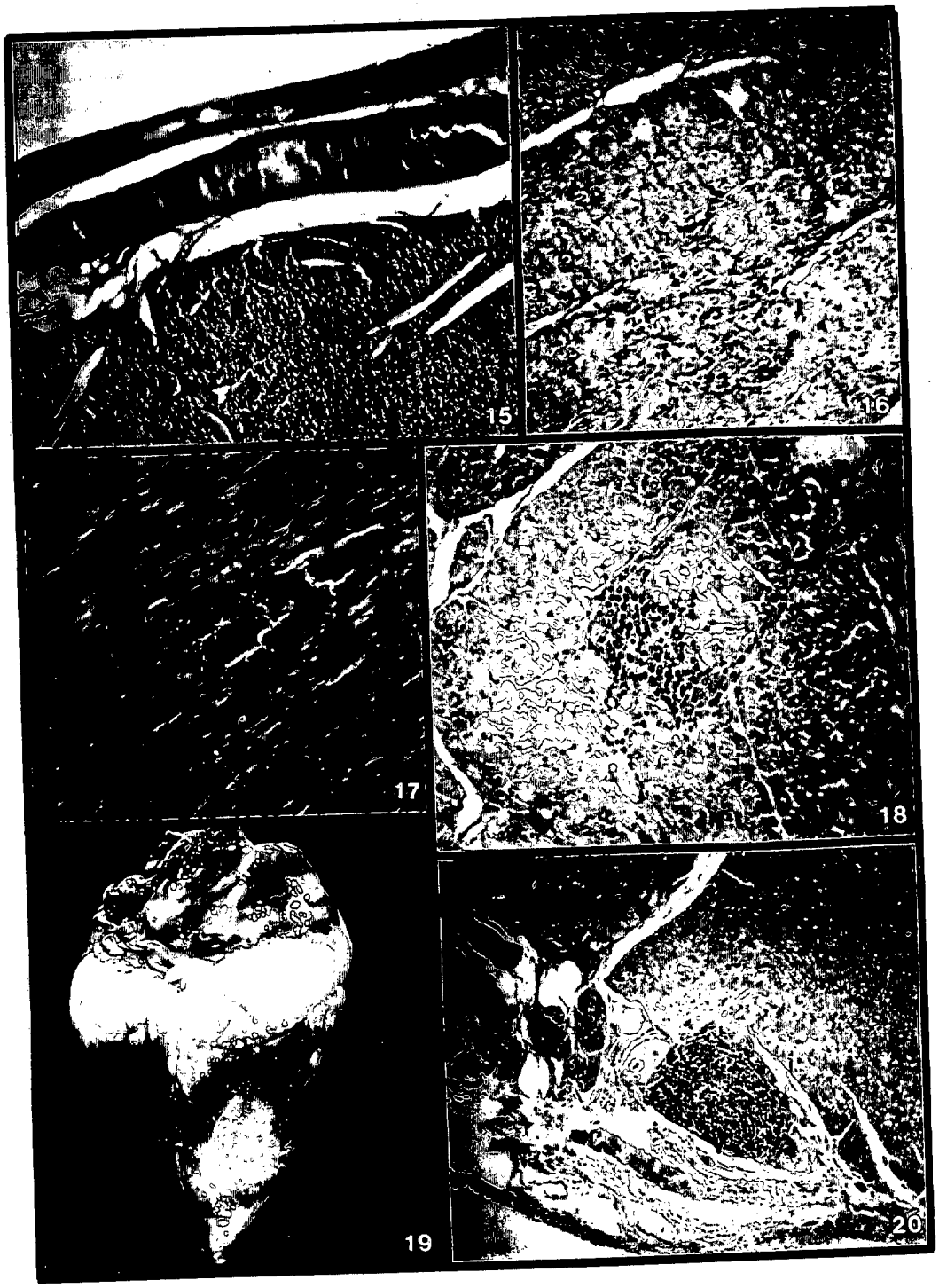
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004



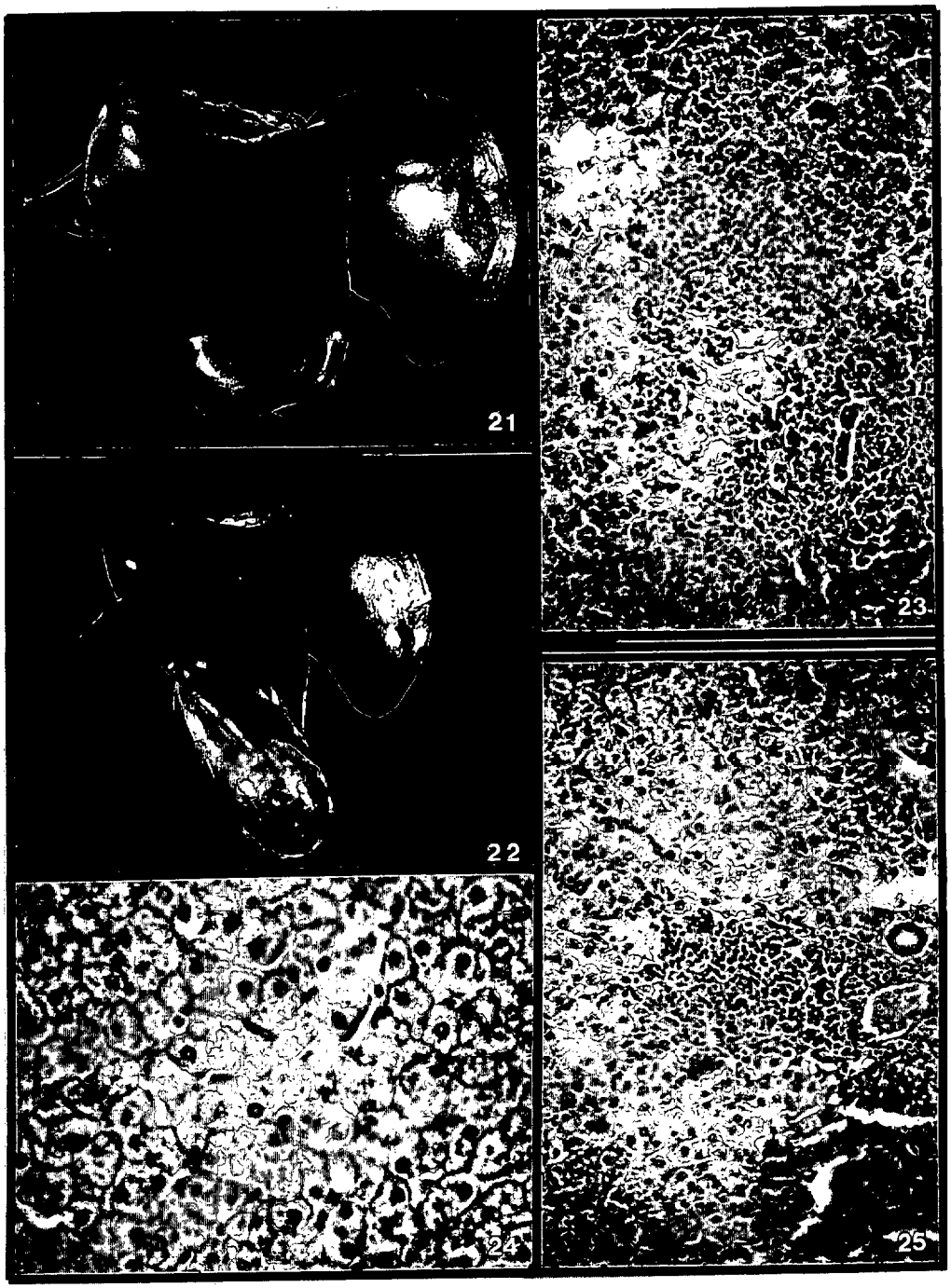
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004



© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004



© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.5.5.-RIÑON

Las alteraciones encontradas a nivel renal afectan tanto al sistema tubular como al intersticio del órgano.

A nivel tubular, encontramos un proceso inflamatorio generalizado, que a los 5 y 8 dpi, constituye un proceso de glomerulonefritis de cambios mínimos. A los 20 y 23 dpi la glomerulonefritis es membranosa (Fig. 28) y a partir de los 30 dpi, el cuadro se presenta como una glomerulonefritis membrano-proliferativa, con importante proliferación de células mesangiales (Fig. 29 y 30).

En sistema tubular hallamos lesiones de degeneración tubular, que de forma escasa aparecen ya a los 7 dpi; este proceso aumenta progresivamente su intensidad, siendo muy manifiesto a los 60 y 90 dpi. Consecuencia de esta degeneración, con importante descamación de células epiteliales es la aparición desde los 30 dpi de necrosis tubular, proceso que aumenta a medida que aumenta la degeneración tubular.

A nivel intersticial, destacamos la presencia de edema que es moderado a los 5 dpi, muy intenso a los 7 dpi (Fig. 26 y 27) y se mantiene de forma moderada hasta los 30 días. A partir de los 45 dpi el edema no se evidencia, pero sí aparece un infiltrado celular, formado por linfocitos e histiocitos, constituyendo un proceso de nefritis intersticial, que llega a ser intenso al final de la experiencia.

En el animal infestado del lote 5, destacamos la existencia de una glomerulonefritis membranoproliferativa, e intensas degeneración y necrosis tubular. En intersticio es manifiesta la nefritis intersticial con abundante inflitrado de linfocitos e histiocitos. (Fig. 31)

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Fig. 26.- Riñón. Edema itersticial (250 x) (5 dpi).

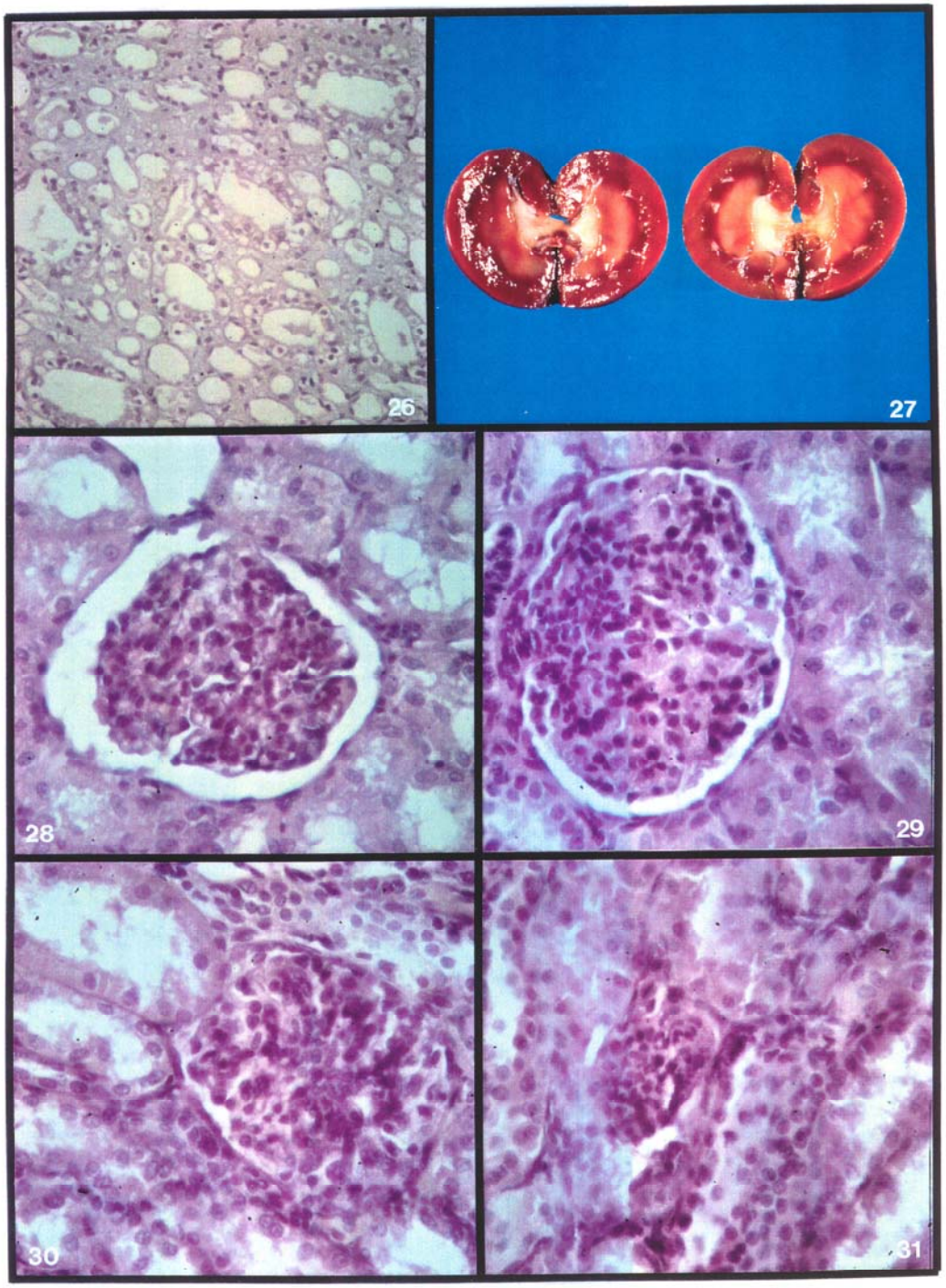
Fig. 27.- Riñón. Edema e hiperemia en zona paracortical con proyección medular (corte izquierdo) (8 dpi).

Fig. 28.- Riñón. Glomerulonefritis membranosa (350 x) (20 dpi).

Fig. 29.- Riñón. Glomerulonefritis membranoproliferativa (350 x) (45 dpi).

Fig. 30.- Riñón. Glomerulonefritis membranoproliferativa (350 x) (90 dpi).

Fig. 31.- Riñón. Nefritis intersticial (350 x) (90 dpi).



© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.5.6.-BAZO Y GANGLIOS LINFATICOS

A nivel de bazo encontramos tanto a los 5 como a los 7 dpi, una esplenitis hiperplásica reactiva (Fig. 33). Esto hace que macroscópicamente el órgano se muestre ligeramente aumentado de tamaño por estasis venoso, con expansión de pulpa roja y blanca (Fig. 32). Este proceso inflamatorio, que es agudo en los primeros días postinfestación, aparece con carácter crónico a partir del día 20 pi, haciéndose más intenso progresivamente, y siendo muy manifiesto a los 45, 60 y 90 dpi.

Paralelamente y siguiendo la misma cadencia de aumentar a medida que la experiencia avanza, encontramos hipertrofia folicular (Fig. 34), reticulohistiocitosis y linfocitolisis (Fig. 35).

A nivel de médula encontramos una expansión de pulpa roja muy manifiesta a los 7 dpi y de forma escasa a partir de los 30 dpi.

En gánglios linfáticos, los procesos encontrados son similares a los descritos para el bazo, con un cuadro de linfoadenitis hiperplásica reactiva (Fig.37), en el que los gánglios aparecen con hipertrofia y edema (Fig. 36). Este proceso es agudo en un principio y aparece como crónico a partir del día 20 pi. Se observa igualmente hipertrofia folicular y reticulohistiocitosis.

En la zona medular encontramos un proceso catarral a nivel de senos (Fig. 38) con importante descamación de células y lisis de linfocitos(Fig. 39). Alcanza una gran intensidad a partir de los 30 dpi.

Con respecto al animal infestado del lote 5, cabe señalar que tanto a nivel de bazo como de gánglios linfáticos hemos encontrado de forma moderada las mismas lesiones descritas anteriormente y de forma muy intensa los procesos de linfocitolisis tanto a nivel esplénico como ganglionar. Igualmente fue muy intensa la expansión de pulpa roja hallada en bazo.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Fig. 32.- Bazo. Esplenomegalia por estasis venoso. Expansión de pulpa roja y blanca (punteado intermedio) (8 dpi).

Fig. 33.- Bazo. Esplenitis hiperplásica reactiva aguda (250 x) (8 dpi).

Fig. 34.- Bazo. Esplenitis hiperplásica. Hipertrofia folicular (250x) (45 dpi).

Fig. 35.- Bazo. Hipertrofia folicular. Linfocitolisis. Estasis venoso (250 x) (45 dpi).

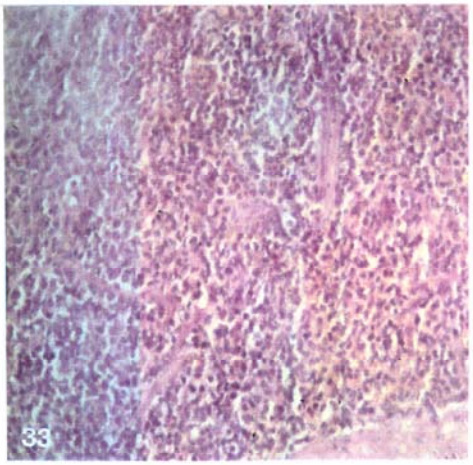
Fig. 36.- Gánglio linfático. Hipertrofia y edema (8 dpi).

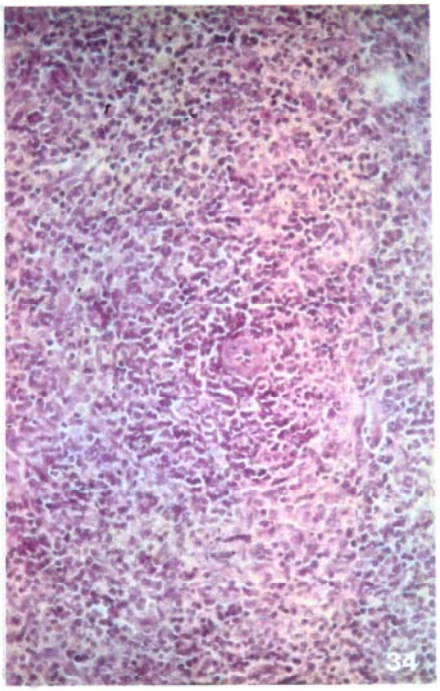
Fig. 37.- Gánglio linfático. Linfoadenitis hiperplásica reactiva (250 x) (8 dpi).

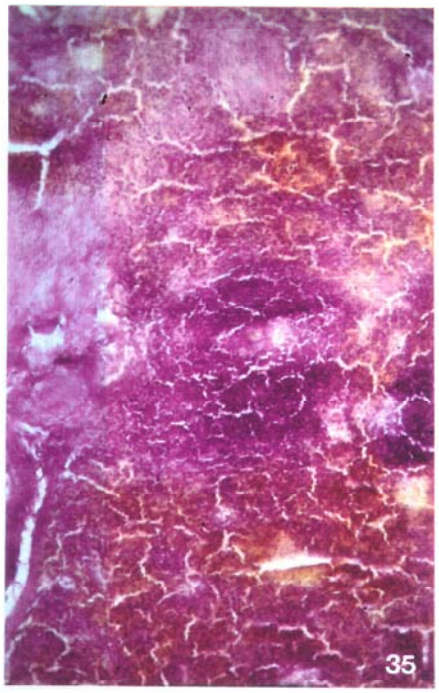
Fig. 38.- Gánglio linfático. Catarro de senos (250 x) (8 dpi).

Fig. 39.- Gánglio linfático. Linfocitolisis en folículos linfoides (350 x) (20 dpi).

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

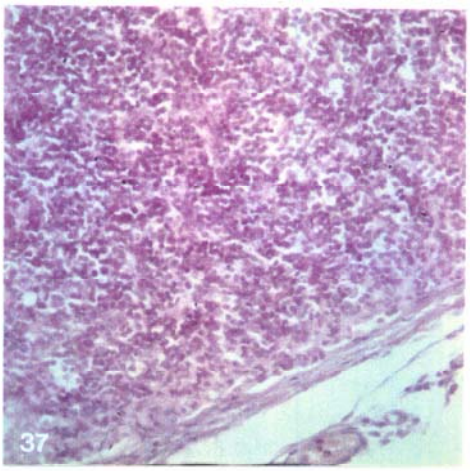


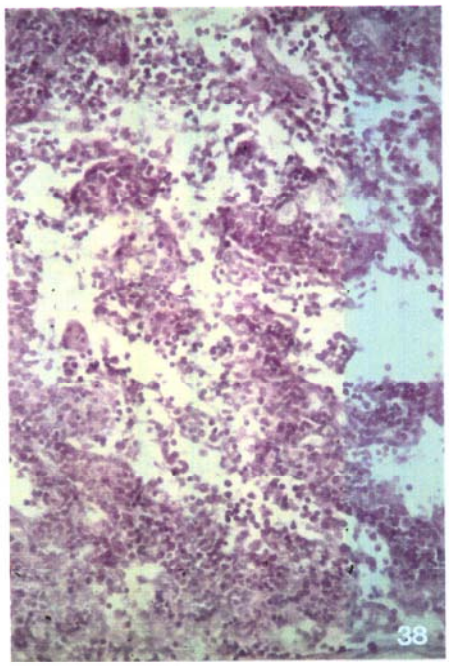


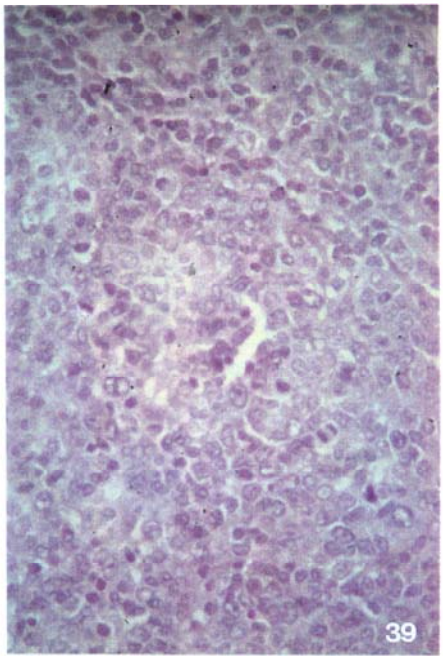


© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004







© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.5.7.-PULMON

También en pulmón, al igual que en otros órganos ya comentados, es muy evidente la hiperemia (Fig. 42) en los animales sacrificados a los 5 y 7 dpi, proceso que se mantiene hasta los 23 dpi y que se presenta muy escasa a los 30 dpi, desapareciendo posteriormente.

Paralelamente se detecta un proceso de bronquitis catarral determinado por un exudado mucoso e infiltración leucocitaria (Fig. 41), junto con un proceso bronconeumónico afectando principalmente a lóbulos craneales (Fig. 43). Histológicamente, está caracterizado por una bronquiolitis y alveolitis. Ambos procesos son muy manifiestos en los primeros días postinfestación, tendiendo a disminuir progresivamente al tiempo que comienza a aparecer a los 20 dpi un infiltrado celular interseptal, representado por histiocitos y linfocitos, dando lugar a un cuadro de neumonía intersticial que se presenta con mucha más intensidad a los 60 y 90 dpi (Fig. 44 y 45).

En el animal sacrificado a los 90 dpi, así como en el animal infestado del lote 5, se detectan, en porciones dorsales de ambos pulmones, zonas de enfisema alveolar focal y zonas de condensación en porciones ventrales (Fig. 46). Histológicamente el animal del lote 5 e infestado presenta un proceso de bronconeumonía fibrinosa en fase de hepatización gris, de escasa intensidad y un cuadro muy manifiesto de neumonía intersticial.

4.5.8.- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

A los 7 dpi, aparecen hiperemia y edema, que continúan, aunque disminuyendo hasta los 30 dpi (Fig. 48) y de forma moderada hasta el final de la experiencia. A los 20 dpi se presenta un cuadro lesional no muy intenso, propio de una reacción encefalítica, caracterizado por procesos de satelitosis o aproximación de células de glía hacia neuronas degeneradas y posterior neuronofagia, junto a movilización de células de glía (Fig. 47, 49 y 50). Este cuadro comienza a ser patente a los 60 dpi, y llega hasta los 90 dpi.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Fig. 40.- Conjuntivitis seromucosa y exudado nasal mucoso en el animal infestado del lote 5 (30 dpi).

Fig. 41.- Pulmón. Bronquitis catarral (180 x) (20 dpi).

Fig. 42.- Pulmón. Hiperemia (250 x) (8 dpi)

Fig. 43.- Pulmón. Bronconeumonía generalizada en lóbulos craneales e inicio de neumonitis (20 dpi).

Fig. 44.- Pulmón. Neumonía intersticial (350 x) (60 dpi).

Fig. 45.- Pulmón. Neumonía intersticial (180 x) (90 dpi).

Fig. 46.- Pulmón. Zona de transición entre zona bronconeumónica (bronconeumonía fibrinosa en fase de hepatización gris) y zona blanquecina de reacción intersticial (neumonitis) (90 dpi).

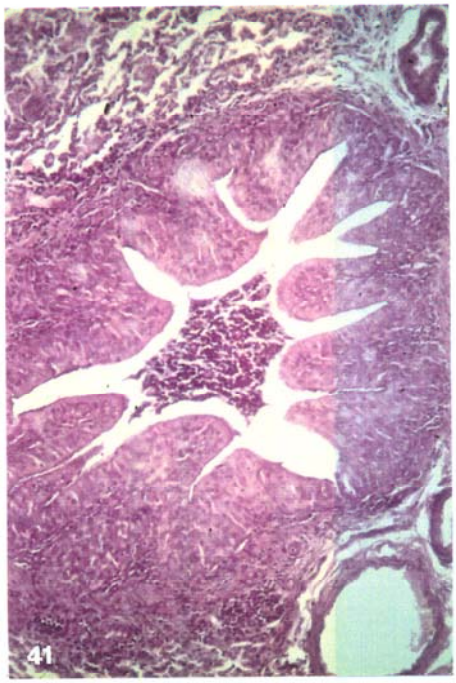
Fig. 47.- Sistema Nervioso Central. Reacción encefalítica (250 x) (20 dpi).

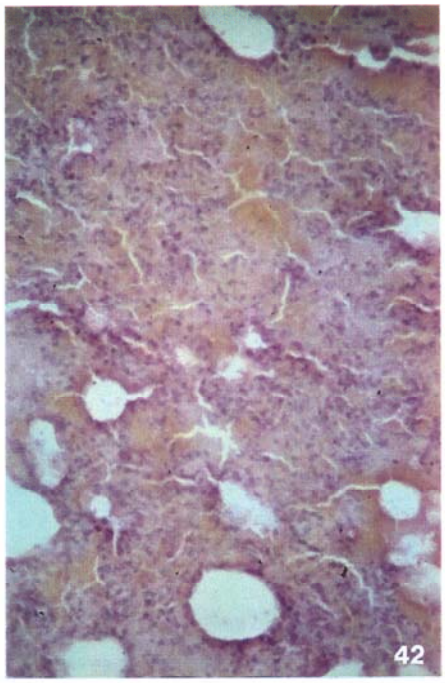
Fig. 48.- Sistema Nervioso Central. Hiperemia, edema y dilatación de los espacios de Wirchoff-Robbins (250 x) (30 dpi).

Fig. 49.- Sistema Nervioso Central. Degeneración de células de Purkinge (180 x) (30 dpi).

Fig. 50.- Sistema Nervioso Central. Reacción encefalítica (350 x) (44 dpi).

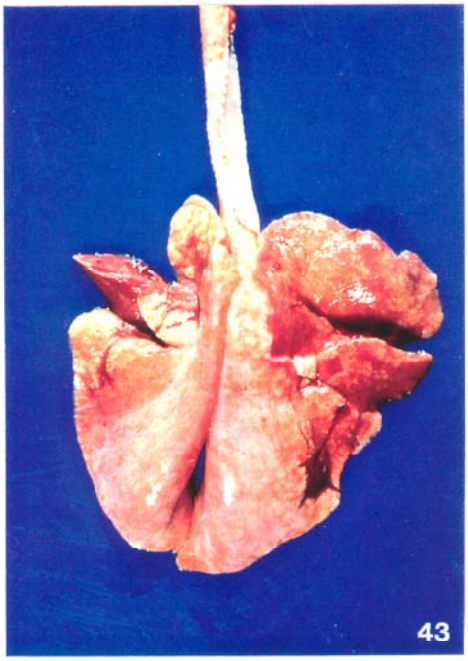
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

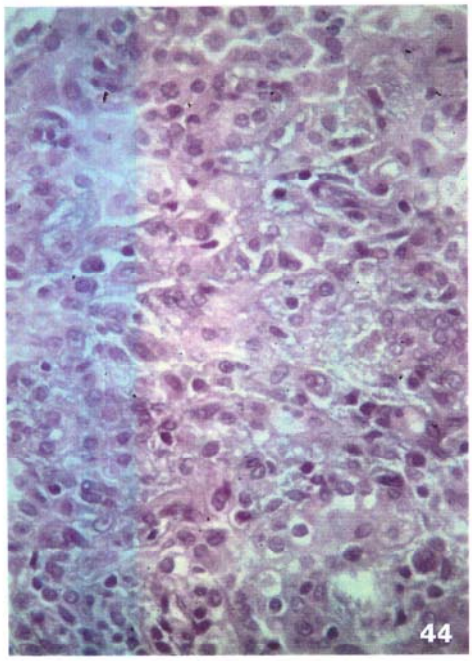


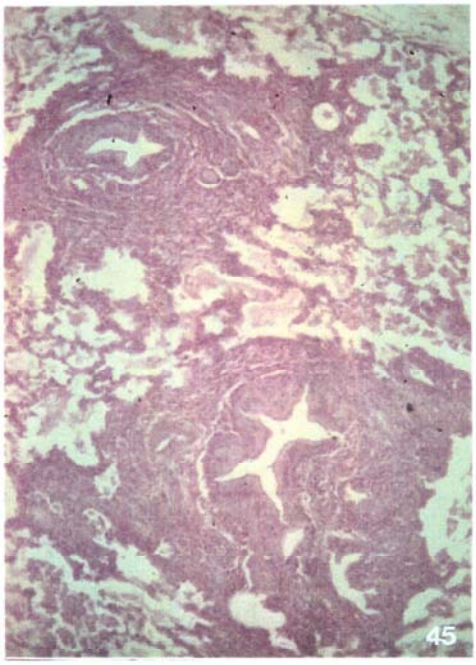


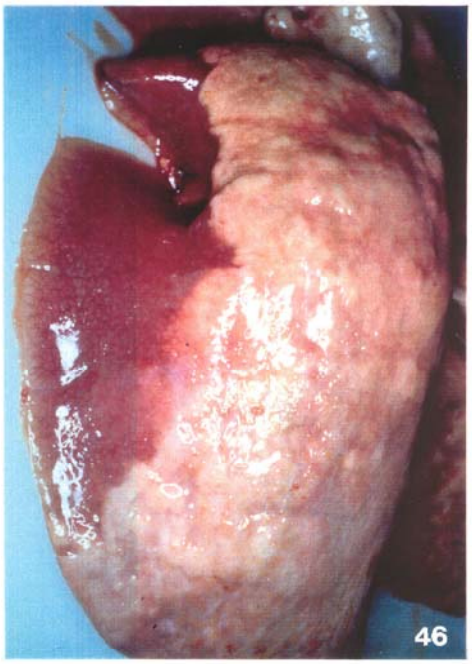
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004



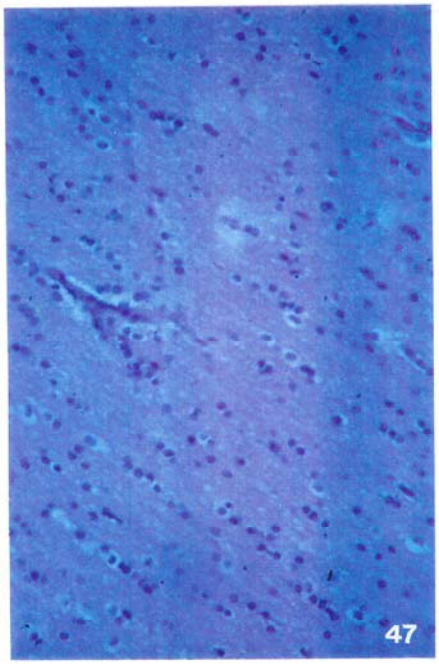


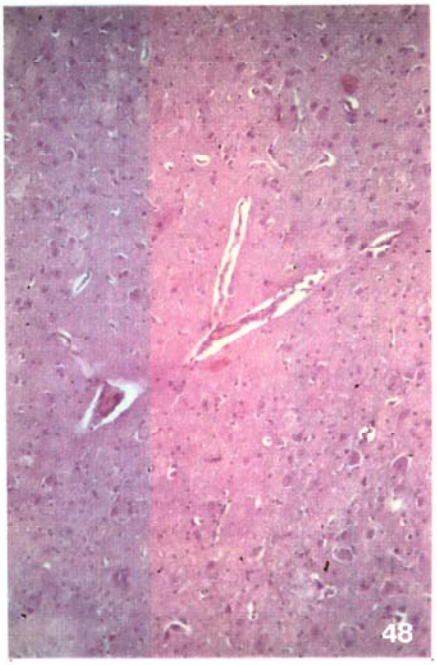


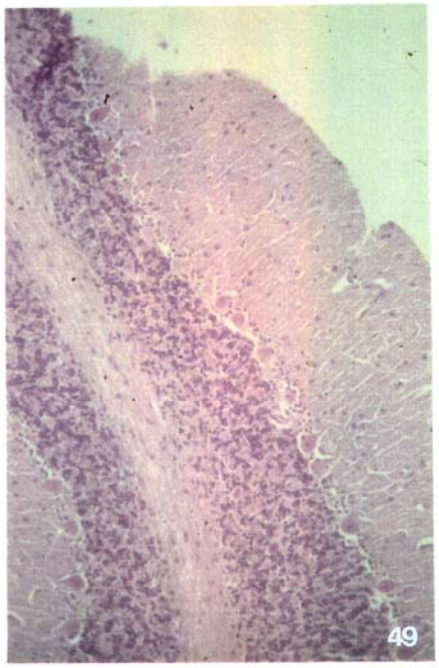


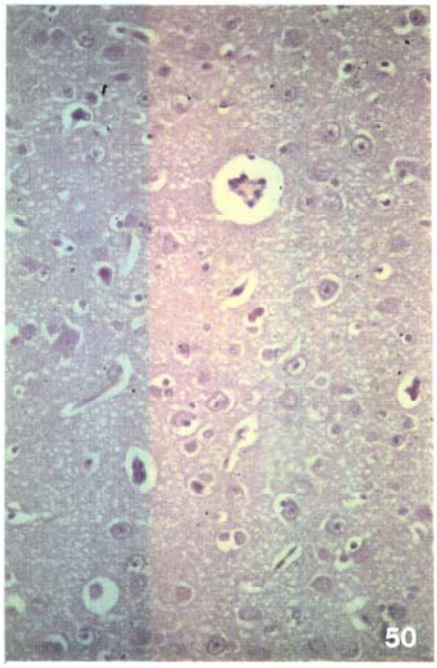
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004









© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.6.- ESTUDIO INMUNOLOGICO

4.6.1.- ESTANDARIZACION DE LA TECNICA ELISA

Dada la sensibilidad de la técnica inmunológica utilizada, así como la especie animal empleada para el estudio (hospedador no habitual de *Trichinella*), se hace necesario, antes de cualquier estudio inmunológico, proceder a la estandarización de la técnica.

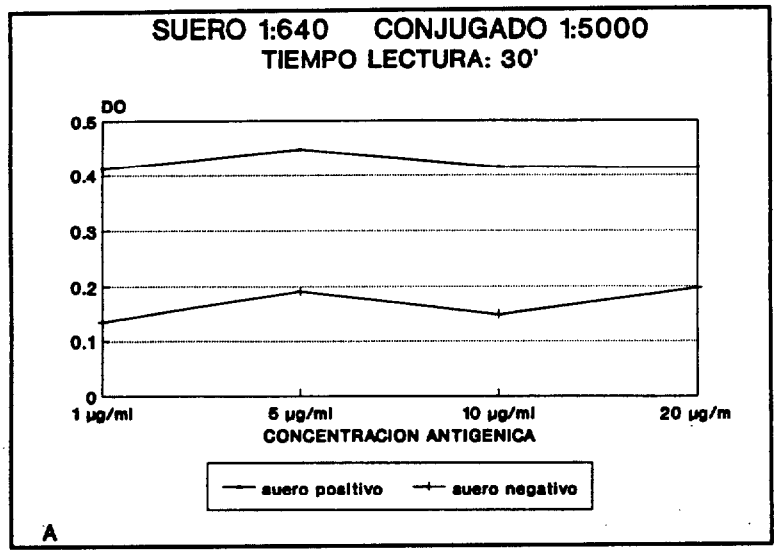
Como se preveía de antemano, en la estandarización de esta técnica, las concentraciones extremas de todos y cada uno de los reactivos utilizados manifestaron escaso carácter discriminatorio entre sueros positivos y negativos, razón por la que no se representaron gráficamente todas las combinaciones posibles realizadas, lo cual constituiría un innecesario trabajo, a la vez que dificultaría la correcta interpretación de resultados.

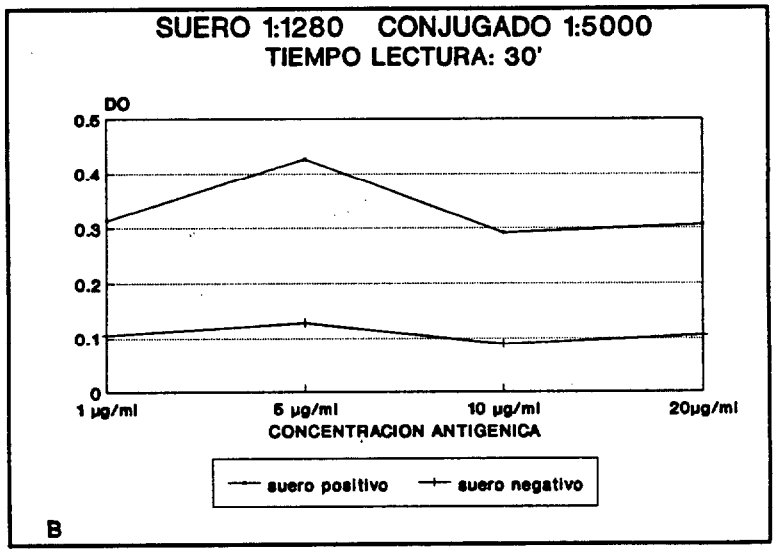
4.6.1.1.- CONCENTRACION ANTIGENICA

Como se aprecia en las gráficas 14 y 15, la concentración de 5 μg/ml ofrece la mayor discriminación entre sueros positivos y negativos, cuando se enfrenta a la mayoría de concentraciones séricas y de conjugado. Se representan de modo gráfico sólo los casos en que la prueba fue realizada a las diluciones séricas 1:640 y 1:1280 y 1:5000 y 1:10000 de conjugado, ya que supone un incremento de la extinción en los sueros positivos, respecto a la concentración de 1 μg/ml, que se constituye con toda seguridad como excesiva y, lo que es del todo lógico, frente al resto de concentraciones ensayadas (10 y 20 μg/ml). Esto no ocurrió cuando las concentraciones de suero y conjugado probadas fueron altas (1:640 y 1:5000, respectívamente), en las que se aprecia una mayor densidad óptica (DO) con 20 μg/ml. que con 10 μg/ml.

Igualmente, puede comprobarse en las gráficas que comentamos que cuando la parada de reacción se produce a los 30 minutos tras la adición del sustrato (Gráf. 14) se posibilita, en términos generales, una mayor discriminación entre positivos y negativos que cuando dicho frenado se ejecuta a los 60 minutos.

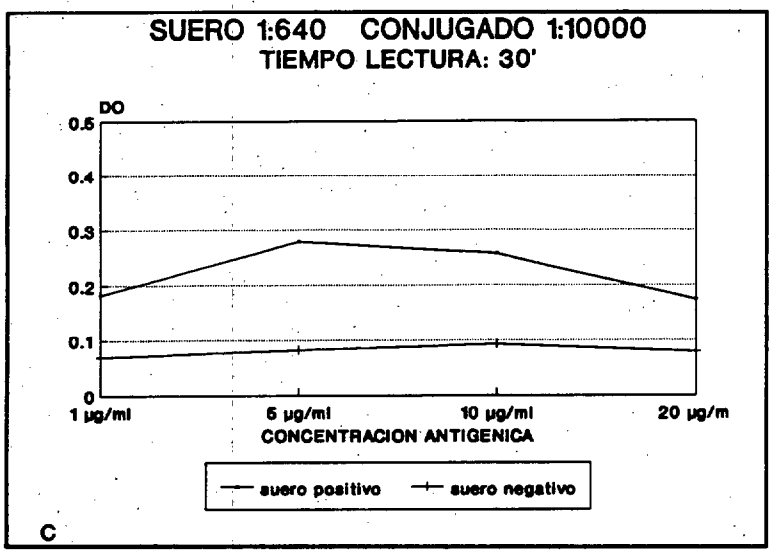
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

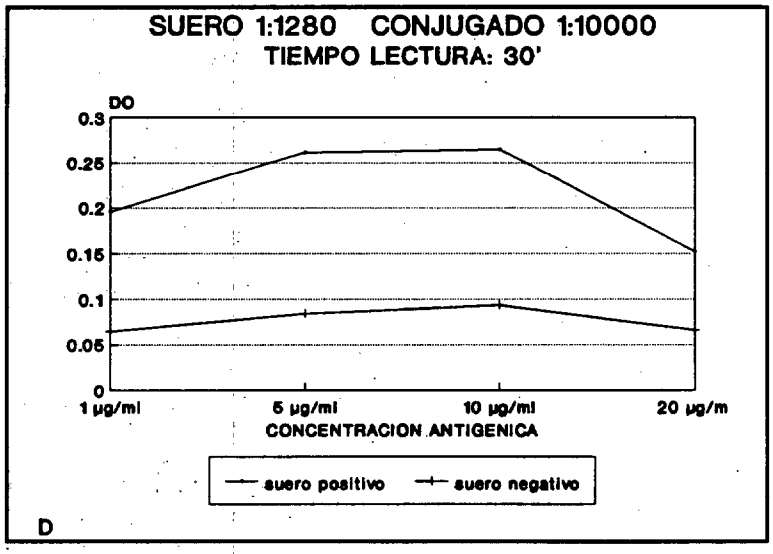




Gráficos 14 A y B: ESTANDARIZACION DE LA CONCENTRACION DE ANTIGENO. T.DE LECTURA: 30'

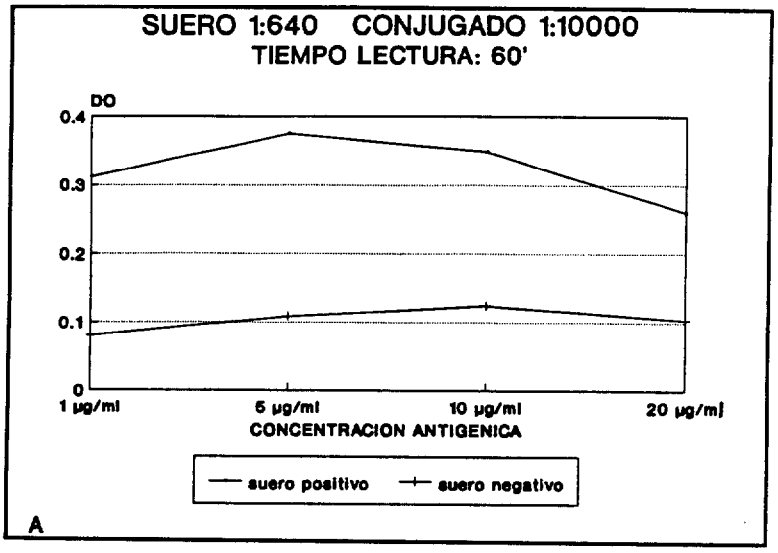
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

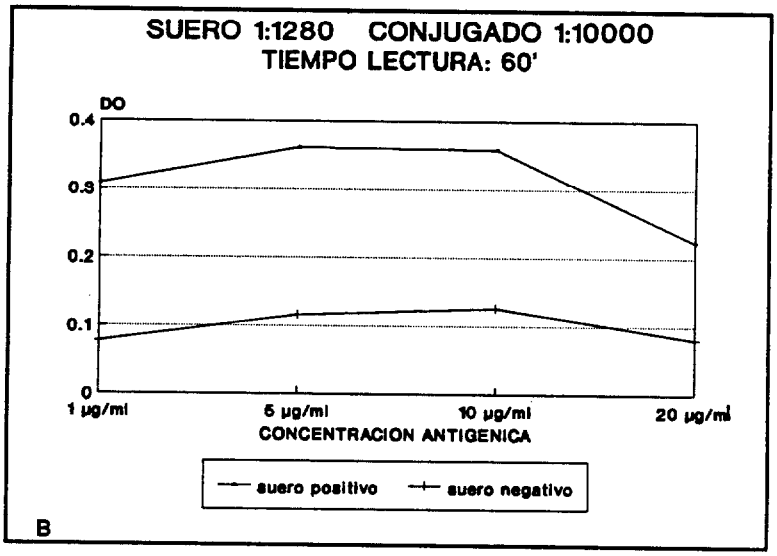




Gráficos 14 C y D: ESTANDARIZACION DE LA CONCENTRACION DE ANTIGENO. T.DE LECTURA: 30'

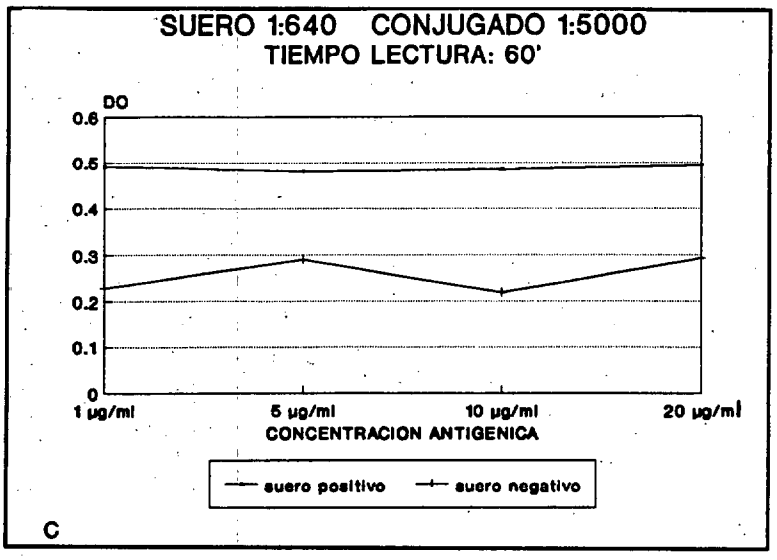
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

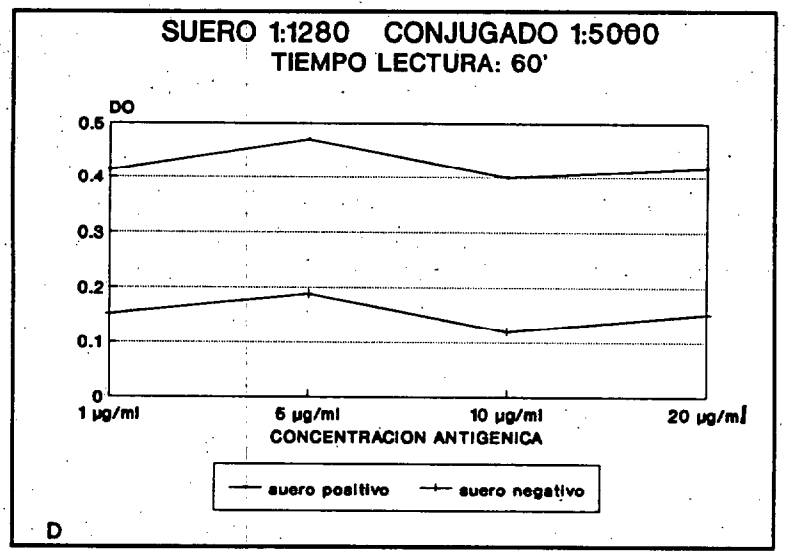




Gráficos 15 A y B: ESTANDARIZACION DE LA CONCENTRACION DE ANTIGENO. T.DE LECTURA: 60'

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004





Gráficos 15 C y D: ESTANDARIZACION DE LA CONCENTRACION DE ANTIGENO. T.DE LECTURA: 60'

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.6.1.2.- CONCENTRACION SERICA

Las gráficas 16 y 17, muestran las DO obtenidas utilizando las concentraciones séricas a ensayar (ver capítulo 3.5.4.) frente a la concentración antigénica ya optimizada (5 μg/ml) y las concentraciones de inmunoconjugado no extremas dentro del rango ensayado.

De este modo puede comprobarse que las concentraciones séricas extremas, sobre todo las más elevadas tienen un escaso poder discriminante entre positivos y negativos, centrándose las diluciones más adecuadas en el rango comprendido entre 1:320 y 1:2560, dilución a partir de la cual el control negativo experimenta generalmente aumentos en sus valores de extinción.

4.6.1.3.- CONCENTRACION DE INMUNOCONJUGADO

Del análisis de las ya comentadas gráficas 16 y 17, se desprende igualmente que la dilución de conjugado 1:2500 muestra unas DO muy altas para los sueros negativos, cuestión por la que, en principio, fue desechada. El resto de las diluciones ensayadas, 1:5000, 1:10000 y 1:15000, sobre todo las dos primeras, muestran unos niveles de discriminación adecuados al utilizarse con determinadas concentraciones séricas; por ejemplo la conjugación de una concentración sérica de 1:1280 y de conjugado de 1:5000 ofrece buenos resultados, al igual que 1:640 y 1:10000, 1:2560 y 1:10000 o 1:640 y 1:15000, respectívamente.

4.6.1.4.- TIEMPO DE REACCION DEL SUSTRATO

Nuevamente, como fué comentado en 4.6.1.1. y como puede observarse en las gráficas 16 y 17, la detención de la reacción con SO_4H_2 a los 30 minutos permite unos cocientes entre positivos y negativos mayores a los obtenidos cuando se produce a los 60 minutos, ya que en dicho intervalo la coloración ganada por los sueros negativos es mayor a la experimentada por los positivos, disminuyendo por tanto el cociente entre

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

ellos. De este modo, establecemos el tiempo de 30'como óptimo para el frenado de la reacción del sustrato.

4.6.1.5.- RESULTADOS OPTIMOS DE LA HOMOLOGACION DE ELISA

Del análisis de los capítulos 4.6.1.1. y 4.6.1.4. se desprende que la mejor concentración antigénica es 5 μg/ml y el mejor tiempo de incubación de sustrato entre los ensayados es el de 30', debido fundamentalmente a la mejor discriminación entre sueros positivos y negativos que ambas variables confieren.

Sin embargo, y a tenor de lo expuesto en los capítulos 4.6.1.2 y 4.6.1.3, sobre la optimización de las concentraciones de suero y de inmunoconjugado, y de la extraña reacción experimentada al probar las distintas diluciones de suero frente a diluciones altas de conjugado (1:10000 y 1:15000), ya que a mayor dilución fuimos obteniendo mayores DO, optamos por un segundo ensayo en el intento de obtener una cuidada optimización de la técnica en nuestras condiciones de trabajo para estos dos parámetros.

De este modo, ensayamos de nuevo ambas variables (concentración sérica y de conjugado) frente a la concentración antigénica y el tiempo de frenado de reacción ya optimizados (5 μg/ml y 30 minutos respectívamente).

Así, procedimos nuevamente a probar las cuatro diluciones de suero ya comentadas 1:320, 1:640, 1:1280 y 1:2560 e introdujimos, entre las ya citadas 1:5000, 1:10000 y 1:15000 de inmunoconjugado, otras dos intermedias de 1:8000 y 1:12000, lo cual fué esbozado en el apartado 3.6.4. de Material y Métodos.

La gráfica 18, aporta datos de gran utilidad en la búsqueda de las condiciones óptimas para el empleo del método ELISA en nuestras condiciones. Así, en una primera aproximación se comprueba claramente que a partir de la dilución de conjugado 1:8000, sea cual sea la dilución de suero empleada, el pool de sueros negativos mantiene una DO prácticamente

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

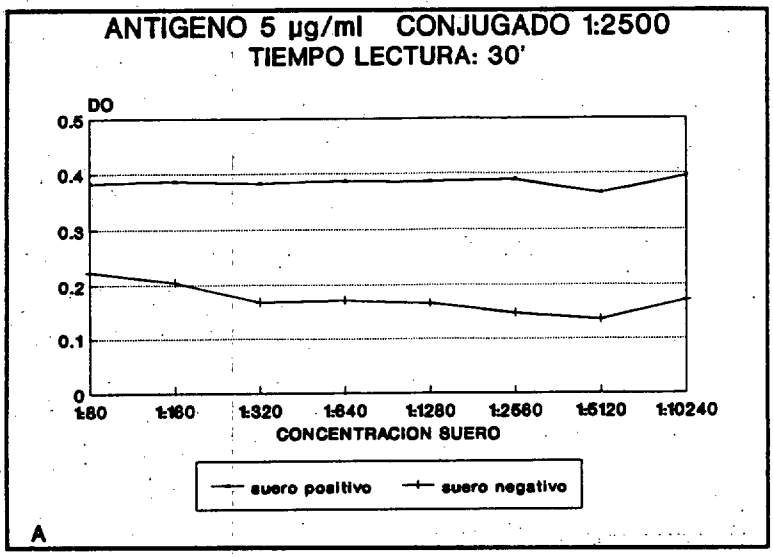
constante, mientras que el suero utilizado como positivo experimenta marcados descensos; luego se impone la no utilización de una dilución de conjugado mayor de 1:8000, ya que a partir de la misma la discriminación entre positivos y negativos es cada vez menor.

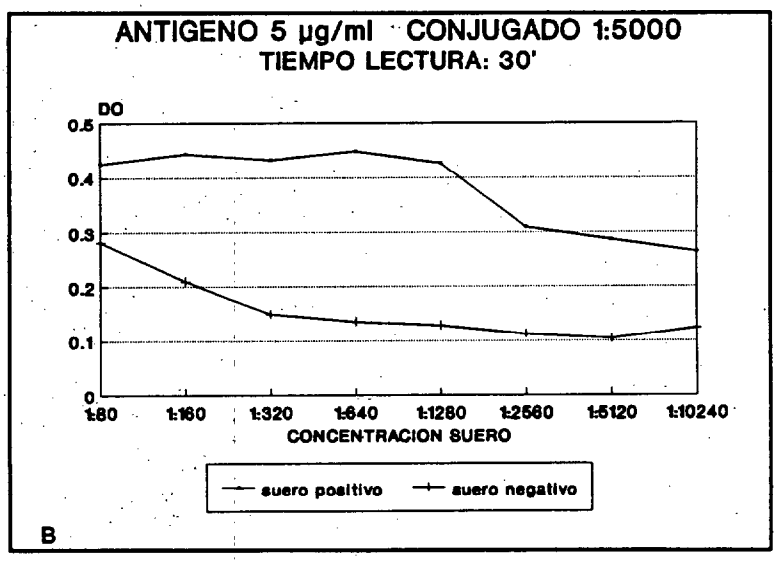
Si bien la diferenciación entre positivos y negativos es aún mayor a la dilución de conjugado 1:5000, esta manifiesta unas notables variaciones en los valores medios obtenidos con las distintas diluciones séricas, las cuales son prácticamente nulas a la dilución 1:8000, sea cual sea la dilución sérica empleada. Igualmente, los valores individuales obtenidos con la dilución 1:5000 muestran una mayor dispersión que los obtenidos con la dilución 1:8000, lo que unido al ahorro que supone la utilización de esta, hace que escojamos como óptima dilución de conjugado la de 1:8000, no reduciendo en absoluto la discriminación entre positivos y negativos y representando dicha elección una apreciable mejora en el aspecto económico de la realización de la técnica.

Como último factor a optimizar quedaría la dilución sérica. A la vista de las gráficas que integran la gráfica 18, puede apreciarse cómo a la dilución de conjugado 1:8000 cualquier dilución sérica de entre las empleadas permite una buena estimación de la positividad, pero es la dilución 1:640 de suero la que lo hace en mayor medida.

Esta apreciación puede corroborarse al estudiar la gráfica 19, en la que se establecen los cocientes entre sueros positivos y negativos a las duiluciones de suero y conjugado ensayadas en esta segunda prueba, pudiéndose comprobar lo ya esbozado. La dilución sérica 1:640 es la que en todo momento establece un mayor cociente, luego es la dilución sérica óptima; igualmente se comprueba que la concentración 1:8000 de inmunoconjugado es realmente apta para su uso en el estudio de la cinética de anticuerpos en cabras experimentalmente infestadas con *Trichinella spiralis*.

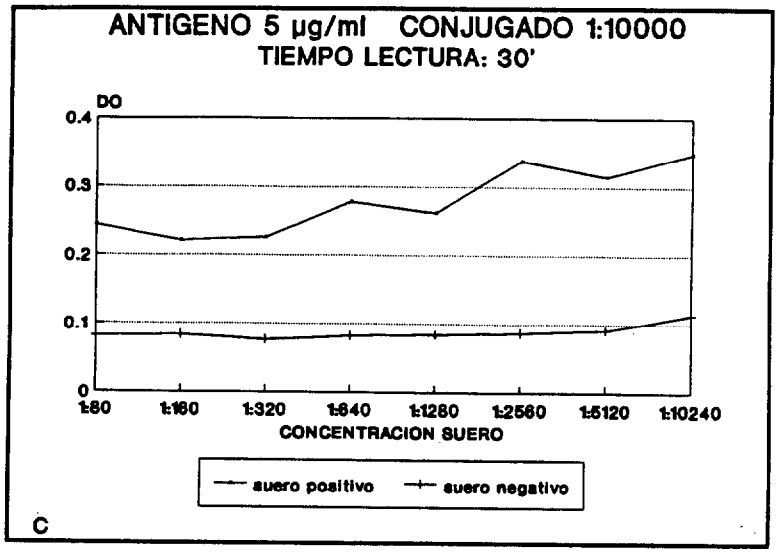
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

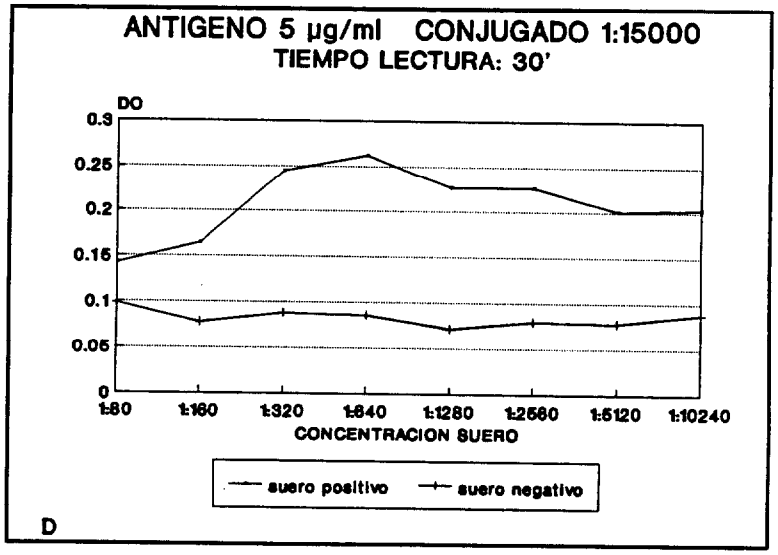




Gráficos 16 A y B: ESTANDARIZACION DE LA CONCENTRACION DE SUERO. T.DE LECTURA: 30'

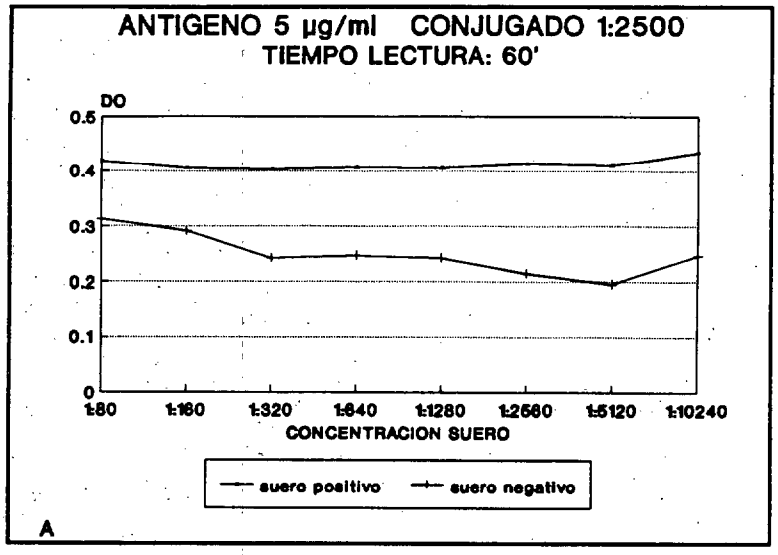
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

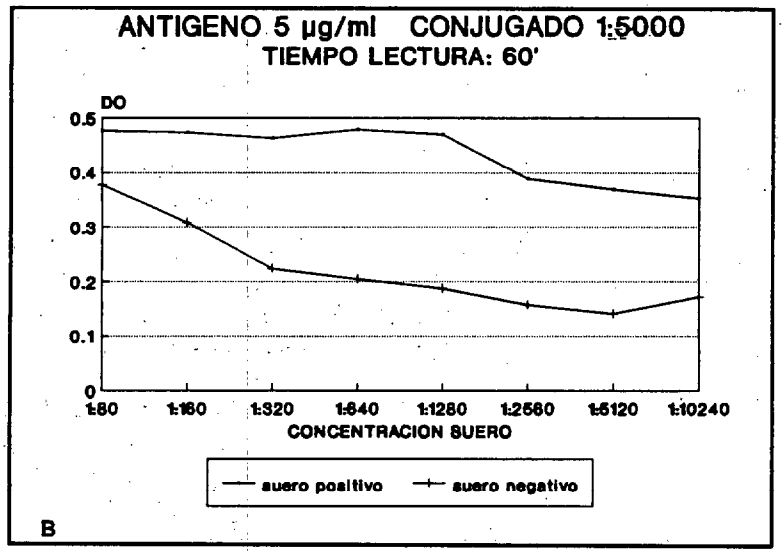




Gráficos 16 C y D: ESTANDARIZACION DE LA CONCENTRACION DE SUERO. T.DE LECTURA: 30'

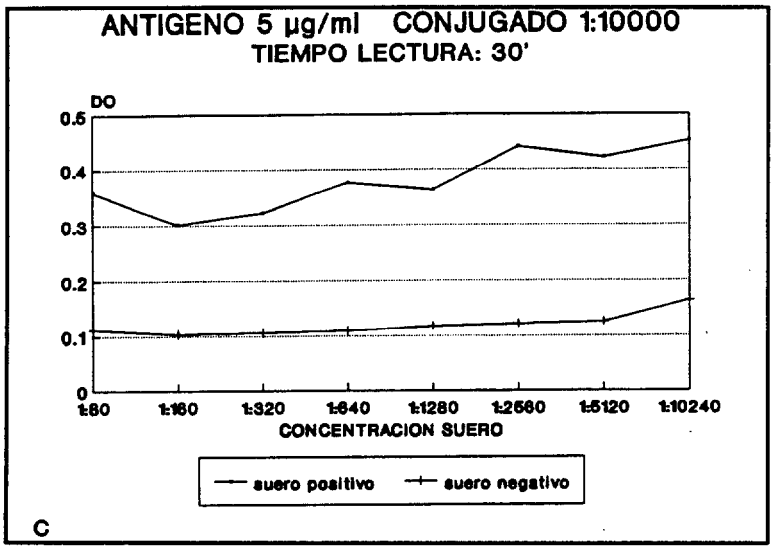
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

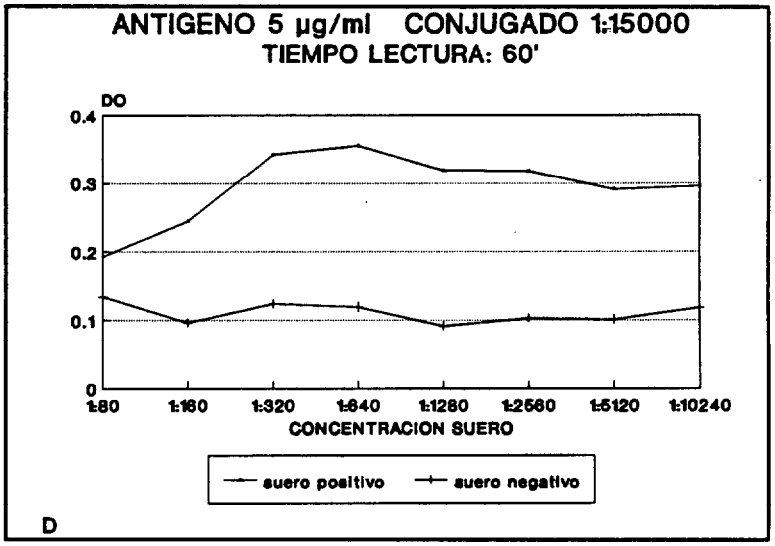




Gráficos 17 A y B: ESTANDARIZACION DE LA CONCENTRACION DE SUERO. T.DE LECTURA: 60'

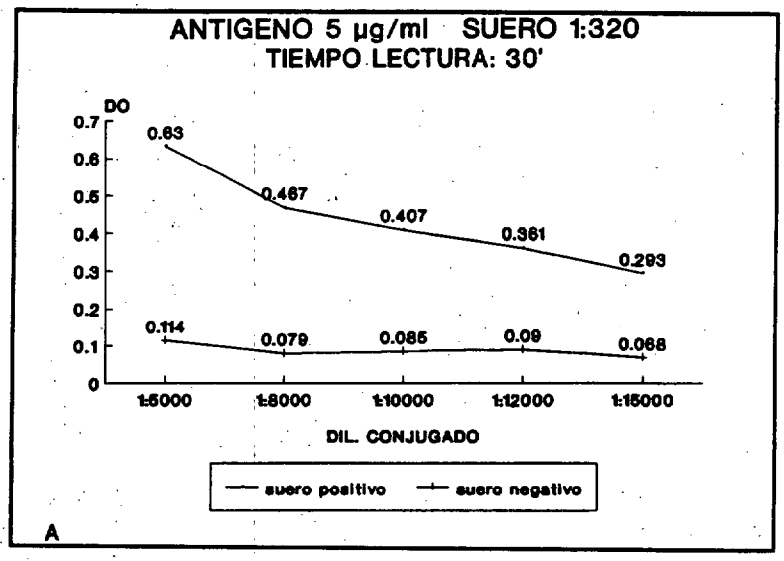
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

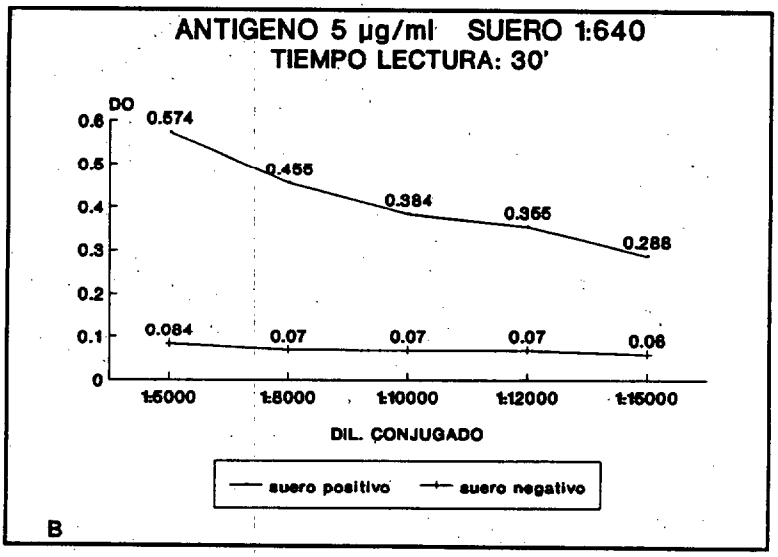




Gráficos 17 C y D: ESTANDARIZACION DE LA CONCENTRACION DE SUERO. T.DE LECTURA: 60'

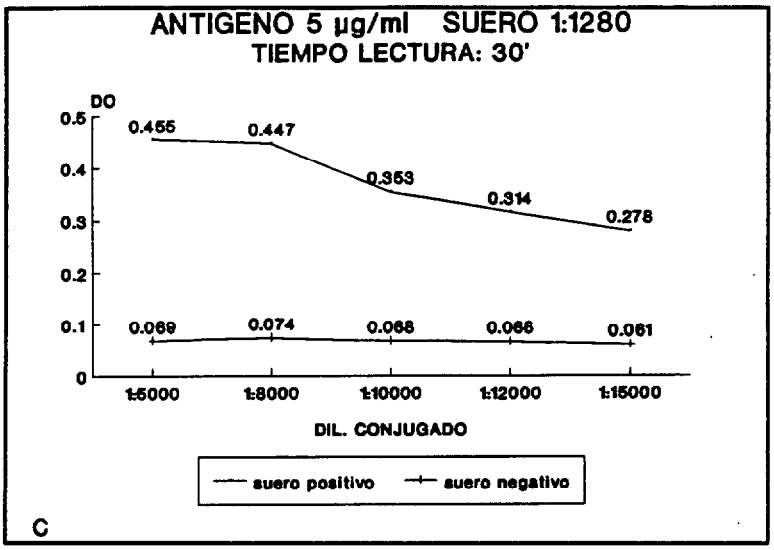
© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

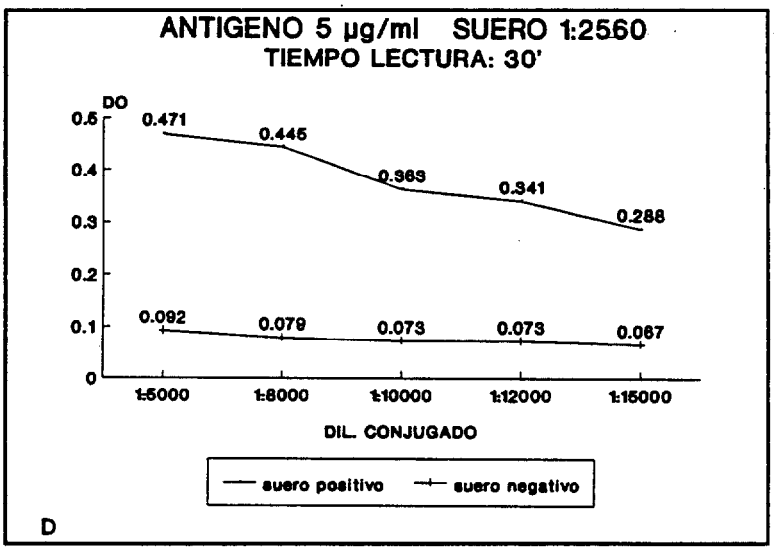




Gráficos 18 A y B: OPTIMIZACION DE LA DILUCION DE CONJUGADO. DIL. SUERO 1:320 Y 1:640

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004





Gráficos 18 C y D: OPTIMIZACION DE LA DILUCION DE CONJUGADO. DIL. SUERO 1:1280 Y 1:2560

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

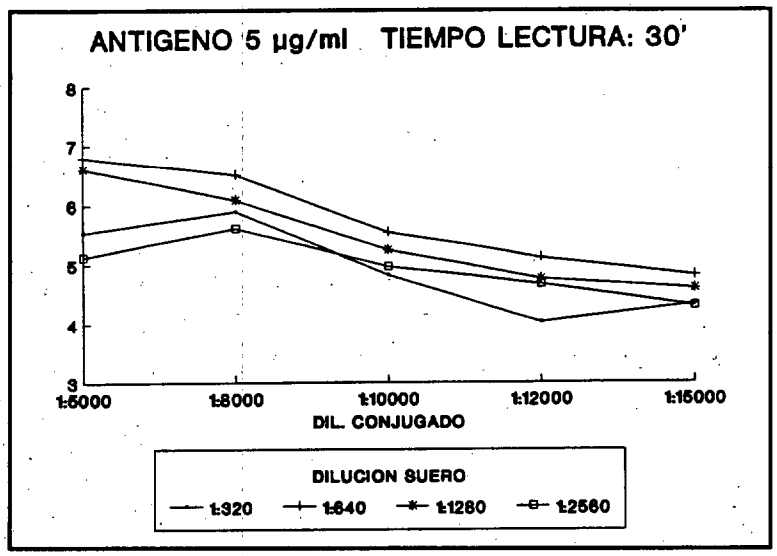


Gráfico 19: OPTIMIZACION DE LA DILUCION DE SUERO. COCIENTE ENTRE POSITIVOS Y NEGATIVOS A DISTINTAS DILUCIONES DE SUERO E INMUNOCONJUGADO.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

4.6.2.- EVOLUCION DE LOS NIVELES SERICOS DE ANTICUERPOS.

Como comentamos en el capítulo de material y métodos del presente trabajo y como objetivo de la estandarización y optimización que acabamos de comentar, hemos realizado, paralelamente a los estudios fisiopatológico e histológico, un estudio inmunológico mediante la técnica ELISA, que hoy día, según la bibliografía más actual, ofrece las mejores características de sensibilidad y especificidad para la inmunodiagnosis en *Trichinella*.

La evolución media de los anticuerpos muestra, en nuestro experimento, una evolución de tipo sigmoidal (gráf. 20).

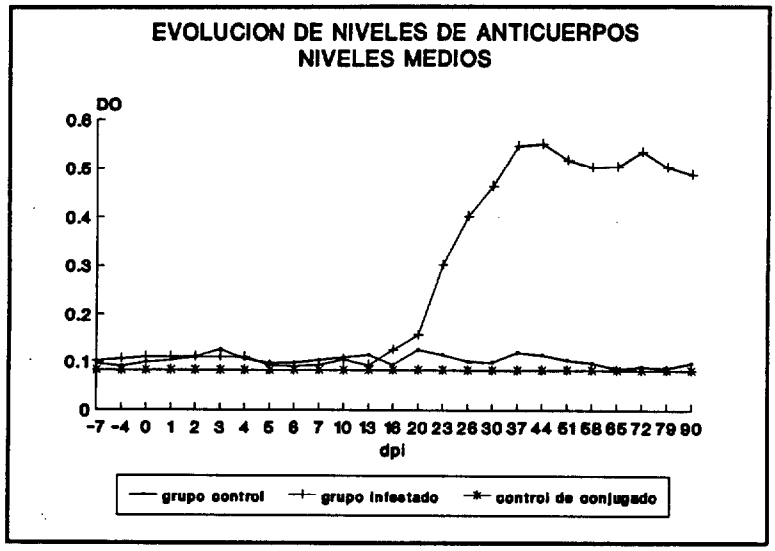


Gráfico 20: EVOLUCION MEDIA DE LOS NIVELES SERICOS DE ANTICUERPOS.

Desde el dia 7 antes de la infestación, los valores medios obtenidos para los animales destinados a ser parte integrante del lote que posteriormente infestaríamos, así como los evidenciados en el lote control muestran una gran similitud, como lógicamente cabría esperar. Esta característica continúa siendo evidente tras la infestación de los animales el día 0 de nuestro experimento y hasta el día 16 pi, en el que se observan los primeros incrementos en los valores de extinción obtenidos en el grupo infestado respecto al control.

Estas ligeras diferencias se hacen cada vez más notorias a medida que la experimentación avanza, incrementándose la DO media del grupo infestado respecto al control de forma ya muy marcada el día 23 pi. Este aumento de los niveles de anticuerpos, expresados en DO, continúa hasta el día 37 pi, momento en el que prácticamente se estabiliza, con una leve tendencia al descenso hacia el final de la fase experimental diseñada en el presente ensayo.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Por su parte, los valores medios de extinción obtenidos para el lote control o no infestado, se caracterizan por la ausencia de alteración alguna durante dicha fase experimental.

Ambas evoluciones garantizan, nuevamente, el buen nivel de infestación conseguido en las cabras integrantes del grupo experimentalmente infestado.

Finalizaremos este estudio de la cinética humoral de anticuerpos en las cabras de nuestro experimento, comentando someramente la evolución sufrida por los animales previamente tratados con dexametasona.

Como se comentó en el capítulo 3.7.2., destinamos dos animales a comprobar las reacciones orgánicas acaecidas tras la infestación con *Trichinella* en estado de inmunodepresión, provocada mediante la administración de una corticoterapia anexa; así, infestamos un animal inmunodeprimido, manteniendo otro en el mismo estado sin infestar, que sirviera de referencia o control de aquel.

Estos dos animales, como puede observarse en la gráfica 21 muestran una evolución similar en sus niveles séricos de anticuerpos a los grupos no tratados con dexametasona (experimental y control), sobre todo desde el comienzo del experimento hasta el día 30 pi, en el que se obtiene la DO más alta en el animal inmunodeprimido e infestado. No obstante, cabe resaltar algunas diferencias obtenidas del estudio de dicha Fig. El animal infestado obtiene el nivel de extinción más elevado con alguna prontitud, respecto a la media de los animales infestados pero no tratados con dexametasona. Sin embargo, dicho animal nunca alcanza los niveles de extinción obtenidos, en valores medios, por el lote infestado no tratado (0.514 para aquel y 0.546-0.551 para el lote infestado no inmunodeprimido). Finalmente y como diferencia más notoria, parece evidenciarse un efecto de la corticoterapia en el mantenimiento de los niveles séricos de anticuerpos en el animal tratado con dexametasona, ya que tras el día 30 pi, en el que se obtiene la mayor DO, se evidencia un drástico descenso en la misma, si bien al final del proceso experimental el animal muestra una recuperación de los niveles séricos que comentamos.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Podría extraerse de estos resultados que el animal, si bien sufrió, debido a la corticoterapia instaurada, una inmunodepresión, como revela el descenso evidenciado en sus niveles séricos de anticuerpos durante el segundo mes postinfestación y comienzo del tercero, ésta no debió ser muy fuerte, ya que en algún momento se alcanzaron DO similares a las evidenciadas en el lote no inmunodeprimido (día 30 pi y días finales de la prueba).

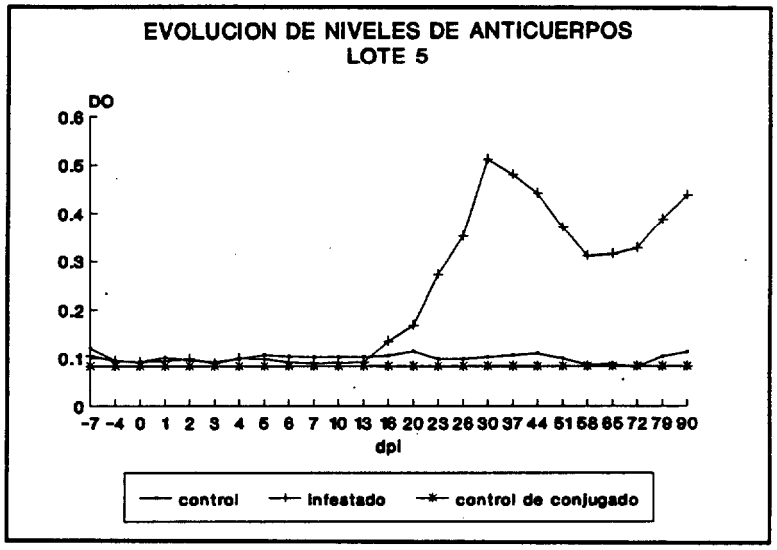


Gráfico 21: EVOLUCION MEDIA DE LOS NIVELES SERICOS DE ANTICUERPOS EN LOS ANIMALES DEL LOTE 5.

El hecho de ser un sólo animal el destinado a tal estudio, deja una puerta abierta a futuras repeticiones del mismo ensayo para la subsiguiente contrastación de resultados.

El animal inmunodeprimido no infestado, que dispusimos como control del anterior, no experimentó, al igual que los controles no tratados, alteración alguna en los valores de DO a lo largo del experimento, cumpliendo con ello el papel asignado.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

A la vista de los resultados obtenidos, hemos de concluir que la técnica ELISA, no solamente se muestra sensible para detectar con prontitud la seroconversión producida en las cabras experimentalmente infestadas con *Trichinella*, sino que tambien demuestra este carácter en el mantenimiento de altos valores de extinción durante prolongados periodos de tiempo.

4.7.- ESTUDIO DEL GRADO DE INFESTACION MUSCULAR

El recuento de larvas por gramo (LPG) demuestra que los músculos más parasitados son lengua y maseteros, con recuentos similares en ambos (Tabla I). Los valores medios de LPG en los animales infestados y no tratados con dexametasona (lotes 2 y 3), muestran un mayor nivel de parasitación en maseteros que en lengua, debido al elevado número de LPG detectadas en maseteros del animal sacrificado a los 23 dpi (6580 LPG), que hace que aumente considerablemente la media obtenida para esta región muscular (Graf. 22). Sin embargo, y con la excepción de este animal, practicamente todas los animales de estos lotes muestran una mayor parasitación en lengua que en maseteros, lo que hace que, excluyendo dicho animal, la media de parasitación sea más alta en lengua que en maseteros.

El tercer lugar en cuanto a grado de parasitación, corresponde al diafragma, ya que en todos los animales dicho músculo es el tercero más parasitado (Tabla I).

Los restantes músculos estudiados mostraron un número más reducido de LPG. Así, en músculos intercostales la media fue de 120,3 LPG (Graf. 22) y sólo 33 LPG de media no considerando el animal sacrificado a los 23 dpi. Los músculos flexores-extensores muestran una media de 135 LPG (Graf. 22) y desciende a 78,6 LPG excluyendo al sacrificado a los 23 dpi. En todos los animales, excepto en el sacrificado el día 23 pi, el grado de parasitación en flexores-extensores es mayor que en intercostales.

Destacamos el hallazgo de larvas en corazón de los animales

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

sacrificados a partir de los 23 dpi, siendo en la mayoría de los casos en bajo número (1,7-8,2 LPG) (Tabla I), excepto en los dos animales sacrificados los días 23 y 30 pi, en los que el recuento fue de 58 y 130 LPG respectivamente.

Resumiendo y con la excepción del animal sacrificado a los 23 dpi, las larvas de *Trichinella* muestran afinidad en orden decreciente por lengua, maseteros, diafragma, flexores-extensores e intercostales y con un tropismo mucho menor hacia el corazón.

	L.P.G.					
dpi	Maseteros	Diafragma	Lengua	Intercostales	Flex-Ext	Corazón
5						
7						
20	230	150	240	4	29	0
23	6580	2451	3031	556	417	58
30	923	391	997	58	112	130
45	687	251	619	59	183	2.3
60	314	64	330	8.8	30	1.7
90	300	139	626	36	39	8.2
90-L5	453	151	389	42	124	3.6

Tabla I: número de LPG en los distintos músculos a lo largo de la experiencia.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

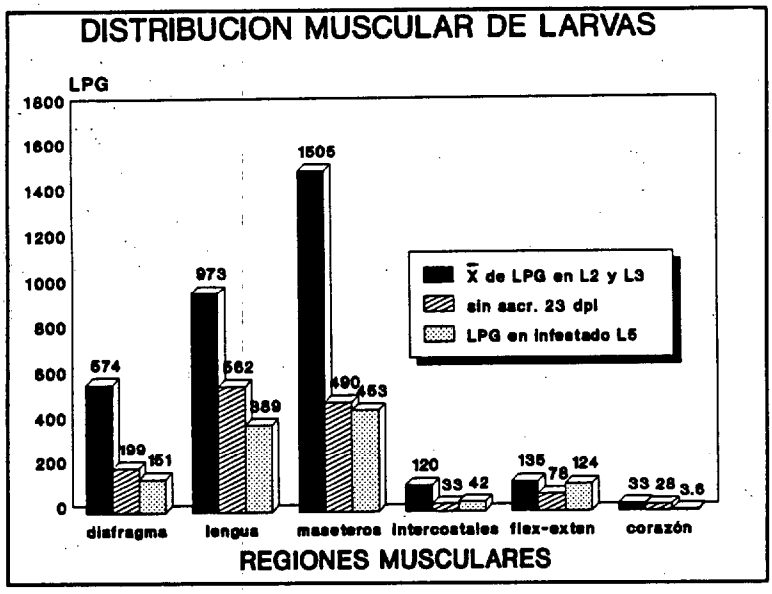


Gráfico 22: DISTRIBUCION DE LARVAS DE TRICHINELLA EN LOS DIFERENTES MUSCULOS, EN LOS LOTES 2 Y 3, EN ESTOS MISMOS LOTES EXCLUYENDO AL ANIMAL SACRIFICADO A LOS 23 d.p.i. Y EN EL ANIMAL INFESTADO DEL LOTE 5.

Con respecto al animal infestado y tratado con dexametasona (lote 5), se observó una distribución de larvas similar, con maseteros y lengua como los músculos más afectados, seguidos por diafragma, flexores-extensores e intercostales. También en corazón se encontraron larvas. El recuento de LPG en este animal no mostró un aumento con respecto a los valores medios obtenidos en los músculos de los animales no tratados con dexametasona.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

DISCUSION

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

5.1.- SINTOMAS

Como ya indicamos, en el Capítulo correspondiente de Resultados, el cuadro clínico que observamos en las cabras de nuestra experiencia, fue leve en la mayoría de ellas.

Durante la fase gastrointestinal, el único síntoma generalizado que evidenciamos, fue el proceso anoréxico observado entre los 9 y 12 dpi., esto concuerda con la mayoría de autores consultados que describen la anorexia como u[illegible] de los síntomas más generalizados en los procesos por *Trichinella*, y as[illegible] detallan **BECK (1970)**, **GOULD (1970 a)**, **CASTRO (1974)**, **BOURÉE (1980)**, **FRAYHA (1981)** o **STUMPF** *et al.*, **(1981)**, en humanos, **PRZYJALKOWSKI** *et al.*, **(1978 a)** y **NGNENYA** *et al.*, **(1984)**, en roedores, **KOCIECKA** *et al.*, **(1978)**, en monos, **REINA** *et al.*, **(1988)**, en perros y **SMITH** *et al.*, **(1990)**, en vacas en las que sólo observó rechazo a la comida y a la masticación entre los 10 y 30 dpi.

Otro de los síntomas descrito por la mayoría de autores es la diarrea y así lo citan **GOULD (1970 a)**, **BECK (1970)**, **BOURÉE (1980)**, **CASTRO (1982)**, **CASTRO** y **BULLICK (1983)**, **KAZURA (1982)**, **PAWLOWSKI (1983)**, **REINA** *et al.*, **(1988)** y otros. Atribuyendo algunos de estos autores a la acción directa de los parásitos sobre la mucosa intestinal **(GOULD, 1970 a)**, o retención de una gran cantidad de agua en la luz intestinal superior a la capacidad de absorción del colon así como al incremento de la motilidad intestinal **(CASTRO, 1982** y **CASTRO** y **BULLICK, 1983)**, como mecanismos desencadenantes del proceso diarreico. La mayoría de autores centran el proceso diarreico en los primeros días postinfestación. En nuestro trabajo experimental, sobre los días 14-15 pi, detectamos en algunos animales diarrea y dado que no fue observada en todos los animales infestados y al mismo tiempo sí que se evidenció en un animal del lote testigo y como ya comentamos, se puso de manifiesto la presencia de ooquistes de *Eimeria spp.* en heces, es lógico pensar y dado que la diarrea no apareció en los primeros días postinfestación, que este proceso se debiera probablemente a la parasitación detectada.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Sin embargo, sí que tenemos que tener en cuenta, que el animal que aún a pesar del tratamiento específico con Amprol, continuó con diarrea persistente y empeoramiento progresivo en su estado general con fiebre, conjuntivitis, exudados nasales y oculares, anorexia y pérdida de peso y debido a ello sacrificado a los 23 dpi, mostró en el recuento larvario de los distintos músculos analizados, una tasa de larvas por gramo (LPG) muy superior a la que evidenciamos en el resto de animales, lo que nos hace pensar que en la evolución clínica de este animal y por consiguiente en la aparición de diarrea, jugó un papel muy importante el proceso trichinellósico.

Con respecto al animal inmunodeprimido e infestado también presentó a lo largo del proceso una acusada sintomatología que incluía además del proceso diarreico antes mencionado, un cuadro de conjuntivitis con abundante exudado seromucoso evidenciado a partir de los 11 dpi, seguido de un cuadro respiratorio con exudado nasal mucoso, disnea y tos, unido a un aumento de la temperatura corporal, que llegó a ser de 40,8 °C a los 13 dpi, y taquipnea (56 resp/min) en este día. Un cuadro respiratorio similar en trichinellosis fue descrito por **BOURÉE (1980)**, que lo centra en disnea, tos, respiración superficial y dolores torácicos con expectoraciones mucosanguinolentas.

Por su parte, **BRUSCHI** *et al.* **(1989)**, explican como causa de las complicaciones respiratorias los trastornos en la perfusión pulmonar causados por el paso y retención de larvas en pulmón.

La conjuntivitis, observada en el animal inmunodeprimido e infestado así como en otro del lote 3, es un proceso que ya ha sido constatado por otros autores como complicaciones en procesos trichinellósicos (**KOCIECKA**, *et al.*, **1981**; **BOURNERIAS** *et al.*, **1986**; **KRAMER** y **AITA, 1988**).

Otro de los signos clínicos observados con más frecuencia en trichinellosis es la fiebre (**BOURÉE, 1980**; **FRAYHA, 1981**; **KASSUR** *et al.*, **1981**; **FRÖSCHER** *et al.*, **1982**; **URSELL** *et al.*, **1984**; **MARTINEZ-GOMEZ** *et al.*, **1985**; **REINA** *et al.*, **1988**), también observada por

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

nosotros entre los 16 y 20 dpi en todos nuestros animales infestados y entre los 13 y 44 dpi en el que previamente habíamos tratado con dexametasona.

En la fase muscular de la trichinellosis humana, las mialgias constituyen el signo clínico más observado (**LE MERCIER** *et al.*, **1977**; **BOURÉE, 1980**; **FRAYHA, 1981**; **KASSUR** *et al.*, **1981**; **STUMPF** *et al.*, **1981**; **FRÖSCHER** *et al.*, **1982**; **MURILLO-VELARDE, 1983**; **PAWLOWSKI, 1983**; **URSELL** *et al.*, **1984**; **VIALLET** *et al.*, **1986** y **REINA** *et al.*, **1992**). También en otras especies, las mialgias han sido descritas en procesos trichinellósicos, como en monos (**GRETILLAT** y **VASSILIADES, 1968**), en ratones (**CALERO** *et al.*, **1982**), y en perros (**REINA** *et al.*, **1988**).

En especies más afines a la cabra como es el caso de las ovejas, la trichinellosis experimental se ha desarrollado como un proceso asintomático (**TOMAŠOVIČOVÁ** *et al.*, **1991**). También asintomático se ha descrito un proceso experimental por *Trichinella* en vacas (**SMITH** *et al.*, **1990**), en las que estos autores sólo observaron rechazo a la comida y a la masticación entre los 10 y 30 dpi.

Igualmente en caballos, la trichinellosis experimental se ha observado de forma asintomática por algunos autores (**VAN KNAPEN** *et al.*, **1987** y **POLIDORI** *et al.*, **1989**), mientras **SOULE** *et al.*, (**1989**), hallaron desórdenes musculares transitorios en caballos con una alta tasa de parasitación.

En nuestra experiencia, no hemos observado mialgias en las extremidades ni cojeras o dolor a la presión. No descartamos, sin embargo, dolor en los músculos que intervienen en la respiración, como intercostales y diafragma y que esto se refleje clínicamente en taquipnea, tal y como hemos observado en algunas fases de nuestra experiencia, ya que el dolor en músculos respiratorios es reconocido como causante del aumento de la frecuencia respiratoria (**SMITH, 1990**).

Con respecto a las complicaciones cardíacas que incluyen trombosis, hipotensión y edema, **PAWLOWSKI** (**1983**) manifiesta que, al ser el

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

corazón órgano obligado de tránsito para las larvas de *Trichinella*, estas complicaciones son las más frecuentes y serias, siendo su intensidad proporcional a la magnitud de la infestación y apareciendo clínicamente manifiestas en un 20% de los casos. **BOURÉE (1980)**, sin embargo, opina que los síntomas cardíacos son casi siempre benignos no pasando de ligeras taquicardias o bradicardias, indicando que la causa es el efecto tóxico de los parásitos, ya que las larvas no se enquistan en miocardio.

Por las manifestaciones clínicas observadas en nuestra experiencia estamos más cerca de las afirmaciones de **BOURÉE (1980)**, ya que sólo hemos observado ligera taquicardia en algunos animales de nuestro colectivo experimental, no habiendo detectado en ningún momento la presencia de edemas. No obstante, en nuestra experiencia, contrariamente a lo expuesto por **BOURÉE (1980)**, sí que hemos comprobado la existencia de larvas en músculo cardíaco.

Respecto al resto de alteraciones secundarias ocurridas en los procesos por *Trichinella*, tales como alteraciones neurológicas, referidas por **BOURÉE (1980)** y **PAWLOWSKI (1983)**, alteraciones cutáneas, mencionadas por **BOURÉE (1980)**, **KOCIECKA (1981 a)**, **STUMPF** *et al.*, **(1981)**, **MURILLO VELARDE** *et al.*, **(1983)** y **PAWLOWSKI (1983)**, o alteraciones genitales, referidas por **BOURÉE (1980)**, no hemos observado ningún signo de los múltiples que, dentro de cada tipo de alteración, mencionan los diferentes autores.

Como consecuencia de lo expuesto, definimos el proceso patológico desarrollado en cabras por *T.spiralis*, como una enfermedad que cursa con una sintomatología leve, consistente en: diarrea, fiebre, taquicardia, taquipnea y sobre todo anorexia.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

5.2.- PARAMETROS HEMATICOS

5.2.1.- RECUENTO DE ERITROCITOS

La mayoría de autores consultados en nuestro trabajo de revisión, expresan no haber observado variaciones eritrocitarias en sus respectivas experiencias (**HERRERO ALONSO, 1975**; **KUCINSKAS, 1976**; **NGWENYA** *et al.*, **1984**), o sólo de forma escasa (**REINA, 1987** y **REINA** *et al.*, **1989 a**).

Sólo **MARTINEZ GOMEZ** *et al.* (**1985**), en perros y **BOURÉE** y **BAJDAN (1989)**, en ratas, manifiestan haber detectado anemia en el transcurso de procesos experimentales de trichinellosis, indicando los primeros autores haber realizado dicha observación desde los 3 dpi, hasta los 30 dpi, momento en el que los niveles de eritrocitos retornaron a la normalidad.

En nuestro trabajo hay una gran coincidencia con las observaciones realizadas por dichos autores, ya que desde los primeros días (5 dpi) observamos disminuciones en el número de eritrocitos circulantes, minoraciones que se hacen más patentes en algún animal hacia los 20 dpi y que continúan hasta los 26-30 dpi, momento a partir del cual observamos una recuperación aunque sin alcanzar los valores obtenidos antes de la infestación.

5.2.2.- VALOR HEMATOCRITO

En nuestra experiencia, el hematocrito sufrió descensos considerables a lo largo de la misma, llegando a alcanzar en algún animal un descenso de un 10% a los 20 dpi, con respecto al valor inicial.

Estas observaciones coinciden con las realizadas por **PRZYJALKOWSKI** *et al.*, **(1980)**, **HERRERO ALONSO (1975)** y **FRAYA (1981)**, y no así con las de **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989**

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

a), quienes en un proceso de trichinellosis experimental en perros no observaron variaciones destacables.

5.2.3.- HEMOGLOBINA

En referencia a la hemoglobina, en nuestra experiencia, la tendencia observada fue a la disminución, igual que ocurrió con glóbulos rojos y hematocrito, este descenso llegó a alcanzar un mayor grado a los 30 dpi, día en el que se observan reducciones entre 1,5 y 2,9 g/dl de hemoglobina, sin embargo, la mayoría de autores no observa cambios (**KUCINSKAS, 1976; MARTINEZ GOMEZ** *et al.*, **1985; REINA, 1987** y **REINA** *et al.*, **1989 a)** y sólo **NGWENYA** *et al.* **(1984)** describe ligeros cambios.

5.2.4.- INDICES HEMATIMETRICOS DE WINTROBE

En la bibliografía consultada sólo hemos hallado datos referentes a estos índices en la experiencia de **REINA (1987)** en la que este autor indica haber observado disminuciones en el VCM y HCM y ningún cambio en la CMHC. En nuestros animales de experimentación no hemos advertido variaciones significativas en ninguno de estos índices, esto nos permite clasificar morfológicamente la anemia que hemos descrito como normocrómica y normocítica.

5.2.5.- RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS

La leucocitosis es una de las manifestaciones más observadas en los procesos trichinellósicos en la mayoría de especies estudiadas (**HERRERO ALONSO, 1975; LE MERCIER** *et al.*, **1977; BOURÉE, 1980; FRAYHA, 1980; KOCIECKA, 1981 b; STUMPF** *et al.*, **1981; PRZYJALKOWSKI** *et al.*, **1980, 1981; PAWLOWSKI, 1983; REINA, 1987; REINA** *et al.*, **1989 a** y **BOURÉE** y **BADJANG, 1989).**

Igualmente en nuestro proceso experimental, la leucocitosis ha sido

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

un signo observado en los animales infestados, y puesto de manifiesto durante la fase intestinal (hasta los 7 dpi), y entre los 26 y 72 dpi aproximadamente.

Los distintos autores, observan la leucocitosis en distintas fases y así, **KOCIECKA (1981 b)**, la encuadra durante la fase de invasión, **BOURÉE y BADJANG (1989)**, sobre la 3ª semana postinfestación, **PRZYJALKOWSKI** *et al*, **(1989, 1981 b)**, a partir de los 30 dpi y **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 a)**, durante la fase de emigración de larvas 1 y penetración en músculos.

De lo autores consultados sólo **REINA (1987)**, describe haber observado leucopenia entre los 66 y 90 dpi, mientras que en nuestra experiencia observamos disminución en el número de leucocitos durante la fase de migración larvaria y llegada de las primeras larvas a músculo (10-20 dpi).

5.2.6.- RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS

Varios autores han observado alteraciones en el porcentaje de neutrófilos y linfocitos, aunque no existe unanimidad en las observaciones de estos autores, probablemente por la diferencia de especies con las que trabajaron, y así, **MARTINEZ GOMEZ** *et al.* **(1985)** y **REINA (1987)**, estudiando el proceso en perros, observaron neutropenia junto con linfocitosis. En otro sentido, **LARSH (1968)**, en cricetos y ratones, **FRAYHA (1981)**, en la especie humana, así como **CABAJ** *et al.* **(1979)**, **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(198O, 1891)** y **CALERO** *et al.* **(1982)**, en ratones, describen neutrofilia junto con linfopenia en sus experiencias.

Contrariamente a la opinión expresada por estos autores, nosotros como ya expusimos en Resultados no hemos observado ninguna variación significativa a este respecto.

Con referencia a los monocitos, en la bibliografía consultada, encontramos también diferentes opiniones. **CABAJ** *et al.* **(1979)**, detectan

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

una importante monocitosis en ratones, **MARTINEZ GOMEZ** *et al.* **(1985)**, en perros, observaron valores normales o ligeramente descendidos en algunos de ellos y **CALERO** *et al.* **(1982)**, al igual que **REINA (1987)**, no observaron variaciones, igual que ocurrió en nuestra experiencia en la que no detectamos ninguna variación en el recuento de monocitos.

Esto mismo sucedió con los basófilos que estuvieron ausentes durante toda la experiencia tal y como lo describe **REINA (1987)**.

Finalmente, como vimos en el capítulo de Revisión Bibliográfica, gran cantidad de autores observan eosinofilia en infestaciones por *Trichinella* en un gran número de especies hospedadoras. Esta opinión es compartida por nosotros dados los resultados obtenidos en nuestra experiencia.

El comienzo de esta eosinofilia lo observamos a partir de los 20 dpi, esta opinión, es similar a las de **LARSH (1968)** y **BECK (1970)**, que en cricetos detectan la eosinofilia al comienzo de la fase muscular. Sin embargo, otros autores la observan en fases más tempranas como desde los 2 dpi **(KARMANSKA, 1981)**, o a partir de los 5 dpi **(BECK, 1970; PAWLOWSKI, 1983; REINA, 1987** y **REINA** *et al.*, **1989 a)**.

No obstante, sí que sobre los 20 dpi muchos autores ubican el pico más alto de eosinofilia **(KUCINSKAS, 1976; PRZYJALKOWSKI** *et al.*, **1978 a, 1980** y **1981; CALERO** *et al.*, **1982; PROKOPOWICZ** *et al.*, **1983** y **PINCUS** *et al.*, **1986)**, momento en el que ya nosotros detectamos en un animal un 17% de eosinófilos siendo observado el pico más alto sobre los 37 dpi, en el que detectamos un 20% en otro animal.

Esta cifra no la podemos contrastar con la de otros autores, ya que no tenemos referencias de este proceso en cabras, y en cuanto a herbívoros se refiere, la eosinofilia no ha sido un signo observado por todos los autores consultados. Así **SOULE** *et al.* **(1989)** y **POLIDORI** *et al.* **(1989)** observan eosinofilia en algunos de los caballos utilizados en sus experimentos; sobre vacuno **SMITH** *et al.* **(1990)**, observan eosinofilia a partir del día 7 pi alcanzando el máximo valor sobre los 30 dpi, contrariamente,

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

TOMAŠOVIČOVÁ *et al.* **(1991)**, en ovejas, no detectan elevaciones en el porcentaje de eosinófilos.

5.3.- BIOQUIMICA SERICA

5.3.1.- PROTEINAS TOTALES

Se han descrito alteraciones en la cantidad de proteínas plasmáticas en procesos trichinellósicos. Así algunos autores han observado hipoproteinemia en distintas especies (**CHODERA** *et al.*, **1974**; **BOURÉE, 1980**; **KOCIECKA, 1981 b**; **KOCIECKA** *et al.*, **1981**; **BOURÉE** y **BADJAN, 1989**; **REINA, 1987** y **REINA** *et al.*, **1989 b**), mientras otros autores observaron hiperproteinemia (**LARSH, 1968**; **MORENO** *et al.*, **1985**; **POLIDORI** *et al.*, **1989**).

En nuestro trabajo no hemos detectado ninguna variación significativa en la tasa de proteínas plasmáticas totales, este hecho sólo ha sido descrito por **READ (1970)** y **FRAYHA (1981)**, refiriéndose a procesos trichinellósicos en ratas y humanos respectivamente.

5.3.2.- FRACCIONES PROTEICAS

Parece existir una opinión generalizada sobre la existencia de hipoalbuminemia en procesos trichinellósicos.

Así, autores como **HERRERO ALONSO (1975)**, **VERNES** *et al.* **(1975)** o **PRZYJALKOWSKY** *et al.* **(1978 a)**, refieren este hallazgo en roedores, **LARSH (1968)** y **READ (1970)**, en conejos, **KOCIECKA (1981 b)**, en momos, **PAWLOWSKI (1983)**, en la especie humana y **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 b)**, en perros.

En nuestro experimento observamos un descenso en el porcentaje de

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

albúmina entre los 20 y 51 dpi, encontrando los niveles más bajos a partir de los 37 dpi. Estos datos coinciden con las observaciones de **PAWLOWSKI (1983)**, que sitúa subre la 5ª-6ª semana el hallazgo de los valores más bajos de albúmina, pudiéndose deber como opinan **KASSUR** *et al.* **(1981)** y **REINA (1987)**, a la fuerte demanda proteica que realizan las larvas para su crecimiento y enquistamiento.

Unicamente los trabajos de **LARSH (1968)** y **READ (1970)**, en ratas, difieren de estos resultados, encontrando estos autores un incremento de albúminas entre los días 0 y 15 postinfestación.

En referencia a la evolución de las diferentes fracciones globulínicas, hay una mayor disparidad en las opiniones de los distintos autores. De esta forma, y referente a la evolución de las α-globulinas en los procesos por *Trichinella*, la mayoría de autores expresan que se produce un aumento de esta fracción (**LARSH, 1968**; **READ, 1970**; **HERRERO ALONSO, 1975**; **PRYZJALKOWSKI** *et al.*, **1978 a**; **KOCIECKA, 1981 b** y **STUMPF** *et al.*, **1981**).

Este incremento no ha sido observado por nosotros en nuestra experiencia de forma generalizada y sólo en un animal lo detectamos entre los 51 y 65 dpi. También **REINA (1987)**, en su experiencia llevada a cabo en perros observó de forma aislada algún incremento en la fracción α-globulina, realizando dicha observación entre los 8-14 dpi.

Respecto a los niveles de ß-globulina, obtuvimos en nuestra experiencia incrementos a partir de los 7 dpi, que afectaron a la fracción $ß_1$, no encontrando variaciones que afectaran a la fracción $ß_2$.

El aumento en las ß-globulinas ha sido descrito por **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 b)**, quienes detectaron hiper ß-globulinemia en perros desde los primeros días de la infestación. También **HERRERO ALONSO (1975)**; **VERNES** *et al.* **(1975)** y **KOCIECKA (1981 b)**, observan este aumento.

Otros autores como **LARSH (1968)**, **READ (1970)** o

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

PRZYJALKOWSKI *et al.* **(1978 a)**, detectan un descenso de la fracción ß-globulina en sus investigaciones en conejos y ratones, siendo únicamente **LARSH** y **READ** los que no observan variación significativa de esta fracción en sus experiencias en ratas.

Con respecto a la evolución de las γ-globulinas, la mayoría de autores consultados señalan un aumento de esta fracción, indicando **HERRERO ALONSO (1975)** y **KOCIECKA (1981 b)**, que esta fracción globulínica es la que presenta un menor incremento.

REINA (1987) y **REINA** *et al.* **(1989 b)**, no observan variaciones en los niveles de γ-globulinas, observación que coincide con la realizada por nosotros en nuestra experiencia en la que no detectamos variaciones de los niveles de γ-globulinas.

Finalmente, y refiriéndonos al cociente albúmina/globulina, hemos observado una significativa reducción del mismo en los animales infestados, llegando a valores medios comprendidos entre 0,67 y 0,76, cuando antes de la infestación estos se situaron entre 0,78 y 1,24. Esta observación coincide totalmente con las realizadas por **HERRERO ALONSO (1975)**, en ratas, **LARSH (1968)** y **READ (1970)**, en conejos y **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1989 b)** en perros, quienes señalan descensos de este índice en los procesos parasitarios por *Trichinella*.

5.3.3.- GLUCOSA

En los procesos trichinellósicos, la hipoglucemia es uno de los signos más observado, debiéndose probablemente como apuntan algunos autores a las deficiencias en la absorción intestinal (**PRZYJALKOWSKI** *et al.*, **1977**; **STWART, 1983 a**; **PAWLOWSKI, 1983**; **DESPOMMIER, 1983**; **MORENO** *et al.*, **1985** y **REINA** *et al.*, **1989 c**).

En nuestra experiencia no hemos detectado ningún descenso en la glucemia, debido seguramente a que en los rumiantes el metabolismo de los carbohidratos es diferente y los niveles séricos de glucosa no están

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

influenciados por la absorción de azúcares a nivel intestinal como ocurre en los monogástricos (**COLES, 1986**).

Sin embargo, otros autores también manifiestan no haber detectado variación en los niveles de glucosa sérica (**HERRERO ALONSO, 1975** y **STEWART, 1983 b**) o por el contrario hiperglucemia en algún momento de su experiencia (**MORENO** *et al.*, **1985**), argumentando como posible causa de este aumento de glucosa, la intoxicación intestinal o la ligera fiebre producida durante los primeros días post-infestación.

5.3.4.- UREA

Son escasos los trabajos que refieren los niveles plasmáticos de urea en los porcesos parasitarios por *Trichinella*, de ellos podemos destacar los de **MORENO** *et al.* **(1985)**, así como los de **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1990)**, referidos a la especie canina. Estos autores indican la existencia de valores superiores a los fisiológicos, situando los primeros un pico sobre los 23 dpi y **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1990)**, señalan un aumento sobre los 5-10 dpi.

En nuestra experiencia hemos observado aumento en los niveles de urea hasta los 7 días desde el inicio de la misma, lo que es similar a la observación realizada por **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1990)**. Pensamos que podría deberse al daño intestinal producido por la acción de los parásitos, o al mismo shock producido por la infestación.

Por el contrario **HERRERO ALONSO (1975)**, en ratas blancas infestadas por *T.spiralis* no encuentra variaciones de este parámetro.

5.3.5.- LDH

La liberación enzimática como consecuencia de la fase muscular en el ciclo evolutivo de *Trichinella*, se puede detectar mediante la valoración de LDH en esta etapa del proceso muscular (**GENTILINI** *et al.*, **1976**),

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

siendo el incremento en los niveles séricos de LDH indicativo de la presencia de trichinellosis. Los picos de mayor actividad de esta enzima aparecen entre las 2-3 semanas postinfestación, en infestaciones severas, y en la 4ª semana, en infestaciones moderadas (**BOCZOŃ, 1988**).

Debido a esto prácticamente la totalidad de autores consultados, coinciden en afirmar que en sus experiencias se produce un claro aumento en la actividad sérica de la LDH (**BECK, 1970**; **BOURÉE, 1980**; **GEORGIEVA** *et al.*, **1980**; **STUMPF** *et al.*, **1981**; **MURILLO VELARDE** *et al.*, **1983**; **PRZYJALKOWSKI** *et al.*, **1985 a**; **URSELL** *et al.*, **1984**; **REINA, 1987**; **REINA** *et al.*, **1988**; **POLIDORI** *et al.*, **1989** y **SOULE** *et al.*, **1989**). Nosotros lo hemos constatado en nuestra experiencia, a partir de los 16 dpi, en un animal y en el resto de animales infestados a partir de los 30 dpi, en los que llegamos a registrar aumentos de hasta 424 U/l de LDH sérica, lo que representa el doble del valor inicial.

5.3.6.- CK

En nuestra experiencia, no hemos encontrado elevación en la actividad sérica de esta enzima como hubiera sido de esperar, dada su alta especificidad como indicativa de daño muscular, como así lo han detectado muchos autores (**GENTILINI** *et al.*, **1976**; **BOURÉE, 1980**; **FRAYHA, 1981**; **STUMF** *et al.*, **1981**; **PAWLOWSKI, 1983**; **MURILLO VELARDE** *et al.*, **1983**; **STEWART** *et al.*, **1982**; **STEWART, 1983 a**; **URSELL** *et al.*, **1984**; **TAKADA** *et al.*, **1985**; **REINA, 1987**; **REINA** *et al.*, **1988** y **POLIDORI** *et al.*, **1989**).

Sin embargo, **GOMEZ CEREZO** *et al.* **(1989)**, afirman que en trichinellosis humana la correlación entre alteraciones electromiográficas y aumentos en la CK es baja, basados en un estudio sobre 10 pacientes en los que las alteraciones electromiográficas demostraron miopatías en todos ellos mientras que los niveles de CK sólo estaban incrementados en 6 de ellos.

Unicamente **HERRERO ALONSO (1975)**, manifiesta no haber encontrado variaciones significativas en los niveles de CK.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

5.3.7.- AST

También esta enzima, como indicativa de daño hepático y muscular, se incrementa en procesos de trichinellosis, según la mayoría de autores consultados.

Algunos de estos autores, hacen referencia a esta elevación de la AST, pero sin indicar hasta dónde asciende (**PRZYJALKOWSKI** *et al.*, **1985** a y **POLIDORI** *et al.*, **1989**).

Otros autores como **BOURÉE (1980)**; **FRAYHA (1981)**; **STUMPF** *et al.* **(1981)**; **MURILLO VELARDE** *et al.* **(1983)** o **URSELL** *et al.* **(1985)** encuentran incrementos sobre los valores fisiológicos entre 2 y 10 veces. También **REINA (1987)**; **REINA** *et al.* **(1988)** y **REINA** *et al.* **(1989 b)**, indican que en perros la AST llega a duplicar el valor previo a la infestación sobre los 40 dpi, para luego descender a valores inferiores a los iniciales sobre los 82-90 dpi.

TOMAŠOVIČOVÁ *et al.* **(1991)**, comprueban en ovejas un pico en la actividad sérica de esta enzima sobre los 19 dpi, pero permaneciendo durante toda la experiencia dentro de los límites fisiológicos. Esta opinión concuerda con lo observado en nuestra experiencia en la que los valores séricos de AST han permanecido dentro del rango fisiológico y sólo hemos observado elevación en algunos animales sobre los 26-30 dpi.

5.3.8.- ALT

Las elevaciones séricas de ALT son específicas de daño hepático en pequeños animales y hombre, sin embargo carece de valor diagnóstico en rumiantes (**KANEKO, 1980**; **COLES, 1986**) debido a que las células hepáticas en estos animales contienen escasa cantidad de esta enzima.

Debido a esto, probablemente, no hemos encontrado durante nuestra experiencia ninguna elevación en los niveles séricos de esta enzima,

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

contrariamente a lo expresado por otros autores que sí han constatado incremento de la ALT al estudiar procesos trichinellósicos en otras especies como así los indican **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1992 b)**, en perros, **BOURÉE (1980)**, **STUMPF** *et al.* **(1981)** y **MURILLO VELARDE** *et al.* **(1981)**, en la especie humana y **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1985 a)**, en ratones.

En rumiantes, sólo **TOMAŠOVIČOVÁ** *et al.* **(1991)**, hace referencia a la evolución de esta enzima, indicando al igual que ocurrió con la AST, que si bien hay un incremento sobre los 19 dpi, en ningún momento sale del margen fisiológico.

5.3.9.- FOSFATASA ALCALINA

En la bibliografía consultada se reflejan, con respecto a la evolución de esta enzima en procesos trichinellósicos, opiniones contradictorias.

Autores como **BECK (1970)**, **READ (1970)**, **FRAYHA (1981)**, **PRZYJALKOWSKI** *et al.* **(1985 a)** y **POLIDORI** *et al.* **(1989)**, indican el aumento que esta enzima manifiesta, probablemente como consecuencia del daño hepático sufrido por la acción del parásito.

Por el contrario **BORGERS** *et al.* **(1975)**, **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1988)**, constatan un descenso en los niveles séricos de la enzima durante la primera semana, seguido de una recuperación para volver a descender, indicando estos autores que este descenso puede ser debido a un incremento de fosfatasa alcalina en el sistema "T" tubular hipertrofiado (Retículo endoplásmico liso), que circunda interiormente el sarcolema. Esta enzima jugaría un papel importante en el intercambio de moléculas a través de la célula muscular hospedadora, la cual nutre a la L1 de *T.spiralis* en ella instaurada.

En nuestra experiencia la tendencia observada en esta enzima fue al incremento fundamentalmente a partir de los 26-37 dpi cuando el daño hepático es evidente y así lo demuestra el estudio histopatológico.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

5.3.10.- POTASIO

La disminución en el nivel de potasemia durante un proceso parasitario por *Trichinella*, ha sido observada en algunas especies tales como conejos (**CHODERA** *et al.*, **1974**), humanos (**LE MERCIER** *et al.*, **1977** y **PAWLOWSKI, 1983**) o en perros (**REINA, 1987**), indicando este último autor que en su experimento constató una disminución del nivel de potasio sérico durante las primeras fases, terminando con un incremento hacia el final del mismo.

En otras especies tales como rata blanca (**HERRERO ALONSO, 1975**), o caballos (**POLIDORI** *et al.*, **1989**), se observaron incrementos de estos niveles.

Contrariamente a estas observaciones en nuestro experimento no hemos detectado alteraciones significativas con respecto a la potasemia que las cabras muestran al inicio del experimento, y la escasa variación observada afectó a sólo dos animales en distinto momento y sin continuidad en el tiempo.

5.3.11.- HIERRO

Sólo las publicaciones de **THEODOROPOULOS** y **GREVE (1986)**, en cerdos y **REINA (1987)**, en perros, hacen referencia a los niveles séricos de hierro en trichinellosis.

Este último autor indica haber observado un aumento considerable de la sideremia desde los primeros días postinfestación.

Sin embargo, **THEODOROPOULOS** y **GREVE** señalan no observar cambios importantes en el hierro sérico, aunque sí indican que el hierro puede ser muy inportante para la supervivencia de las larvas de *T.spiralis*.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En nuestra experiencia el hierro sérico, es evidente que sufre una reducción importante durante los primeros 26 días desde la infestación, reducción que pudiera estar relacionada con el daño que se produce a nivel de la mucosa del duodeno con una importante descamación celular, lo cual provocaría una disminución en la absorción de hierro, o con el consumo de las L1 en su localización intestinal y hasta la llegada a musculatura.

5.3.12.- OTROS PARAMETROS BIOQUIMICOS

Con referencia al sodio, **REINA (1987)**, detecta incremento en la natremia coincidiendo con la llegada de larvas a musculatura, observación que no hemos constatado en nuestra experiencia en la que el nivel sérico de sodio permaneció constante a lo largo de la misma.

Esto mismo ocurrió con el cloro, magnesio, calcio, fósforo, creatinina, bilirrubina y γ-GT, que permanecieron estables durante todo el desarrollo experimental.

Contrariamente, ligeras elevaciones en la creatinina sérica han sido observadas por otros autores (**REINA, 1987** y **POLIDORI** *et al.*, **1989**).

También, **REINA (1987)**, observa incremento en los niveles de magnesio a partir de los 26-28 dpi, al igual que a partir de los 16 dpi detecta niveles de calcemia sensiblemente inferiores a los que el colectivo experimental presentó al inicio del experimento. Por el contrario, **BOURÉE** y **BADJANG (1989)**, indican que el incremento en la calcemia es proporcional a las dosis infestantes.

5.4.- ANALITICA EN ORINA

Algunos autores han observado la presencia de proteinuria durante procesos trichinellósicos, como así lo describen **FRAYHA (1981)**, en la especie humana y **REINA (1987)**, en perros.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

En nuestro trabajo, sólo hemos constatado la presencia de proteínas en orina en una sóla de las cabras infestadas. Este hallazgo se produjo en el animal de lote 3 que fue sacrificado a los 90 dpi. La cantidad de proteínas presentes en la orina fue de 500 mg/dl.

BOURÉE (1980), por el contrario, expone que la orina de personas con procesos trichinellósicos no contiene albúmina. Este mismo autor indica que el resto de parámetros en orina no presentan alteraciones de consideración, hecho que coincide con los resultados obtenidos en nuestra experiencia, en la que todos los parámetros se ajustaron a los dados como normales para la especie caprina.

Con respecto a los cilindros epiteliales evidenciados a los 90 dpi, ningún otro autor hace referencia a este hallazgo, que consideramos se produce por el daño producido a nivel glomerular que hace que se filtren proteínas en gran cantidad a las que se adhieren células epiteliales descamadas como consecuencia de la degeneración tubular.

Como consecuencia de las alteraciones biopatológicas comentadas resuminos indicando que la trichinellosis en cabras cursa con anemia, leucocitosis en las fases intestinal y muscular, eosinofilia, hipoalbuminemia, hiperß-globulinemia, disminución del hierro sérico y elevaciones séricas de urea, LDH y fosfatasa alcalina, pudiendo en fases avanzadas verse afectada la función glomerular manifestada en un primer momento por la presencia de proteinuria.

5.5.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

5.5.1.- APARATO DIGESTIVO

A nivel de intestino delgado es donde se produce el asentamiento de larvas 1 recién liberadas, por ello, macroscópicamente se observa un proceso de inflamación (enteritis) (**RACE** *et al.*, **1974** y **WEATHERLY**,

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

1983), y como consecuencia de la penetración de larvas infestantes en la mucosa se producen úlceras diminutas, hiperemia, petequias en serosa, y edema a lo largo de todo el tracto intestinal, con excesiva secreción mucosa o incluso débiles hemorragias (**WEATHERLY, 1983; CASTRO** y **BULLICK, 1983)**.

En nuestra experiencia, hemos observado algunas de las alteraciones macroscópicas descritas por estos autores, y que se ciñen a fenómenos de hiperemia con abundante secreción mucosa. Estas observaciones coinciden plenamente con las realizadas por **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1992 a)**, en perros infestados con larvas de *Trichinella.*

Microscópicamente, hemos observado un proceso de enteritis catarral con descamación celular durante los primeros 23 días postinfestación, evolucionando estas lesiones hacia un proceso crónico hasta el final de la experiencia.

También, **RACE** *et al.* **(1974)**, en ratones, describe un proceso inflamatorio intestinal agudo durante los primeros días postinfestación, y a partir de los 22 dpi, cuando la mayoría de parásitos han sido eliminados, la reacción tisular disminuye gradualmente, caracterizándose la inflamación por el predominio de linfocitos y células plasmáticas sobre neutrófilos y eosinófilos, lo que indica la existencia de una inflamación de tipo crónico.

Un cuadro de enteritis catarral también evidenciado por nosotros, ha sido descrito por **BOURÉE (1980)**; **CASTRO** y **BULLICK (1983)**, **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1992 a)**. Estos últimos autores, denuncian además un proceso de descamación.

Otra lesión observada por nosotros es la hipertrofia de placas de Peyer, lesión que ha sido evidenciada también por **SINSKI** *et al.* **(1983)**, en ratones albinos y **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1992 a)**, en perros.

A nivel de la capa muscular coincidiendo con las observaciones de **CASTRO** y **BULLICK (1983)**, se produce un aumento de grosor, que estos autores indican que puede ser debido a edema, hiperplasia o hipertrofia, y

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

que en nuestra experiencia se debe a fenómenos de hiperemia y edema muy intensos en los primeros días de la experiencia, y aunque menos intensos, estan presentes hasta los 45 dpi, remitiendo totalmente a los 60 y 90 dpi.

A la vista del cuadro histopatológico intestinal y su cronología, tal y como describen otros autores, pensamos que ha de existir una correspondencia entre la expulsión de adultos del intestino y la evolución del proceso entérico. En nuestra experiencia, una vez producida dicha expulsión se mantienen las lesiones hasta el final de la misma, por lo que podría estar relacionado con una respuesta celular inmune de tipo tardío que permaneciera tras la expulsión de los adultos, tal y como afirman **LARSH** y **RACE (1975)**, o bien, por una respuesta intestinal ante un proceso tóxico provocado por las larvas(**EVRANOVA** y **EVRANOVA, 1974**).

5.5.2.- TEJIDO MUSCULAR ESQUELETICO

Algunos autores describen alteraciones macroscópicas evidenciables en los músculos parasitados, así **BOURÉE (1980)** y **PAWLOWSKI (1983)**, hablan de músculos edematosos y flexibles, con cambio del color normal del músculo afectado, señalando la aparición de un moteado blanquecino tras 2-3 meses del comienzo de la infestación.

Un moteado blanquecino que se corresponde con zonas de miodegeneración, fue observado por nosotros en diafragma a los 90 días del inicio del experimento, no habiendo observado ninguna otra alteración a nivel muscular, ni en cuanto a consistencia ni a la coloración, tal y como también lo describe **REINA (1987)**, en su experimento en perros.

Microscópicamente, la gran mayoría de autores consultados, coinciden en señalar la presencia de un proceso inflamatorio granulomatoso.

REINA (1987) y **REINA** *et al.* **(1988)**, lo definen como una miositis granulomatosa caracterizada por la presencia de granulomas, que estos autores evidencian a partir de los 8 dpi, aunque de forma mucho más manifiesta a partir de los 25 dpi.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Otros autores como **DRACHMAN** y **TUNCHAY (1965)**, comentan que tanto el daño en la fibra muscular como el infiltrado celular inflamatorio se incrementa de forma inportante después del día 20 pi.

Igualmente **BECK (1970)**, **WEATHERLY (1983)** y **GUTOWSK** *et al.* **(1989)**, observan en cricetos y ratones estos procesos inflamatorios sobre los 14-15 dpi. También **STEWART** *et al.* **(1982)**, indican que la miositis trichinellósica comienza en diafragma alrededor de los 13 dpi y **PROKOPOWICZ** *et al.* **(1983)**, observan estas reacciones granulocíticas a partir del día 10 pi.

Coincidiendo con estos autores en nuestra experiencia hemos observado una reacción miosítica con granulomas, aunque no estuvo presente hasta los 30 dpi, pero observando desde el día 20 pi, una reacción inflamatoria generalizada o miositis simple que permanece junto con el proceso granulomatoso hasta el final de la experiencia.

Al mismo tiempo que comenzamos a observar esta miositis (20 dpi), aparecen quistes parasitarios interfibrilares, que aumentan a medida que avanza la experiencia.

5.5.3.- MUSCULATURA CARDIACA

En nuestra experiencia hemos observado un mecanismo de reacción vascular generalizado, caracterizado por la presencia de hiperemia y edemas intensos, junto con un proceso inflamatorio generalizado o miocarditis simple desde los primeros días postinfestación, fenómenos que no aparecen a partir de los 60 dpi. También **REINA (1987)**, ha observado edemas a los 5 días de la infestación, aunque este autor no los conceptúa como importantes ni por su intensidad ni por su extensión.

En musculatura cardíaca son frecuentes igualmente los granulomas compuestos por neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, macrófagos e histiocitos, como lo han confirmado gran cantidad de autores entre los que destacamos a **GABRYEL** *et al.*, **(1970)**; **LE MERCIER** *et al.* **(1977)**; **KASSUR** *et al.*

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

(1981); **PARKER** *et al.* (1984); **URSELL** *et al.* (1984) y **REINA** (1987), quienes destacan la presencia de una miocarditis que **PAWLOWSKI** (1983), la define como miocarditis eosinofílica.

Al igual que estos autores, en nuestra experiencia, evidenciamos la presencia de granulomas a partir de los 30 dpi, coincidiendo con **PAWLOWSKI** (1983), que cita la miocarditis granulomatosa en la especie humana entre las 4 y 8 semanas postinfestación, al igual que **REINA** (1987), en un proceso de trichinellosis canina.

5.5.4.- HIGADO

Coincidiendo plenamente con las observaciones realizadas por **REINA** (1987) y **REINA** *et al.* (1989 c) en perros infestados con *T.spiralis*, una de las lesiones más características hallada en hígado es la degeneración glucogénica.

Igualmente coincidiendo con estos autores observamos granulomas distribuidos por el parénquima hepático y que también han sido descritos por otros autores como **MIKHAIL** *et al.* (1978) y **GABRYEL** *et al.* (1981 a).

A diferencia de lo expresado por **PAMBUCCIAN** y **CIRONEAU** (1961), y de acuerdo con lo observado por **REINA** (1987), no hemos detectado aumento del tamaño de la víscera.

Aunque microscópicamente, sí que se detecta desde los primeros días postinfestación un proceso inflamatario generalizado que alcanza su máximo grado a los 30 dpi, pudiendo deberse como apuntan **EVRANOVA** y **EVRANOVA** (1974) y **REINA** (1987), a la influencia tóxica de las larvas de *Trichinella*.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

5.5.5.- RIÑON

Coincidimos con **SITPRIJA** *et al.* **(1980)**, **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)**, **WEATHERLY (1983)**, **REINA (1987)**, **TODOROVA** *et al.* **(1988, 1990)** y **REINA** *et al.* **(1990)**, en la presentación de una glomerulonefritis membrano-proliferativa con proliferación de células mesangiales en los procesos por *Trichinella*, posiblemente debida, según algunos de estos autores a la presencia de inmunocomplejos a nivel de glomérulo renal.

En nuestra experiencia hemos detectado también lesiones del sistema tubular con la existencia de necrosis tubular a partir de los 30 dpi.

A nivel intersticial es importante la presencia de edema desde los primeros días postinfestación, hasta los 30 dpi y la existencia a partir de los 45 dpi de un cuadro de nefritis intersticial, con importante infiltración de linfocitos e histiocitos, lesiones observadas también por **REINA (1987)** y **REINA** *et al.* **(1990)**.

5.5.6.- BAZO Y GANGLIOS LINFATICOS

Desde los primeros días postinfestación hemos hallado un proceso inflamatorio, a consecuencia del cual hay un aumento en el tamaño del bazo. Esplenomegalia que también ha sido observada por **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)**; **WETHERLY (1983)**; **TAKADA** *et al.* **(1985)** y **REINA (1987)**.

Microscópicamente observamos una esplenitis hiperplásica con hipertrofia folicular coincidiendo igualmente con las observaciones de **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)** y **REINA (1987)**.

Con respecto a gánglios linfáticos, al igual que **FAUBERT** y **TANNER (1974)** y **BOURÉE (1980)**, hemos encontrado hipertrofia de los mismos desde los primeros días postinfestación.

Microscópicamente observamos un proceso de linfoadenitis hiperplásica con hipertrofia de foliculos, proceso también observado por

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

REINA (1987).

En zona medular el proceso encontrado es catarral a nivel de senos, con descamación de células y lisis de linfocitos, constituyendo un cuadro muy similar al detectado por **REINA (1987)**, en perros infestados con *T.spiralis*.

5.5.7.- PULMON

Según **OPIE** y **ASKANAZY** (citados por **WEATHERLY, 1983**) y **GOULD (1970 a y b)**, se detectan focos hemorrágicos en pulmón de animales infestados con *Trichinella*, pudiendo ser debidos a la rotura de capilares alveolares por las obstrucciones provocadas por las larvas en estas localizaciones (**GOULD, 1970 a y b**). Por el contrario en nuestra experiencia hemos detectado desde los primeros días postinfestación zonas hiperémicas, pero sin observar focos de hemorragia.

No coincidimos tampoco con las afirmaciones realizadas por **BOURÉE (1980)**; **KASSUR** *et al.* **(1981)**; **PAWLOWSKI (1983)**; **URSELL** *et al.* **(1984)** y **REINA (1987)**, en cuanto a la aparición de edema. Por el contrario, coincidimos con estos autores en cuanto a la detección de un proceso bronconeumónico, con infiltrado celular interseptal, representado por el acúmulo de histiocitos y linfocitos, constituyendo un cuadro de neumonía intersticial.

5.5.8.- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Desde los primeros días postinfestación evidenciamos a nivel de sistema nervioso central zonas hiperémicas y edematosas, al igual que **URSELL** *et al.* **(1984)** y **REINA (1987)** en sus respectivas experiencias, aunque no observando como estos autores zonas hemorrágicas.

A partir de los 20 dpi el cuadro lesional se caracterizó por satelitosis junto a movilización de células de glía, coincidiendo con las observaciones de **WEATHERLY (1983)** y **REINA (1987)**.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Por el contrario, disentimos de **GABRYEL** *et al.* **(1981 a)** y **KASSUR** *et al.* **(1981)** que no detectan ninguna alteración morfológica de este órgano.

A la vista de todas estas alteraciones producidas, deducimos que la trichinellosis en cabras, al igual que en otros hospedadores, provoca una reacción inflamataria generalizada radicando las lesiones más importantes en intestino, hígado, riñón, tejido muscular estriado y miocardio.

5.6.- ESTUDIO INMUNOLOGICO

5.6.1.- ESTANDARIZACION DE LA TECNICA ELISA

De las distintas concentraciones antigénicas ensayadas (1, 5, 10 y 20 μg/ml) frente a distintas concentraciones séricas y de conjugado, fue la de 5 μg/ml, la que ofreció una mayor discriminación entre sueros positivos y negativos.

Aunque algunos autores hayan utilizado concentraciones más bajas (**GAMBLE** *et al.*, **1983**), una concentración de antígeno de 5 μg/ml ha sido utilizada en muchos trabajos (**RUITENBERG** *et al.*, **1976**; **RUITENBERG** y **VAN KNAPEN** *et al.*, **1977**; **VAN KNAPEN** *et al.*, **1981**; **SERRANO**, **1991** y **NAVARRETE** *et al.*, **1991**).

La detención de la reacción fue ensayada a los 30 y 60', encontrando los mejores resultados cuando se realizó a los 30'. En cambio, **SERRANO(1991)** y **NAVARRETE** *et al.* **(1991)**, hallaron una mejor diferencia entre sueros positivos a negativos a los 60'.

Finalmente, en los ensayos realizados resultaron óptimas la dilución de conjugado 1:8000 y la dilución sérica 1:640.

Estos datos no podemos compararlos con otros estudios sobre la

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

especie caprina, ya que sólo tenemos referencias a los realizados en cerdos, en los que los autores recomiendan como óptimas diluciones séricas de 1:1280 y diluciones de conjugado de 1:5000 (**SERRANO, 1991** y **NAVARRETE** *et al.*, **1991**).

5.6.2.- EVOLUCION DE LOS NIVELES SERICOS DE ANTICUERPOS

Desde el día 7 antes de la infestación, hasta el día 16 pi, no se aprecian diferencias de DO entre animales infestados y el lote control. Es en el día 16 pi cuando se observan los primeros incrementos en los valores de extinción obtenidos en el grupo infestado respecto al control.

Las diferencias entre ambos grupos continúan aumentando progresivamente hasta los 37 dpi, momento en el que se estabiliza, tendiendo a descender hacia el final de la fase experimental.

Esta evolución del nivel de anticuerpos coincide con la aportada por otros trabajos, en condiciones similares a las nuestras (**RUITENBERG** y **VAN KNAPEN, 1977 b**; **GAMBLE** *et al.*, **1983**; **SERRANO, 1991** y **NAVARRETE** *et al.*, **1991**), aunque algunos autores no encuentran la seroconversión hasta el día 21-24 pi (**SMITH** y **SNOWDON, 1987 b**).

En estudios realizados sobre ovejas, **TOMAŠOVIČVÁ** *et al.* (**1991**), encuentran los primeros aumentos a los 11 dpi, hallando el máximo título a los 35 dpi.

5.7.- ESTUDIO DEL GRADO DE INFESTACION MUSCULAR

Los resultados obtenidos en nuestra experiencia demuestran que hay un buen asentamiento muscular de larvas de *Trichinella* en todos los animales infestados y sacrificados a partir de los 20 dpi. Lógicamente no se detectaron larvas en los animales sacrificados a los 5 y 7 dpi.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Es un hecho conocido que en las infestaciones por *Trichinella* los músculos de mayor actividad son los que resultan más altamente parasitados, lo que determina una distribución diferente en cada especie hospedadora (**PAMPIGLIONE** *et al.* **1978** en caballos, **STEWART** *et al.* **1980** en ratones, **HENRIKSEN 1981** en conejos, **MARTINEZ-GOMEZ** *et al.* **1985** y **REINA 1987**, en perros).

En los animales de nuestra experiencia se observó una distribución regular de larvas, con las lógicas variaciones individuales, como **KOTULA** *et al.* **1984** indican, utilizando el mismo aislado, la misma dosis y la misma edad y peso de los animales de experimentación. Estas afirmaciones revelan que la resistencia de cada animal puede ser muy diferente.

En nuestro trabajo el menor número de LPG en todos los músculos fue detectado en el animal sacrificado a los 20 dpi, posiblemente porque en ese día aún se encuentren larvas en la circulación (**CALERO** y **CARMONA, 1982**). Por el contrario, el mayor número de LPG fue observado en el animal que debido a su evolución clínica fue sacrificado a los 23 dpi. El número tan elevado de LPG obtenido en este animal nos hace pensar en una sensibilidad especial a los parásitos administrados, lo que dio lugar a una asentamimiento muscular muy elevado, con la lógica repercusión clínica tal y como ya fue comentado.

En todos los animales, a excepción del sacrificado el día 23 pi, el recuento LPG en los distintos músculos mostró que el grado de parasitación corresponde en orden decreciente a lengua, maseteros, diafragma, flexores-extensores, intercostales y músculo cardíaco.

Es un hecho muy significativo el hallazgo de larvas en el corazón de los animales necropsiados a partir del día 23 pi. No obstante, **WEATHERLY, 1983** comenta varios argumentos para explicar el no asentamiento de las larvas de *Trichinella* en miocardio. Sin embargo, **VAN KNAPEN** *et al.* **1987** también encontraron algunas larvas en el corazón de dos caballos infestados experimentalmente con *T.spiralis*. Esto nos hace pensar en un posible asentamiento de *Trichinella* en el miocardio, y que este músculo no sea sólo una zona de paso.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Con respecto al animal infestado y tratado con dexametasona(lote 5), la distribución fue muy similar al resto de animales infestados, siendo maseteros y lengua los músculos más afectados, seguidos de diafragma, flexores-extensores, intercostales y músculo cardiaco. La corticoterapia no produjo en este animal un mayor grado de parasitación, posiblemente debido a la baja dosis de dexametasona administrada, mostrando un comportamiento muy parecido al resto de animales infestados.

Aunque en cerdos y roedores (**LIZCANO HERRERA 1979**; **STEWART** y **CHARNIGA 1980**; **KOTULA** *et al.* **1984** y **SERRANO 1991**), el diafragma, seguido de lengua y maseteros son los músculos más parasitados, parece ser que en herbívoros este orden se altera. Así, **TOMAŠOVIČOVÁ** *et al.* **(1991)**, en ovejas, encuentran una mayor parasitación en maseteros seguidos de diafragma y lengua. En caballos, **POLIDORI** *et al.* **(1980)** apunta que en su estudio experimental la lengua es el músculo más afectado. También **SOULE** *et al.* **(1989)**, indican que maseteros y lengua seguidos de diafragma son los músculos más parasitados, coincidiendo completamente con nuestros resultados.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

RESUMEN

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

RESUMEN

Se realiza un estudio experimental de Trichinellosis en la cabra (*Capra hircus*). Para ello, a un total de 9 cabritos de dos meses de edad y un peso vivo medio de 10 Kg, se les administra 8000-10000 larvas por animal de *T.spiralis* enquistadas en músculo de ratón, procedentes de un aislado T1 denominado "LASO" y obtenido de cerdo doméstico.

Para el estudio de las diferentes fases de la parasitosis, las cabras infestadas se agrupan en tres lotes experimentales, sacrificándose los días 5, 7, 20, 23, 30, 45, 60 y 90 postinfestación.

Otro lote formado por dos animales es tratado previamente con dexametasona (0,1 mg/kg durante 4 días antes de la infestación), uno de estos animales es infestado y el otro utilizado como control, ambos se mantienen hasta los 90 dpi a fin de comprobar si existe aumento en la respuesta orgánica a esta parasitosis cuando hay una inmunodepresión.

Al mismo tiempo, un lote testigo compuesto por dos animales se mantiene en las mismas condiciones que el lote experimental.

El diseño de la experiencia comprende el estudio clínico y toma de muestras para la determinación de diversos parámetros clínicos y biopatológicos con una periodicidad diferente según la fase de la enfermedad que se estudia y el lote experimental de que se trate. Al mismo tiempo se realiza un estudio serológico para conocer la evolución de los anticuerpos anti-*Trichinella* mediante la técnica inmunoenzimática ELISA.

Igualmente y conforme se realiza la necropsia de los animales se toman muestras para el estudio histopatológico así como para el estudio del grado de parasitación muscular.

El estudio clínico y biopatológico muestra un proceso que cursa con una sintomatología caracterizada por diarrea, fiebre, taquicardia, taquipnea y anorexia. Durante algunas fases de la enfermedad se aprecian anemia, leucocitosis, eosinofilia, hipoalbuminemia, hiperß-globulinemia, descenso

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

del hierro sérico y aumentos de urea, LDH y fosfatasa alcalina.

Los resultados histopatológicos demuestran reacciones inflamatorias, correspondiendo las lesiones más importantes a intestino, hígado, riñón, tejido muscular esquelético y miocardio.

Con respecto a la ubicación de larvas de *Trichinella*, se demuestra que hay un buen asentamiento muscular en todos los animales infestados, siendo los músculos más parasitados lengua, maseteros y diafragma, seguidos de flexores-extensores, intercostales y músculo cardiaco.

Finalmente, la evolución de los niveles séricos de anticuerpos anti-*Trichinella* es detectada mediante la técnica ELISA, demostrándose aumentos de DO en el lote infestado a partir de los 16 dpi y manteniéndose hasta el final de la experiencia, por lo que esta técnica se muestra sensible para detectar con prontitud la seroconversión producida así como en el mantenimiento de altos valores de extinción durante prolongados periodos de tiempo.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

SUMMARY

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

SUMMARY

We have done an experimental study of Trichinellosis in goats (*Capra hircus*). In this way, 9 two months old kids of 10 Kilogrames of weigth were administered 8000-10000 larvas of mouse muscle with *T.spiralis* developed a cyst, from T1 isolated which is called "LASO" and got in domestic pig.

To study the different phases of the parasitosis, infected goats were grouped in three experimental lots and slaughtered at 5, 7, 20, 23, 30, 45, 60 and 90 days postinfestation.

Another lot of two animals was previously treated with dexamethasona (0,1 mg/Kg for 4 days before the infestation), one of these animals was infested and the other used as control, and both stayed till 90 dpi to show if there is an increase in the organic response to this parasitoses during inmunodepression.

At the same time, a control lot of two animals was set in the same conditions that the experimental lot.

Our research includes the clinic study and the analysis of different clinic and biopathologic parameters with a different periodicity according to the phase of the disease and the experimental lot studied. We have also applied a serologic study to know the evolution of anti-*Trichinella* antibodies by ELISA assay.

We also took some samples from the slaughtered animals for histhopathologic study and to measure the level of parasites in muscle.

Clinic and biopathologic sudy shows a desease caracterized by diarrhoea, fever, tachycardia, tachypnea and aorexia. In some phases of the disease is showed anemia, leukocytosis, eosinophilia, hypoalbuminemia, hyperßglobulinemia, decrease in the serum iron and urea, LDH and alkaline phosphatase increased.

Histhopathologic results show inflammatory reactions, the most

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

important lessions affecting to guts, liver, kidney, skeletal muscle and myocardium.

With regard to the location of the *Trichinella* larvas, it has been showed there are a good muscular settle in all the infested animals, being the more parasited muscles: tongue, masseters, diaphragm, flexor-extensors, intercostals and cardiac muscle.

Finally, seric levels of anti-*Trichinella* antibodies evolution was detected by ELISA assay showing some increases in DO of the infested lot since 16 dpi and remaining till the last of the study, so this test is enoughgly sensible to detect the seroconversion produced and the maintenance of high values for long.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

CONCLUSIONES

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

CONCLUSIONES

1.- La cabra (*Capra hircus*) en las condiciones de nuestra experiencia se comporta como una especie relativamente sensible a *T.spiralis*. Con la dosis empleada las manifestaciones clínicas son evidendes, llegándose a producir la muerte en uno de los animales.

2.- La sintomatología observada se caracteriza por diarrea, fiebre, taquicardia, taquipnea y sobre todo anorexia.

3.- El hemograma se caracteriza por anemia desde los primeros días postinfestación, leucocitosis durante las fases intestinal y muscular y eosinofilia a partir de los 20 dpi.

4.- Del estudio de la bioquímica sérica se desprende que uno de los parámetros más afectados es el hierro sérico, que sufrió una importante disminución durante la fase intestinal. Este descenso queda justificado por el daño intestinal o por el consumo que de él hacen las larvas antes de su ubicación muscular.

5.- Durante la fase muscular se produce elevación de LDH y fosfatasa alcalina como consecuencia del daño muscular y hepático. No se produce alteración en los niveles séricos de otras enzimas como CK, AST, ALT ó γ-GT.

6.- El cuadro lesional se caracteriza por una enteritis catarral descamativa, hipertrofia e hiperplasia de placas de Peyer. En el hígado se aprecia degeneración glucogénica y la existencia de pequeños granulomas. En el riñón encontramos glomerulonefritis membrano-proliferativa, degeneración tubular y nefritis intersticial. En el tejido muscular esquelético observamos una miositis granulomatosa y quistes parasitarios interfibrilares.

7.- En musculatura cardiaca evidenciamos miocarditis granulomatosa, detectándose larvas en todos los animales sacrificados a partir del día 23 pi, lo que hace suponer que las larvas de *Trichinella* se ubican en miocardio.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

8.- El recuento de larvas por gramo demuestra que existe un buen asentamiento muscular mostrando afinidad en orden decreciente por lengua, maseteros, diafragma, flexores-extensores, intercostales y miocardio.

9.- La técnica inmunoenzimática ELISA empleada para el estudio inmunológico de la infestación demuestra una elevada sensibilidad, demostrada por la prontitud en detectar la seroconversión producida en las cabras experimentalmente infestadas con *Trichinella* así como en el mantenimiento de esta capacidad durante prolongados periodos de tiempo.

10.- El animal tratado con dexametasona antes de la infestación muestra una sintomatología más intensa que el resto de animales infestados aunque no se evidencian diferencias significativas en los resultados biopatológicos e histopatológicos, así como tampoco en el grado de infestación muscular. En cuanto al estudio inmunológico hallamos algunas diferencias con respecto al grupo no tratado, ya que en ningún momento se alcanzan los niveles de extinción obtenidos en los no tratados y en este animal observamos un descenso en los niveles de anticuerpos durante el segundo mes postinfestación, hecho que no se observa en el resto del colectivo experimental infestado.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

BIBLIOGRAFIA

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

AHMED, B.A., FAYEK, S.A., AMER, O.H. (1985). Trichinellosis in wild wolves (*canis lupus*) and experimental transmission to white rats (*Rattus rattus albinus*). *Veterinary Medical Journal*, **33** (3), 89-94.

BASTEN, A. y BEESON, P.B. (1970). Mechanisms of eosinophilia. II. Role of the lynphocyte. *J. Exp. Med.*, **131**, 1288-1304.

BECK, J.W. (1970). Trichinosis in domesticated and experimental animal. *In Trichinellosis in Man and Animals. (Ed. Gould, S.E.).* Charles C. Thomas. Springfield. Illinois. USA, 61-80.

BESSOUDO,R., MARRIE, T.J. y SMITH, E. (1981). Cardiac involvement in trichinosis. *Chest*, **79** (6), 698-699.

BIAGI, G., BAGLIACCA, M., LETO, A. y LIPONI, G. (1987). La concentrazione sierica di alcuni elettroliti in capre di razza Saanen. Variazioni rispetto al numero delle lattazioni ed al periodo stagionale. *Selezione Vet. XXVIII*, 1499-1511.

BLOTNA-FILIPIAK, M., GABRIEL, P., GUTOWSKA, L. y GUMPER, J. (1980). The reaction of mouse muscle cells during simultaneous *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* infection. *Acta Medica Polona*, **21**, 4.

BOCZOŃ, K. (1988). Biochemical tests in the evaluation of human trichinellosis. *Wiadomosci Parazytologiczne*, **34** (4-6), 631-635.

BOGIN, E., SHIMSHONY, A., AVIDAR, Y. y ISRAELI, B. (1981). Enzymes, Metabolites and electrolytes levels in the blood of local Israeli goats. *Zbl. Vet. Med. A*, **28**, 135-140.

BORGES, M., DE NOLLIN, S. y THONÉ, F. (1975). The development of alkaline phosphatase in trichinous muscle. *Histochemistry*, **43**, 257-267.

BORON, P. y KLIMOVIC, J.(1974). Dinamics of protein alterations and leukogram during trichinosis. *Acta Parasitologica Lituanica*, **12**, 145-148.

BOURÉE, P. (1980). La trichinose, *Encycl. Méd. Chir.* Paris, Maladies infectieuses, 8115 A 10, 3.

BOURÉE, P. y BADJANG, B. (1989). Biological survey in first stage of experimental trichinellosis in rat. *In Trichinellosis. (Ed. E. Tanner)*, 299-303.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

BOURNERIAS, I., DANIS, M., NOZAIS, J.P., GAY, F., ROSENHEIM, M., DUFLO, B. y GENTILINI, M. (1986). Cutaneous signs of trichinosis-on the 1985 epidemic. *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie*, **113** (11) 1139-1144.

BRUCE, R.G. (1974). Ocurrence of hypodermal gland cells in the bacillary band of *Trichinella spiralis* during two phases of its life cycle. *In Trichinellosis. (Ed. Kim, C.W.)*, 43-48.

BRUSCHI, F., SOLFANELLI, S., ALESSANDRONI, P., POZIO, E y GIUNTINI, C. (1989). A lung perfusion study in *Trichinella spiralis* infected monkeys. *Proceedings of the Seventh International Conference on Trichinellosis. (Ed. Tanner, C.E., Martínez-Fernández, A.R. y Bolas-Fernández, F.)* C.S.I.C. Press, 293-298.

BUSTO. (1862). El triquinismo. *España Médica*, **7**, 293-5.

CABAJ, W., PRZYJALKOWSKIZ, Z. (1979). Studies of experimental trichinellosis in germfree and conventional mice. *Folia Microbiologica*, **24** (1), 109-133.

CALERO CARRETERO, R. y CARMONA CARMONA, E. (1982). Comportamiento en el laboratorio de una cepa de *Trichinella spiralis*. *Revista Ibérica de Parasitología*. **V. extra**, 251-262.

CAMPBELL, W.C.(Ed.) (1983). *Trichinella* and trichinosis. Ed. Plenum Press. New York. USA.

CAPO, V., DESPOMMIER, D.D., y SILBERSTEIN, D.S. (1984). The site of ecdysis of the L1 larva of *Trichinella spiralis*. *Journal of Parasitology*, **70** (6), 992-994.

CARNERI, I., ANCELLE, T., DUPOUY-CAMET, J. y POZIO, E. (1989). Different aetiological agents cause the european outbreaks of horsemeat induced human trichinellosis. *In Trichinellosis (Ed. C. E. Tanner, A. R. Martínez Fernández & F. Bolas-Fernández)* C.S.I.C. Press, Madrid, Spain, 387-391.

CARNERI, I. y MATTEO, L. (1988). The new trichinelloses in Italy. *Giornale di Malattie Infettive e Parassitarie*, **40** (9), 948-954.

CASTRO, G.A. (1974). Proposed mechanism to explain reduced intestinal disaccharidase activity in trichinosis. *(Abstract). In Third Int. Congr. of Parasitology. Munich. August. Proceeding 3, Facta Publication*, 1549-1550.

CASTRO, G.A. (1982). Gastrointestinal physiology: environmental factors influencing

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

infection and pathogenicity. *Procs. Workshop. Sept. 1981. Auburn. Alabama.* USA, 1-21.

CASTRO, G.A., BADIAL-ACEVES, F., SMITH, J.W., DUDRICK, S.J., y WEISBRODT, N.W. (1976 a). Altered small bowell propulsion associated with parasitism. *Gastroenterology*, **71** (4), 620-625.

CASTRO, G.A. y BULLICK, G.R. (1983). Pathophysiology of the gastrointestinal phase. *In Trichinella and trichinosis. (Ed. Campbell W.C.).* Plenum Press. New York. USA, 209-239.

CASTRO, G.A., COPELAND, E.M., DUDRICK, S.J. y RAMASWAMY, K.(1979 a). Enteral and parenterel feeding to evaluate malabsorption in intestinal parasitism. *Am. J. of Trop. Med. and Hyg.*, **28** (3), 500-507.

CASTRO, A., DHINDSA, D. S., HOVERSLAND, A. S., MALKUS, H., ROSENTHIEL, C. y METCALFE, J. (1977). Serum electrolytes in normal pygmy goats. *Am. J. Vet. Res*, **38** (5), 663-664.

CASTRO, A., DHINDSA, D. S., HOVERSLAND, A. S., MALKUS, H., ROSENTHIEL, C. y METCALFE, J. (1977). Serum biochemistry values in normal pygmy goats. *Am. J. Vet. Res*, **38** (12), 2085-2087.

CATTY, D. (1969). The immunology of nematode infections: Trichinosis in guinea pigs as a model. *In Monographs in Allergy, (Ed. Kallos, P., Hasek, M., Inderbitzin, T.M., Miescher, P.A., y Waksman, B.K.).* S. Karger, Basel, **5**, 1-134.

CHODERA, L. y PAWLOWSKI, Z. (1974). Electrocardiografic changes in trichinellosis. Experimental studies in rabbits. *In Trichinellosis. (Ed. Kim. C.W.)*, 413-420.

COLES, E. H. (1986). Diagnóstico y patología en veterinaria. W.B. Saunders Company. México.

DENHAM, D. A. y MARTINEZ, A. R. (1970). Studies with methyridine and *Trichinella spiralis*. 2. The use of the drug to study the rate of larval production in mice. *J. of Helminthology*, **44**, 357-363.

DESPOMMIER, D. D. (1975). Adaptive changes in muscle fibers infected with *Trichinella spiralis*. *Am. J. Pathol.*, **78**, 477-496.

DESPOMMIER, D. D., (1983). Biology. *In Trichinella and Trichinosis. (Ed. Campbell*

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

W.C.). Plenum Press. New York. USA, 75-151.

DESPOMMIER, D. D., SUKHDEO, M. y MEEROVITCH, E. (1978). *Trichinella spiralis*: site selection by the larva during the enteral phase of infection in mice. *Experimental Parasitology*, **44** (2), 209-215.

DESPOMMIER,D. D., WEISBROTH, S. y FASS, C., (1974). Circulating eosinophils and trichinosis in the rat: The parasitic stage responsible for induction during infection. *J. of Parasitology*, **60** (2), 280-284.

DRACHMAN, D. A. y TUNCHAY, T. D. (1965). The remote pathology of trichinosis. *Neurology*, **15**, 1127-1135.

DUNN, I. J., y WRIGHT, K. A. (1985). Cell injury caused by *Trichinella spiralis* in the mucosal epithelium of B 10A mice. *J. of Parasitology*, **71** (6), 757-766.

DURAN, M. L. S., LEIRO, J., SANTAMARINA, M. T., UBEIRA, F. M. y ORALLO, F. (1988). The effect of intestinal trichinellosis on the acetylcholine-induced contractions of isolated duodenum of mice. *Medical Science Research*, **16** (9), 461-462.

EDJTEHADI, M. (1978). Age-associated changes in the blood picture of the goat. *Zbl. Vet. Med. A*, **25**, 198-206.

EVRANOVA, E. V. y EVRANOVA, G. B. (1974). Histochemical studies in experimental trichinellosis. *(Abstract) In Thrird. Int. Cong. of Parasitology Munich. August. Proceeding 3, Facta Publication*, 173-175.

FARRIS, K. N., y HARLEY, J. P. (1977). *Trichinella spiralis*: alteration of gastrocnemius muscle kinetics in the mouse. *Experimental Parasitology*, **41** (1), 17-30.

FAUBERT, G. y TANNER, Ch. E. (1974). Enlargement of lymph nodes during infection with *Trichinella spiralis*: a preliminary histologycal study. *In Trichinellosis. (Ed. Kim., C.W.)*, 353-366.

FERNANDEZ DEL PALACIO, M. J. (1987). Hematología clínica, perfil metabólico, minerales y oligoelementos séricos de las razas caprinas autóctonas españolas. *An. Vet. (Murcia)*, **2**, 121-133.

FERNANDEZ DEL PALACIO, M. J., MONTES, A. M., GUTIERREZ PANIZO, C., BAYON, A., BERNAL, L. J. y SOTILLO, J. (1990-91). Parámetros bioquímicos sanguíneos en machos caprinos de raza murciano-granadina. *An. Vet. (Murcia)*, **6-7**, 3-7.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

FOLDES, J. (1953). Acute trichinosis with finding of larva in bone marrow. *Am. J. Clin. Pathol.*, **23**, 918-920.

FRAYHA, R. A. (1981). Trichinosis-related polyarteritis nodosa. *Am. J. Medicine*, **71** (2), 307-312.

FRÖSCHER, W., GULLOTA, F. y SAATHOFF, M. (1982). Chronische trichinose und neuromuskuläre erkrankungen. Klinische, serologische und therapeutische erfahrungen. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, **107** (38), 1432-1437.

FRÖSCHER, W., GULLOTA, F., SAATHOFF, M. y TACKMANN, W. (1988). Chronic trichinosis: clinical, bioptic, serological and electromyographic observations. *European Neurology*, **28** (4), 221-226.

GABRYEL, P. y GUTOWSKA, L. (1967). Veränderungen der quergestreiften muskelfasern im frühen stadium einer *Trichinella spiralis*-infektion. *Sonderabdruck aus Morphologisches Jahrburch*, **111** (2), 174-180.

GABRYEL, P. y GUSTOWSKA, L. (1970). Trichinellous basophilia of the muscle fibre. *Acta Parasitologica Polonica*, **18** (1), 1-6.

GABRYEL, P., GUTOWSKA, L., BLOTNA, M., KASPRZAK, K., y RADOLA, P. (1969). Pathomorphology of muscular trichinellosis in comparative histological, histochemical, ultrastructural, autoradiographic and immunofluorescent investigations. *W. Parazytologiczne*, **15** (5-6), 655-657.

GABRYEL, P., GUTOWSKA, L., BLOTNA-FILIPIAH, M y RAUHUT, W.(1978). Pathomorphology of mouse muscle tissue during *Trichinella pseudospiralis* infection. (Light and electronmicroscopic observations. *In Trichinellosis. (Ed. Kim, C.W. y Pawlowski, Z.S.)*, 282-294.

GABRYEL, P., GUSTOWSKA, L., BLOTNA-FILIPIAK, N. y ZEROMSKI, J., (1981 a). Organ reactions in *Trichinella pseudospiralis* infection in mice. *In Trichinellosis. (Ed. Kim, C.W., Ruitenberg, E.J. y Teppema, J.S.)*, 225-229.

GABRYEL, P., GUTOWSKA, L., RAUHUT, W. y BLOTNA-FILIPIAK, M. (1981 b). Double infection of mice with *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* larvae (muscle phase). *In Trichinellosis. (Ed. Kim, C.W., Ruitenberg, E.J. y Teppema J.S.)*, 231-235.

GAMBLE, H. R., ANDERSON, W. R., GRAHAM, C. E. y MURRELL, K. D.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

(1983). Diagnosis of swine trichinosis by enzyme-linked inmunosorbent assay (ELISA) using and excretory-secretory antigen. *Veterinary Parasitology*, 13, 349-361.

GAMBLE, H. y MURRELL, K. D. (1987). Swine trichinellosis: diagnosis and control. *Agripractice*, January, 12-15.

GARDINER, C. H. (1976). Habitat and reproductive behavior of *Trichinella spiralis*. *J. of Parasitology*, 62 (6), 865-870.

GAZQUEZ, A. (1988). La técnica de necropsia en los animales domesticos. Ed. Interamericana. Madrid.

GENTILINI, M., VERNES, A., GENTILINI, J. L., RICHARD-LENOBLE, D., BOURÉE, P. y WATTEZ, A. (1976). Estude enzymatique et sérologique de la trichinose humaine a propos d'une récente épidémie de la banlieue sud de Paris. *Bulletin de la Societé de Pathologie Exotique*, 69 (6), 525-531.

GEORGIEVA, D. y KAMENOV, I., (1980). Biochemical research of invasion with *T.spiralis*. I. Studies on the activity of LDH, AF and their isoenzimes in guinea pigs invaded by *T.spiralis*. *Nauchni Trudove*, 27 (2), 141-149.

GEVREY, J. (1989). Ovine trichinellosis: Potential epidemiological role of the dog. *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, 7 (1), 47-54.

GILBERT, A. y CARNOT, P. (1920). Nouveau traité de Médicine et de Thérapeutique. IV. Maladies parasitaires. 6 éme edic. Editeurs J. Bailliere et fils, 527.

GOMEZ CEREZO, J., CRUZ MARTINEZ, A., COBO, J., FERRER, M. T., MOLINA, F., MEDRAÑO, F. y PEREZ CONDE, M. (1989). Correlation between electromyographic alterations and myopathic enzymatic derrangements in human trichinellosis. *In Trichinellosis, (Ed. C.E. Tanner)*, C.S.I.C., 323-328.

GOULD, S. E. (1945). Trichinosis. (Ed. Thomas, Charles C.). Springfield. Illinois. USA, 358.

GOULD, S. E. (1952). Trichinosis. (Ed. Pueyo J.). Madrid.

GOULD, S. E. (1970 a). Clinical manifestations, A. Syntomatology. *In Trichinosis in Man and Animals. (Ed. Gould, S. E)*. Charles C. Thomas. Springfield. Illinois USA, 269-306.

GOULD, S. E. (1970 b). Anatomic pathology. *In Trichinosis in Man and Animals. (Ed.*

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Gould,S.E.) Charles C. Thomas. Springfield. Illinois. USA, 147-189.

GOULD, S. E. (1971). The story of trichinosis: Ward Burdick Award address. *Am. J. Clin. Pathol.* **55**, 2-11.

GRETILLAT, S. (1985). *Trichinella spiralis* in horses fattened for human consumption. *Bulletin Mensuel de la Société Vétérinaire Practique de France*, **69** (10), 653-654.

GRETILLAT, S. y BASSILIADES, G.(1968). La trichinose expérimentale du singe. *Bulletin de la Societé de Pathologie Exotique*, **61** (2), 246-251.

GROVE, D. I., HAMBURGER, J. y WARREN, K. S. (1977 a). Kinetics of immunological responses, resistance to reinfection, and pathological reactions to infection with *Trichinella spiralis*. *J. Infect. Diseases*, **136**, 562-570.

GROVE, D. I., MAHMOUD, A. A. F. y WARREN, K. S. (1977 b). Eosinophils and resistance to *Trichinella spiralis*. *J. of Experimental Medicine*, **145** (3), 755-759.

GURSH, O. F. (1949). Intestinal phase of *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) Raillet, 1895. *J. of Parasitology*, **35**, 19-26.

GUTOWSKA, L., GABRYEL, P. y BLOTNA-FILIPIAK, M. (1969). Striated muscle fibre in trichinosis. *Folia Histochemica et Cytochemica*, **7** (1), 77-92.

GUTOWSKA, L., GABRYEL, L., BLOTNA-FILIPIAK, M. y RAUHUT, W. (1980). Patomorphology of rat muscle tissue during *Trichinella pseudospiralis* infection. *W. Parazytologiczne*, **26** (6), 621-628.

HARLEY, J. P. y GALLICCHICO, V. (1971). *Trichinella spiralis*: migration of larvae in the rat. *Exp. Parasitol.*, 30, 11-12.

HENRIKSEN, S. A. (1981). Observations on the predilection sites of *Trichinella spiralis* larvae in experimentally infected rabbits. *In Trichinellosis. (Ed. Kim, C.W., Ruitenberg E.J. y Teppema J.S.)*, 183-186.

HERBST, M. (1851). Experiments on the transmission of intestinal worms. *Q. J. Microsc. Sci.*, 1, 209-211.

HERRERO ALONSO, C. (1975). La triquinosis inducida en la rata blanca: estudio humoral y citológico. Tesis doctoral. Madrid.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

HILTON, J. (1833). Notes of a peculiar appearance observed in human muscle, probably depending upon the formation of very small cysticerci. *London Med. Gaz.*, 11, 605.

HUMES, A. G. y AKERS, R. P. (1952). Vascular changes in the cheek pouch of the golden hamster during infection with *Trichinella spiralis* larvae. *Anat. Rec.*, **114**, 103-111.

HUN, E. R. (1869). *Trichina spiralis*. Trans. N. Y. State Med. Soc., 1869, 157-172.

ISMAIL, M. N. y TANNER, C. E. (1972). *Trichinella spiralis*: peripheral blood, intestinal and bone-marrow eosinophilia in rats and its relationship to the inoculating dose of larvae, antibody response and parasitism. *Exp.Parasitol.*, **31**, 262-272.

JERONIMO ESTEVEZ, J. (1986). Triquinosis: control y lucha. Federación de Colegios de Veterinarios de Andalucía.

KANEKO, J. J. (1980). Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press. London. U.K.

KARMANSKA, K. (1981). The eosinophils in experimental trichinellosis in mice. *In Trichinellosis. (Ed. Kim C.W., Ruitenberg E.J. y Teppema J.S.)*, 101-103.

KASSUR, B., JANUSZKIEWICZ, J. y POZNANSKA, M. (1981). Controversial aspects in human trichinellosis. *In Trichinellosis. (Ed. Kim. C.W., Ruitenberg, E.J. y Teppema, J.S.)*, 245-247.

KAZURA, J. W. (1982). Inmunology of *Trichinella spiralis* infection. *In Inmunology of Parasitic infections. (Ed. Cohen, S., Warren, K.S.)* Oxford U.K., 654-675.

KOCIECKA, W. (1981 a). Clinical picture of trichinellosis as related to the species and strain of *Trichinella* and to the intensity of invasion. I. Clinical study. *W. Parazytologiczne*, **27** (3), 441-442.

KOCIECKA, W. (1981 b). Clinical picture of trichinellosis as related to the species and strain of *Trichinella* and to the intensity ofinvasion. II. Experimental study. *W. Parazytologiczne*, **27** (3), 481-482.

KOCIECKA, W. y VAN KNAPEN, F. (1978). Experimental *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* trichinellosis in monkeys. *In 4th Int. Congr.of Parasit. Warsaw. Short Communication. Section C.*, 147.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

KOCIECKA, W., VAN KNAPEN, F., RUITENBERG, E. J., GELEIJNSE, M. E. M. y TERLINGEN, J. B. A., (1981). *Trichinella pseudospiralis* and *Trichinella spiralis* infections in monkeys. II. Clinical aspects. *In Trichinellosis. (Ed. Kim C.W., Ruitenberg E.J. y Teppema J.S.)*, 205-208.

KOTULA, A. W., MURREL, K. D., ACOSTA-STEIN, L. y LAMB, L.(1984). Distribution of *Trichinella spiralis* larvae in selected muscles and organs of experimentally infected swine. *Journal of Animal Science*, **58** (1), 94-98.

KRAMER, M. D. y AITA, J. F. (1988). Trichinosis. Handbook of Clinical Neurology. **8** (52), 563-579.

KRAMER, J. W. y CARTHEW, G. C. (1985). Serum and tissue enzyme profiles of goats. *New. Zel. Vet. J*, **33**, 91-93.

KUCINSKAS, E. (1976). Investigation of morphological picture in blood of pigs in experimental trichinellosis (in piplets). *In Materialy dokladov K II-oi vsesoyuznoi Konf. po probleme trikhinelleza cheloveka i zhivotnykh* (27-28 Maya, 1976) Vilnius USSR, 131-141.

LARSH, J. E. (1968). Experimental trichiniasis. *Advances in Parasitology*, 1, 213-288.

LARSH, J. E. y RACE, G. J. (1975). Allergic inflammation as a hypotesis for the expulsion of worms from tissues: A review. *Exp. Parasitology*, **37**, 251-266.

LAVIN, S., ELIAS, M., CALLIS, M., ESPADA, Y., MONREAL, L. y VIÑAS, L. (1989). Determinación de parámetros bioquímicos sanguíneos en la cabra. Variaciones según la edad. *Veterinaria en Praxis*, **4** (3), 95-97.

LEHMENSICK, R. (1970). Inspection of pork and control of trichinosis in Germany. *In Trichinosis in Man and Animals. (Ed. Gould. S.E.)*. Charles Thomas. Springfield. *Illinois. USA*, 437-448.

LE MERCIER, Y. THIEBOT, M., THERIZOL-FERLY, M., LEVY, R. y DORRA, M. (1977). Complications cardio-vasculaires de la trichinose. *La Nouvelle Presse Médicale*, **6** (42), 3981-3982.

LEUCKART, R., (1860). On the mature condition of *Trichina spiralis*. *Q. J. Microscop. Sci.*, **8**, 168-171.

LIN, T. M. y OLSON, L. J. (1974). Blood eosinophilia induced by the intestinal stages

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

of *Trichinella spiralis* in inmunized animals. *In Trichinellosis. (Ed. Kim. C.W.)*, 165-174.

LIZCANO HERRERA, J. (1979). Estudio sobre preferente localización de larvas de *Trichinella spiralis* (OWEN, 1835) en los músculos del cerdo (*Sus scrofa domestica*). *Rev. Ibérica de Parasitología*, **39** (1-4), 233-240.

LJUNGSTRÖM, I. (1974). Antibody response to *Trichinella spiralis*. *In Trichinellosis. (Ed. Kim, C.W.)*, 449-460.

LJUNGSTRÖM, I. (1983). Immunodiagnosis in man. *In Trichinella and Trichinosis. (Ed. Campbell, W.C)*. Plenum Press. New York. USA, 403-424.

LJUNGSTRÖM, I., ENGVALL, E. y RUITENBERG, E. J. (1974). ELISA- enzyme linked immuno sorbent assay - in serodiagnosis of *Trichinella spiralis* infection. (Abstract). *In Thrid Int. Congr.of Parasitology. Munich August. Proceeding 3, Facta Publication*, 1204-1205.

LJUNGSTRÖM, I., HAMMARSTRÖM, L., KOCIECKA, W. y SMITH, C. I. E. (1989). The response of IgG subclasses and IgE during early and late stages of human *Trichinella spiralis* infections. *In Trichinellosis (Ed. C.E. Tanner, A. R. Martínez Fernández y F. Bolas-Fernández)* C.S.I.C. Press, Madrid, Spain, 210-217.

MANSON-SMITH, D. F., BRUCE, R. G. y PARROT, D. M. V. (1978). The response of the small intestine to infection with *Trichinella spiralis*. *Parasitology*, **77** (3), 36.

MARTINEZ GOMEZ, F., MORENO, T., HERNANDEZ, S., y CALERO, R. (1985). Canine trichinellosis. Haematological changes during the infection. *W.Parazytologiczne*, **31** (3), 283-287.

MIKHAIL, E. G.; MILAND, M.; SABET, S. y ABDALLAH, A. (1978). Experimental trichinosis. I. A pathological study of hepatic, renal and gonadal involvement. *J. Egypt. Public Health Assoc.*, **53**, 327-340.

MORENO, T., MARTINEZ-GOMEZ, F., CALERO, R., y HERNANDEZ, S.(1985). Canine trichinellosis: glucosa, urea and total proteins values. *W. Parazytologiczne*, **31** (3), 279-282.

MURILLO VELARDE, M., BUREO DACAL, J. C., GONZALEZ DORREGO F. y REMON CAMACHO, J. (1983). Determinación de las enzimas aldolasa, CPK, junto con otros parámetros en una helmintiasis tisular por *Trichinella spiralis*. *Analisis clínicos*, **8** (31), 119-122.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

NAVARRETE, I., CALERO, R., REINA, D. y SERRANO, F.J. (1991). Programa de acciones contra la trichinellosis. Ed. Servicio Publicaciones Univ. Extremadura.

NEGME, S. (1960). Zenker y el descubrimiento de la triquinosis. *Bol. Chileno de Parasitología*, **15** (4), 84.

NGWENYA, B. Z. y CAPACI, B. L. (1984). Reticulocytopenia in trichinellosis. *J. of Parasitology*, **70** (1), 175-177.

OWEN, R. (1835). Description of a microscopic entozoon infesting the muscles of the human body. *Trans. zool. Soc. London*, **1**, 315-323.

PAMBUCCIAN, G. y CIRONEAU, I. (1961). Observations on experimental trichinellosis in white rats: A pathological and clinical study. *Rum. Med. Rev.*, **6**, 8-13.

PAMPIGLIONE, S., BALDELLI, R., CORSINI, C., MARI, S. y MANTOVANI, A. (1978). Infezione sperimentale del cavallo con larvae di trichina. *Parasitologia*, **20**, (1,2,3), 183-193.

PARKER, R. B.y CARDINET, G. H. (1984). Myotendinous rupture of the calcanean (achilles) mechanism associated with parasitic myositis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, **20** (1), 115-118.

PARRAVICINI, M., GRAMPA, A., SALMINI, G., PARRAVICINI, U., DIETZ, A. y MONTANARI, M. (1986). An epidemicof trichinosis from horse meat. *Giornale di Malattie Infettive e Parassitarie*, **38** (5), 482-487.

PAWLOWSKI, Z.S.(1983). Clinical aspects in man. *In Trichinella and trichinosis.(Ed. Campbell, W.C.)*. Plenum Press. New York. USA, 367-401.

PEREZ, E., SERRANO, F. J., REINA, D. y NAVARRETE, I. (1992). Distribución de larvas musculares de *Trichinella spiralis* en cerdos ibéricos con baja tasa de parasitación. *Actas de IX Reunión Anual de la Asoc. de Parasitol. Españoles*. León, España, 50.

PINCUS, S. H., CAMMARATA, P. V., DELIMA, M. y DESPOMMIER, D. (1986). Eosinophilia in murine trichinellosis. *Journal of Parasitology*, **72** (2), 321-325.

POLIDORI, G. A., GRAMENZI, F., PIERGILLI FIORETTI, D., FERRI, N., RANUCCI, S., MORETTI, A., SCACCHIA, M., BELLELLI, C. y BALDELLI, B. (1989). Experimental trichinellosis in horses. *In Trichinellosis (Ed. C. E. Tanner, A. R. Martínez Fernández & Bolas-Fernández)* C.S.I.C. Press, Madrid, Spain, 268-274.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

POZIO, E., LA ROSA, G. y ROSSI, P. (1989 a). Trichinella reference centre. *Parasitology Today*, **5** (6), 169-170.

POZIO, E., LA ROSA, G., ROSSI, P. y MURRELL, K.D. (1989 b). New taxonomic contribution to the genus *Trichinella* (Owen, 1835). I. Biochemical identification of seven clusters by gene-enzyme sustems. *In Trichinellosis (Ed. C.E. Tanner, A.R. Martínez Fernández & Bolas-Fernández)* C.S.I.C. Press, Madrid, Spain, 76-82.

PROKOPOWICZ, D. y TRIPPNER, M.(1983). Einige indices der organreaktivität in der experimentellen trichinellose. I. Granulozytäre reaktionen im verlauf der trichinellose beim kaninchen. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt Orig.*, A **225**, 554-559.

PRZYJALKOWSKI, Z. y CABAJ, W. (1978 a). Some hematological and serological indicators in young conventional and germ-freemice of different strains experimentally infected with *Trichinella spiralis*. *Acta Parasitologica Polonica*, **26** (11), 93-103.

PRZYJALKOWSKI, Z. y CABAJ. W. (1981). Host reponse of germfree and conventional mice to single or mixed infection with *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis*. I. Parasitological and haematological investigations. *Bulletin de L'académie Polonaise des Sciences*. II, **29** (1), 51-59.

PRZYJALKOWSKI, Z., KONTNY, E. y CABAJ, W.(1980). Haematological changes evoked by *Trichinella spiralis* as an index of the course of trichinellosis in germfree and conventional Mice. *Bulletin de L'académie Polonaise des Sciences*. II, **28** (1-2), 87-93.

PRZYJALKOWSKI, Z. y MALINOWSKA, A. (1977). Studies on some metabolites and enzymes of carbohydrate metabolism in liver and small intestine of germfree or conventional mice in the course of experimental trichinellosis. *Acta Parasitologica Polonica*, **25** (8), 67-77.

PRZYJALKOWSKI, Z. y PYKALO, R. (1988). Histopathological changes in the course of single and mixed *Trichinella spiralis* and *T. pseudospiralis* infections in germfree and conventional mice. *Acta Parasitológica Polónica*, **33** (1), 59-69.

PRZYJALKOWSKI, Z. y STARZENSKA, A. (1985 a). Preliminary studies on the serum proteins of germfree and conventional mice infected with *Trichinella pseudospiralis* only or simultaneously with *T. spiralis*. *Acta Parasitologica Polonica*, **30** (8), 63-71.

PURKENSON, M. y DESPOMMIER, D. D. (1974). Fine structure of the muscle phase of *Trichinella spiralis* in the mouse. *In Trichinellosis. (Ed. Kim, C.W.)*, 7-23.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

RACE, G. J., LARSH, J. E., MARTIN, J. H. y WEATHERLY, N. F. (1974). Light and electron microscopy of the intestinal tissue of mice parasitized by *Trichinella spiralis. In Trichinellosis. (Ed.Kim, W.C.),* 75-93.

RACE, G. J., LARSH, J. E., MARTIN, J. H., WEATHERLY, N. F. y GOULSON, H. T. (1978). Histopathologic observations of mice after expulsion of *Trichinella spiralis. In Trichinellosis. (Ed. Kim, W.C. y Pawlowski, Z.S.),* 239-261.

RAPIC, D. (1980). Imunoenzimski test (ELISA) u dijagnostici eksperimentalne i prirodne trihineloze svinja. *Acta Parasitologica Iugoslavica,* **11** (1-2), 49-57.

RAVIART, I., BEZILLE, P., BRAUN, J. P., THOUVENOT, J. P., BURGAT, V. y RICO, A. G. (1987). Profils biochimiques plasmatiques des chevreaux nouveau-nés et des mères dans la période péri-partum. *Rec. Méd. Vét,* **163** (5), 547-553.

READ, C. P. (1970). Chemical pathology of trichinosis. *In Trichinosis in Man and Animals. (Ed. Gould, S.E.)* Charles C. Thomas. Springfield. Illinois. USA, 91-101.

REINA, D. (1987). Triquinelosis experimental canina. Tesis Doctoral, Universidad de Extremadura.

REINA, D., HABELA, M., NAVARRETE, I. y MARTINEZ-GOMEZ, F. (1989 c). Hypoglycaemia in Experimental Canine Trichinellosis. *Veterinary Parasitology,* **30**, 289-296.

REINA, D., HABELA, M., NAVARRETE, I. y NIETO, C.G. (1989 b). Experimental canine trichinellosis: plasmatic proteins alterations. *In Trichinellosis. (Ed. E. Tanner),* 281-286.

REINA, D., HABELA, M., NAVARRETE, I. y SERRANO, F. (1988). Triquinelosis experimental canina: I. Síntomas. *Rev. Ibér. Parasitol.* **48** (4), 403-409.

REINA, D., HABELA, M., NAVARRETE, I. y SERRANO, F. (1988). Canine experimental trichinellosis: Morphofunctional changes in the skeletal muscle. *Proceedings of the V° European Multicolloquium of Parasitology.* Budapest, Hungary, 154.

REINA, D., HABELA, M., NAVARRETE, I. SERRANO, F.J. y PEREZ, E. (1990). Kidney morphofunctional alterations in the experimental canine trichinellosis. *Proceeding of VII International Congress of Parasitology.* París, France, 366.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

REINA, D., HABELA, M., PEREZ-MARTIN, E. y SERRANO, F. (1992 a). Experimental canine trichinellosis: morphological alterations in small intestine. *Proceeding of the VI° European Multicolloquium of Parasitology.* The Hagne, The Netherlands, 174.

REINA, D., HABELA, M., SERRANO, F., NIETO, C.G. y PEREZ-MARTIN, E. (1989 a). Estudio hematològico en la triquinelosis experimental canina. *VI Congreso Nacional y I Congreso Ibérico de Parasitología.* Cáceres, 313.

REINA, D., HABELA, M., SERRANO, F., PEREZ-MARTIN, E. y BREÑA, M. (1992 b). Liver morphofunctional alterations in the experimental canine trichinellosis. *Proceedings of the VI° European Multicolloquium of Parasitology.* The Hagne, The Netherlands, 175.

REINHARD, E. G. (1958). Landmarks of parasitology. II. Demostration of the life cycle and pathogenicity of the spiral threadworm. *Exp. Parasitol.*, **7**, 108-123.

REMIG, J. y FRÖSCHER, W. (1987). Acute trichinosis. Observations of 193 patients in an epidemic. *Deutsche Medizinische wochenschrift.* **112** (48), 1855-1859.

RENIER, J. F., GOEAU-BRISSONNIERE, O., VERCKEN, J. B., TAVAKOLI, R., CERVENS, T., LESUR, G., RAPHAEL, J. C. y PATEL, J. C. (1990). Necrotising enteritis: a rare complication of trichinosis. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, **14** (4), 408-409.

RICHARDSON, J. A. y OLSON, L. J. (1974). Murine trichinellosis: changes in glucose absorption and intestinal morphology. *In Trichinellosis. (Ed. Kim, W.C.)*, 61-73.

RIDOUX, R., SILIALRT, B. y ANDRÉ, F. (1981). Paramètres biochimiques de la chèvre laitière. I - Détermination de quelques valeurs de référence. *Rec. Méd. Vét*, **157** (4), 357-361.

ROGERS, W. P. (1942). The metabolism of trichinosed rats during the intermediate phase of the disease. *J. of Helminthology*, **20**, 139-158.

RUITENBERG, E. J. y ELGERSMA, A. (1980 a). Study on the kinetics of globule leucocytes in the intestinal epithelium of rats after single or double infection with *Trichinella spiralis*. *British J. of Exper. Pathology*, **61** (3), 285-290.

RUITENBERG, E. J., ELGERSMA, A. y KRUIZINGA, W. (1979). Intestinal mast cells and globule leucocytes: role of the thymus on their presence and proliferation during a *Trichinella spiralis* infection in the rat. *International Archives of Allergy and Applied*

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Inmunology, **60** (3), 302-309.

RUITENBERG, E. J., PERRUDET-BADOUX, A., BOUSSAC-ARON, Y. y ELGERSMA, A. (1980 b). *Trichinella spiralis* infection in animals genetically selected for hight and low antibody production. Studies on Intestinal Pathology. *International Archives of Allergy and Applied Inmunology*, **62**, 104-110.

RUITENBERG, E.J., STEERENBERG, P.A., BROSI, B.J.M. y BUYS, J. (1974). Serodiagnosis of *Trichinella spiralis* infections in pigs by enzyme-linked immunosorbent assay. *Bull Org. Mond. Santé*, **51**, 108-109.

RUITENBERG, E. J., STEERENBERG, P. A., BROSI, B. J. M. y BUYS, J. (1976). Reliability of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of *Trichinella spiralis* infections in conventionally raised pigs. *J. of Immunological Methods*, **10** (1), 67-83.

RUITENBERG, E. J. y VAN KNAPEN, F. (1977 b). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as a diagnostic method for *Trichinella spiralis* infections in pigs. *Veterinary Parasitology*, **3** (4), 317-326.

RUITENBERG, E.J., VAN KNAPEN, F. y ELGERSMA, A. (1983). Surveillance in swine by immunodiagnostic methods. *In Trichinella and Trichinosis. (Ed. Campbell, W.C.)* Plenum-Press. USA, 529-550.

RUIZ, S., MARTINEZ, E., ROCA, J. y VAZQUEZ, J. M. (1990). Enzimología clínica en la especie caprina: niveles fisiológicos de actividad enzimática. *Medicina veterinaria*, **7** (9), 455-462.

RUPPECHT, B. (1865). Eine besuch in hedersleben. *Berl. Klin. Wchnschr.*, **2**, 503.

SALMON, D. E. (1895). The federal meat inspection yearbook of the U.S. department of agriculture for 1894. Government Printing Office. Washington D.C., 67-80.

SANCHEZ VIZCAINO, J. M. y CAMBRA ALVAREZ. (1981). Técnicas inmunoenzimáticas en patología animal y vegetal. M° Agricultura, Inst. Nac. Invest. Agr., Madrid.

SCHALM, O. W., JAIN, N. C. y CARROLL, E. J. (1981). Hematología veterinaria. Ed. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires. Argentina.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

SERRANO, F. J. (1991). Diagnóstico inmunológico de la trichinellosis: estudio experimental en el cerdo. Ed. Servicio Publicaciones Univ. Extremadura.

SINSKI, E., JESKA, E.L. y BEZUBIK, B. (1983). Enteral and parenteral responses in mice after primary infection with *Trichinella spiralis* (nematoda). *J. of Parasitology*, **69** (4), 645-653.

SITPRIJA, V., KEOPLUNG, M., BOONPUNCKNAVIG, V., y BOOPUNCKNAVIG, S. (1980). Renalinvolvement in human trichinosis. *Arch. Intern. Med.*, **140**, 544-546.

SMITH, B.P. (1990). Large Animal Internal Medicine. Morby Co.

SMITH, H. J. y SNOWDON, K. E. (1987 b). Experimental *Trichinella* infections in ponies. *Can. J. Vet. Res.*, **51**, 415-416.

SMITH, H. J. y SNOWDON, K. E. (1989). Experimental trichinosis in sheep. *Canadian Journal of Veterinary Research*, **53** (1), 112-114.

SMITH, H. J., SNOWDON, K. E., FINLEY, G. G. y LAFLAMME, L. F. (1990). Pathogenesis and serodiagnosis of experimental *Trichinella spiralis spiralis* and *Trichinella spiralis nativa* infections in cattle. *Canadian Journal of Veterinary Research*. **54** (3), 355-359.

SOULE, C., DUPOUY-CAMET, J., GEORGES, P., ANCELLE, T., GILLET, J. P., VAISSAIRE, J., DELVIGNE, A. y PLATEAU, E. (1986). Experimental trichinelliasis in horses. Preliminary results. *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, **4** (2), 225-227.

SOULE, C., DUPOUY-CAMET, J., GEORGES, P., ANCELLE, T., GILLET, J. P., VAISSAIRE, J., DELVIGNE, A. y PLATEAU, E. (1989). Experimental trichinellosis in horses: biological and parasitological evaluation. *Veterinary Parasitology*, **31** (1), 19-36.

STEWAR, G. L. (1983 a). Biochemistry. *In Trichinella and trichinosis. (Ed. Campbell, W.C.)*. Plenum Press. New York. USA, 153-172.

STEWART, G. L. (1983 b). Pathophysiology of the muscle phase. *In Trichinella and trichinosis. (Ed. Campbell, W.C.)*. Plenum Press. New York. USA, **19**, 241-264.

STEWART, G. L. y CHARNIGA, L. M. (1980). Distribution of *Trichinella spiralis* in muscle of the mouse. *J. of Parasitology*, **66** (4), 688-689.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

STEWART, G. L., CHARNIGA, L., y BOLEY, R. B. (1982). Myositis in mouse trichinellosis. *J. of Parasitology*, **68** (4), 730-732.

STEWART, G. L., RAINES, K. M. y KILGORE, M. W. (1986). Glucose absorption in vitro by the enteric stages of *Trichinella spiralis*. *Parasitology*, **93**, 581-586.

STEWART, G. L.,y READ, C. P.(1974). Estudies on biochemical pathology in trichinosis I. Changes in myoglobin free creatine, phosphocreatine, and two protein fractions of mouse diaphragm muscle. *J. Parasitology*, **60** (6), 996-1000.

STOLL, N. R. (1947). This wormy world. *J. of Parasitology*, **33**, 1-18.

STPICZYNSKA, R. y STARZENSKA, A. (1986). Intestinal absortion of D-xylose in rats infected with *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis*. *Acta Parasitologica Polonica*. **31** (13-22), 169-174.

STUMPF,J., UNDEUTSCH, K. y LANDGRAF, H. (1981). Results of the clinical and serological diagnosis of an epidemic *Trichinella spiralis*. *In trichinellosis (Ed. Kim, W.C., Ruitenberg, E.J. y Teppema, J.S.)*, 279-282.

STURROCK, R. F., BUTTERWORTH, A. E., KARAMSADKAR, S. D., KIMANI, R., IMBUGA, M. y HOUBA, V. (1977). Eosinophilia in Kenyan baboons (*Papio anubis*) induced by *Trichinella spiralis* and *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, **75** (1), 89-100.

TAKADA, N., TATEFUJI, N., HOSHINO, T., NAKAKUKI, K., y ITOH, H., (1985). Evalutaion of natural resistance of chichese hamster against *Trichina* infection. I. Infectivities and haematological examinations in two host strains. *Japanese J. of Parasitology*, **34** (1), 27-35.

TANNER, C. E. (1968). Relationship between infecting dose, muscle parasitism and antibody response in experimentaltrichinosis in rabbits. *J. of Parasitology*, **54**, 98-107.

TEPPEMA, J. S., BLOMJOUS, F. J. E. M., ELGERSMA, A., y RUITENBERG, E. J. (1981). *Trichinella pseudospiralis* and *T. spiralis* infections in monkeys. III Pathological aspects. *In Trichinellosis. (Ed. Kim. C.W., Ruitenberg, E.J. y Teppema, J.S.)*, 209-214.

THEODOROPOULOS, G. y GREVE, J. H. (1986). Relationshisps between blood iron parameters and trichinellosis in swine. *Veterinary Parasitology*, **19**, 121-126.

TODOROVA, V., KRYSTEV, L. y PETKOV, N. (1988). Inmune complexes and anti-γ-globulin factors in trichinellosis. Histological changes in the kidneys of rats infected with

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

Trichinella spiralis. *Khelmintologiya*, **25**, 35-40.

TODOROVA, V., KRYSTEV, L., SVILENOV, D., NOEVA, K., KOMANDAVEV, S., y TANKOV, C. (1990). Antigen-antibody complexes in experimental infection with *Trichinella spiralis* and their role in the development of kidney lesions. *Angewandte Parasitologie*, **31** (1), 35-42.

TOMAŠOVIČOVÁ, O., ČORBA, J., HAVASIOVÁ, K., RYBOŠ, M. y ŠTEFANČÍKOVÁ, A. (1991). Experimental *trichinella spiralis* infection in sheep. *Veterinary Parasitology*, **40** (1-2), 119-126.

URSELL, P. C., HABIB, A., BABCHKK, O., ROTTOLO, R., DESPOMMIER, D. D. y FENOGLIO, J. J. (1984). Miocarditis caused by *Trichinella spiralis*. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, **108** (11), 4-5.

VAN KNAPEN, F. (1988). Trichinosis in Europe due to the consumption of horse meat. *Annales de Médicine Vétérinarinaire*, **132** (5), 441-446.

VAN KNAPEN, F., FRANCHIMONT, J. H., HENDRIKX, W. M. L. y EYSKER, M. (1987). Experimental Trichinella spiralis infection in two horses. In Helminth zoonoses .Ed. Geerts, S., Kumar, V. y Brandt, J. Dordrecht, Netherlands. 192-201.

VAN KNAPEN, F., FRANCHIMONT, J. H. y RUITENBERG, E. J., (1981 a). The reliability of the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of swine trichinellosis. *In Trichinellosis. (Ed. Kim, W.C., Ruitenberg, E.J. y Teppema, J.S.)*, 399-404.

VAN KNAPEN, F., FRANCHIMONT, J. H., RUITENBERG, E. J., ANDRE, P., BALDELLI, B., GIBSON, T. E., GOTTAL, C., HENRIKSEN, S. A., KÖHLER, G., RONEUS, O., SKOVGAARD, N., SOULE, C., STRICKLAND, K. L. y TAYLOR, S. M. (1981 b). Comparison of four methods for early detection of experimental *Trichinella spiralis* infections in pigs. *Veterinary Parasitology*, **9**, (2), 117-123.

VAN KNAPEN, F., FRANCHIMONT, J. H., RUITENBERG, E. J., ANDRE, P., BALDELLI, B., GIBSSON, T. E., HENRIKSEN, S. A., KÖHLER, G., RONEUS, O., SKOVGAARD, N., SOULE, C., STRICKLAND, K. L., TAYLOR, S. M., THOMSEM, D. V., y WOLFF, F. (1984 a). Comparison of three methods for detection of prolonged experimental trichinellosis in pigs. *Veterinary Parasitology*, **16**, 167-171.

VAN KNAPEN, F., FRANCHIMONT, J. H., RUITENBERG, E. J., BALDELLI, B., BRADLEY, J., GIBSON, T. E., GOTTAL, C., HENRIKSEN, S. A., KÖHLER, G.,

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

SKOVGAARD, N., SOULE, C., y TAYLOR, S. M. (1980). Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with three other methods for the detection of *Trichinella spiralis* infection in pigs. *Veterinary Parasitology*, **7**, 109-121.

VAN KNAPEN, F., FRANCHIMONT, J. H., VENDONK, A. R., STUMPF, J., y UNDEUTSCH, K., (1982). Detection of specific immunoglobulins (IgG, IgM, IgA, IgE) and total IgE levels in human trichinosis by means of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Am.J. Trop. Med. Hyg.*, **31** (5), 973-976.

VAN KNAPEN, F., RUITENBERG, E. J., y VERMEULEN, C. J. (1976 b). Results obtained with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in conventionally held experimentally and naturally *Trichinella spiralis* infected slaughter pigs. *In Abstracts of Fourth Inter. Conf. on Trichinellosis*. Poznan. Poland. August, 78.

VAN SOMEREN, V. D. (1939). On the presence of a bucal stylet in adult *Trichinella*, and the mode of feeding of the adult. *Journal Helminthology*, **17**, 83-92.

VIALLET, J., MACLEAN, J. D., GORESKY, C. A., STAUDT, M., ROUTHIER, G. y LAW, C. (1986). Arctic trichinosis presenting as prolonged diarrhea. *Gastroenterology*, **91** (4), 938-946.

VILLELLA, J. B. (1970). Life cycle and morphology. *In Trichinosis in Man and Animals. (Ed. Gould. S.E.)*. Charles C. Thomas. Springfield. Illinois. USA, 19-60.

WARD, H. B., (1930). The discovery of the trichina. *Am. Med. Assoc.*, 95, 1988.

WASSON, D. L. y GLEICH, G. J. (1979). Damage to *Trichinella spiralis* newborn larvae by eosinophil major basic protein. *Am. J. of Trop. Med. and Hyg.*, **28** (5), 860-863.

WEATHERLY, N. F., (1983). Anatomical pathology. *In Trichinella and Trichinosis. (Ed. Campbell, W.C.)*. Plenum Press. New York. USA, 173-20.

WILCKES, S. D. y GOVEN, A. J. (1984). Tissue eosinophil numbers and phospholipase B activity in mice infected with *Trichinella spiralis*. *Intern. J. for Parasitology*, **14** (5), 479-482.

VIRCHOW, R. (1859). Recherches sur le development du *Trichina spiralis*. *C.R. Academ. Science*, **49**, 660-662.

WRIGHT, K. A. (1979). *Trichinella spiralis*: an intracelular parasite in the intestinal phase. *J. of Parasitology*, **65** (3), 441-445.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004

YANG, Z. Y., WANG, Z. Y. y XU, G. S. (1984). Appearance, disappearance and morphological variations of adults *Trichinella spiralis*. *J. of Veterinary Science and Thechonology (Shouyiz Keji Zazhi)*, **9**, 20-22.

ZENKER, F. A., (1860). Ueber die trichinen-krankheit des Menschen. *Virchows Arch. Pathol. Anat.*, **18**, 561-572.

© Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Biblioteca Digital, 2004