

IDENTIFICACIÓN DE *TRICHINELLA* spp. EN PORCINOS FAENADOS EN SEIS PLANTAS DE SACRIFICIO DEL DEPARTAMENTO DE RISARALDA Y VALIDACIÓN SECUNDARIA DEL MÉTODO POR DIGESTIÓN ENZIMÁTICA

Holguín Sterling Laura Cristina*, Ángel Vargas Paula Andrea*, Osorio Reina Nycol*,
Gil López Laura Katherine*

*Universidad Libre Seccional Pereira, Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Microbiología. Colombia 2016.

RESUMEN

Trichinella spp es un nematodo helminto, del cual se han descubierto varias especies entre las cuales se encuentra *T. spirallis* responsable de la trichinelosis en humanos; Su ciclo biológico se realiza en único hospedero, el cual inicia cuando un animal ingiere larvas viables enquistadas, estas se liberan en el intestino delgado, se reproducen sexualmente y luego migran por la sangre o linfa hasta llegar e infectar otros órganos produciendo miocarditis, encefalitis y en algunas ocasiones complicaciones respiratorias. En Colombia actualmente se desconoce la prevalencia de este parasito debido a la dificultad para acceder a técnicas de diagnóstico; En Colombia se realizó un estudio en Antioquia para detectar *trichinella* en cerdos y los resultados fueron negativos sin embargo esto no se puede extrapolar al resto del país debido a que aun existe gran cantidad de sacrificios clandestinos que no se realizan bajo las técnicas higiénico sanitarias optimas. El presente estudio se realiza tomando 100 gr del musculo diafragmático de cerdos faenados en las 5 plantas de sacrificio del departamento de Risaralda y se procesaron por el método de digestión enzimática. Los resultados obtenidos fueron negativos por lo que se puede estimar la ausencia del parasito en el departamento de Risaralda.

Palabras Claves: Zoonosis, *Trichinella* spp., Cerdos, Digestión artificial, Triquinellosis

ABSTRACT

Trichinella spp. is a nematode helminth, which have been discovered several species among which *T. spirallis* responsible for human's trichinelosis. Its life cycle is performed in only host, which starts when an animal ingests viable encysted larvae, these are released into the small intestine, they reproduce sexually and then migrate through the blood or lymph to reach and infect other organs, producing myocarditis, encephalitis, and in sometimes respiratory complications. In Colombia currently the prevalence of this parasite is unknown because of the difficulty in accessing diagnostic techniques, a study was conducted in Antioquia to detect *Trichinella* spp. in pigs and the results were negative, however this cannot be extrapolated to the rest of the country due to that there is still lot of clandestine sacrifices are not performed under optimal sanitary hygienic techniques. The study is done taking 100 g of the diaphragmatic muscle of pigs slaughtered in five slaughter plants of Risaralda department and processed by the method of enzyme digestion. Results were negative so we can estimate the absence of the parasite in the department of Risaralda.

Key Words: Zoonosis, *Trichinella* spp., Pigs, Artificial digestion, Trichinellosis

INTRODUCCIÓN

Trichinella spp. es un nematodo helminto del cual se han identificado varias especies con hospederos diferentes, entre los que están: *T. spiralis* (T1), *T. nativa* (T2), *T. britovi*(T3), *T. pseudospiralis* (T4), (T5), *T. murelli* (T6), *T. nelsoni* (T7), (T8) y *T. papuae*. Siendo *T. spiralis* la causante de trichinelosis en humanos (Pozio 2014).

Es un gusano redondo intestinal; La parte anterior del cuerpo está ocupada por un estilete y un esticoma (esófago glandular) y su parte posterior es redondeada. En cuanto a la hembra se sabe que mide de 3 a 4 milímetros de longitud y unas 60 micras de diámetro. Por su parte los machos miden aproximadamente la mitad de la hembra y en el extremo posterior, presentan dos apéndices caudales lobulares (Imagen 1). (Bughdadi 2010).

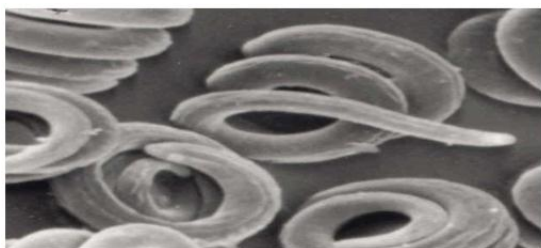


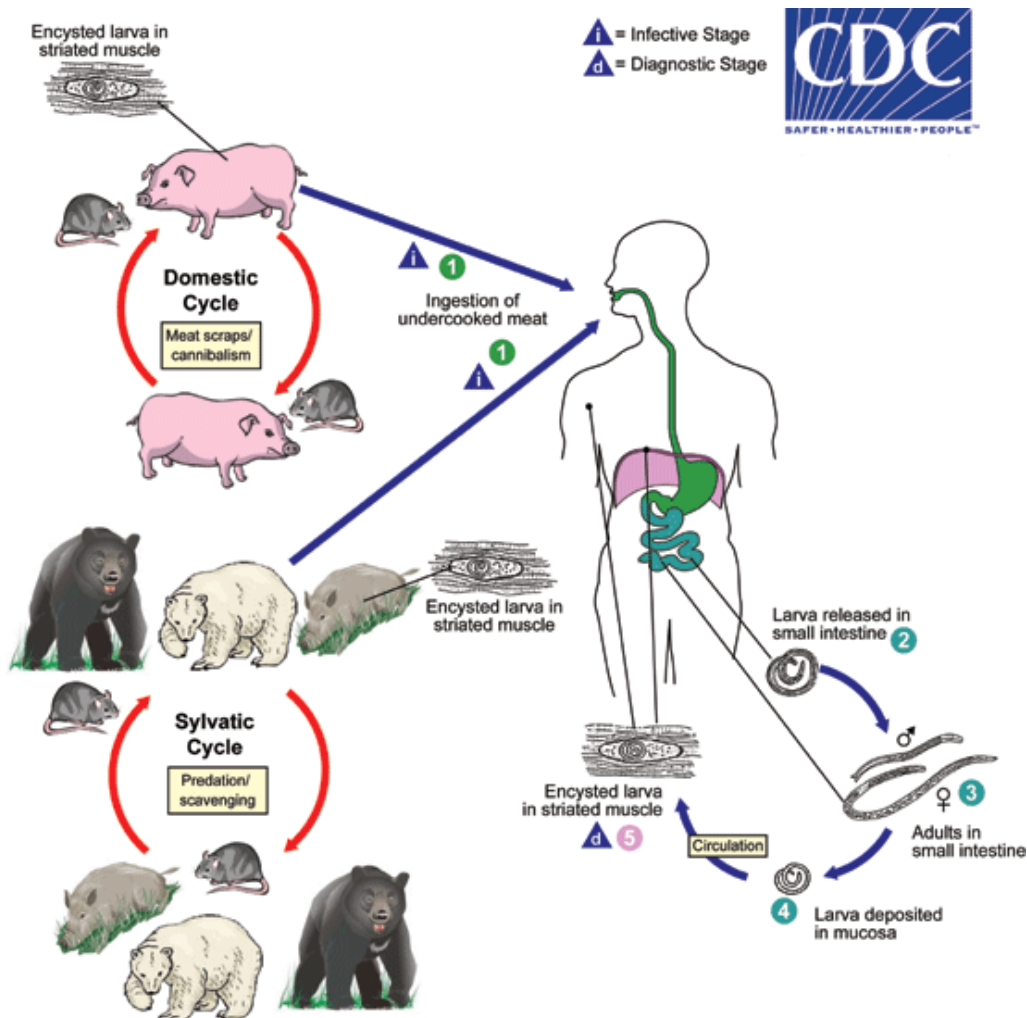
Imagen 1: Tomado de: "Fig.1. Larvas infecciosas L1 aisladas de un músculo de ratón digeridas con pepsina-HCl demostrando su típica apariencia enrroscada". Bughdadi F. A. 2010

En cuanto a su ciclo biológico (Imagen 2), se conoce que se realiza en un único hospedador, el cual comienza cuando un carnívoro consume carne cruda que contiene las larvas viables enquistadas. Una vez llegan al intestino delgado del hospedador, las larvas se liberan, se

diferencian sexualmente y alcanzan el estado adulto entre las 29 y 36 horas después de la infección y, tras la copula, que sucede en la mucosa intestinal del hospedador, los machos mueren, mientras que las hembras penetran la mucosa intestinal y ponen de 500 a 1000 larvas. De allí las nuevas larvas migran, a través de la sangre o de la linfa, hacia otros órganos o tejidos del hospedador, pero su desarrollo solo se produce en la musculatura estriada del hospedador (músculos mandibulares, oculares, deltoides, lengua, etc.) en donde son encapsuladas formando un quiste y dentro del quiste la larva puede permanecer viva durante años. (Gould 1945, Alí Kahn 1966, Hughes &Harley 1977, Velasco 2004).

Tiene varias formas de resistencia, en la cual las larvas son capaces de soportar temperaturas de refrigeración de 2 a 4°C, hasta 300 días y temperaturas de congelación de -15°C hasta 20 días y es necesaria una cocción durante 15 minutos a 90 °C para matar al 100 % de las larvas libres y a 100 °C para lograr igual mortalidad de las enquistadas. Además cuenta con un mecanismo de propagación y transmisión que se debe fundamentalmente a la ingesta de carne cruda o mal cocida contaminada con los quistes, principalmente carne de cerdo o de jabalí (Randazzo et al. 2011, Krivokapich et al. 2012).

Otra forma de transmisión, se da principalmente en trabajos de laboratorio, en la inoculación accidental de la larva infectante. De otra forma No hay evidencia de transmisión de persona a persona (Gottstein et al. 2009).



Su sintomatología se presenta con complicaciones que incluyen principalmente la miocarditis y encefalitis, trayendo consigo problemas cardiovasculares de un 5 a 20% de Miocarditis: Que aunque las

donde entran la Neumonía, la pleuritis (Bacteriana), la bronquitis obstructiva y el Síndrome de Löeffler. Por último cabe resaltar que están las complicaciones gastrointestinales que se da por necrosis agudas y diarreas persistentes. Para el caso del estado

Imagen 2: Tomado de: "Ciclo de vida *Trichinella* spp." Centers for Disease Control and Prevention. 2012

larvas no se encapsulan en el corazón, la migración por este órgano puede producir una respuesta inflamatoria importante como lo son trastornos tromboembólicos. Para las Neurológicas se da por encefalitis y según los datos focales, las oculares se dan por trastornos en la microcirculación, larvas en arteriolas ciliares, retina y músculos del glóbulo ocular. También cuenta con complicaciones respiratorias en

de embarazo puede llegar a producir aborto ó parto prematuro. El tratamiento se basa en el uso de antihelmínticos como albendazol y flubendazol (Darwin & Pozio 2011, INSHT 2013, Velez et al. 2013).

Tiene distribución global (Imagen 3), donde el patólogo alemán Zenker (1860) identificó al cerdo doméstico como posible fuente de infección para humanos. (FAO/WHO/OIE, 2007).

En Estados Unidos los lineamientos están establecidos para proteger a los consumidores de contraer la infección exigiendo que todos los productos derivados de la carne de cerdo listos para el consumo deben ser tratados por métodos de cocción, congelación o curación para inactivar las triquinas, sin embargo hace falta implementar inspección sanitaria en la carne de cerdo fresca por lo que las constantes advertencias a los consumidores ha llevado a una cocción excesiva de los productos derivados del cerdo en los hogares y ha perpetuado una imagen negativa en la sociedad sobre el consumo de estos (Gamble 1999).

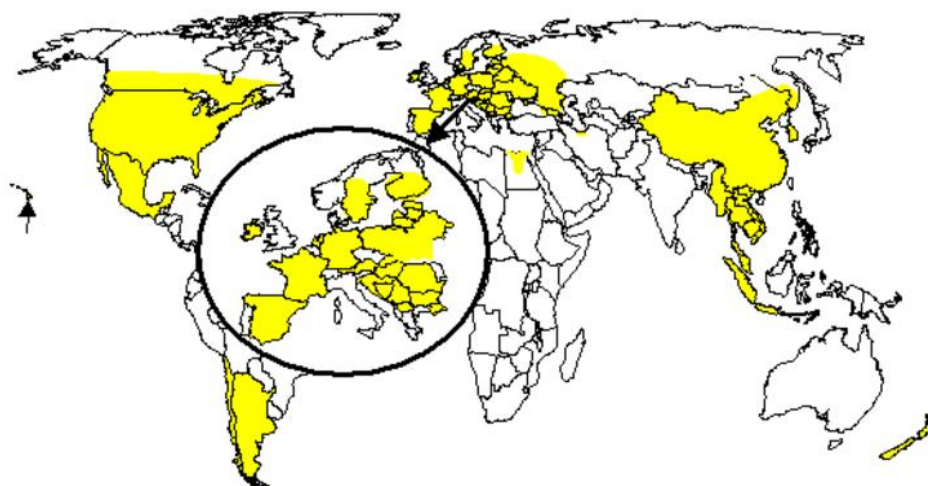
En 2013, se confirmaron 217 casos de triquinosis (una muerte; letalidad 0,56 %) reportados en humanos en Estados Unidos. Los cerdos domésticos y jabalíes cazados tuvieron prevalencias de 0,0002 % y 0,1 % respectivamente (Europa del Este). Las principales medidas de control de *Trichinella* spp. incluyen la producción de cerdos en condiciones controladas, pruebas de cerdos sacrificados, o la inactivación de los parásitos en la carne (congelación o tratamiento de calor). En regiones

distribución de *Trichinella*

endémicas, la educación de los agricultores, cazadores y consumidores es también una medida importante de reducción del riesgo. (Buncic 2015)

Es una zoonosis endémica en Europa, Asia, Norte América, Argentina, Chile y México. No se ha reportado en Colombia y en otros países tropicales. (Velez et al. 2013)

A Nivel local, se presenta una gran incertidumbre sobre la prevalencia y la incidencia de *Trichinella* spp. debido a que hay una gran dificultad para acceder a las técnicas de diagnóstico estandarizadas. Hasta hace dos años en el 2014 no se contaban con laboratorios que tuvieran pruebas de referencia en el país, pero actualmente y luego de una alianza que se realizó con la Asociación Colombiana de Porcicultores, el Fondo Nacional de la Porcicultura y la facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad De Antioquia se normalizó las técnicas de ELISA, Digestión Enzimática de Músculo & PCR Múltiple. Aún así luego de que se realizaran pruebas y muestreos en diferentes plantas de beneficio en el departamento de



Mapa del mundo que muestra el área de distribución de *Trichinella spiralis* (en amarillo). La distribución está fuertemente influenciada por los seres humanos, que pasivamente introdujeron este patógeno zoonótico en Norte, América Central y del Sur, Nueva Zelanda, y en Egipto.

Imagen 3: Tomado de: International Trichinella Reference center.

Antioquia, no se conocen casos positivos, sin embargo se cuenta con la posibilidad de que haya presencia de este parásito debido a que todavía se siguen presentando criaderos de cerdo en patios, fincas, granjas no estandarizadas que practican el sacrificio clandestino, sin tener en cuenta cada una de las normas higiénico-sanitarias y sanitarias que se requieren para que se realice un buen sacrificio porcino a nivel de calidad e inocuidad para el consumo de la población. (Laverde 2009, PORCICOL 2014).

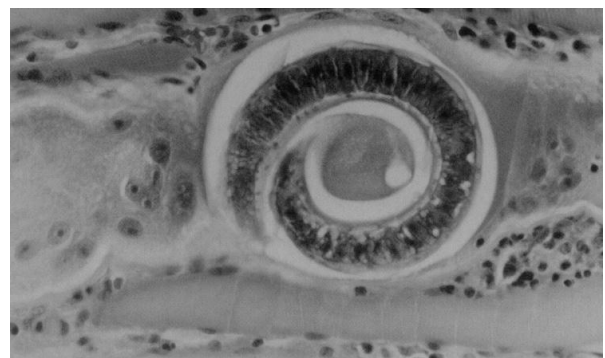
A nivel nacional se cuenta con la Asociación Colombiana de Porcicultores que reporta que el consumo de cerdo en Colombia hasta el año 2015 es de 8,5 kilos por persona al año frente a los 7,4 kilos del 2014, teniendo en cuenta que datos recientes de la firma de estudios de mercados Nielsen, indican que la penetración de la carne de cerdo, aumentó de 38 a 44% en los hogares colombianos (PORCICOL 2014).

La trazabilidad, la sanidad y las buenas prácticas zootécnicas son la que enmarcan las pautas para la producción de carne y sus derivados con altos estándares de calidad y sanidad.

Las Normas colombianas establecen que la carne de cerdo debe estar libre de *Trichinella* spp. Y su aplicación en lo referente a la implementación de un método validado para determinar la presencia no se lleva a cabo, haciendo imposible conocer la presencia, frecuencia o prevalencia del parásito por lo que es difícil estimar la magnitud del riesgo para la salud pública. Teniendo en cuenta de que a pesar de que existen empresas

tecnificadas y que trabajan con los estándares de calidad, en general la explotación del cerdo no cumple con programas de calidad, sanidad y competitividad en todos los casos de manera satisfactoria. (Decreto 1500 de 2007, Resolución número 4282 DE 2007, Resolución 240 del 2013)

En cuanto a las técnicas de diagnóstico existen métodos directos e indirectos, Siendo estas últimas las más sensibles y las normalmente usadas para el diagnóstico humano. Mientras que en las técnicas directas más usadas encontramos; La Técnica directa de compresión de tejido, es denominada trichinoscopía directa. Para realizarla se extraen muestras de tejido parasitado, preferiblemente músculo diafragmático. El tamaño de la muestra es de 45 gr aproximadamente y se comprime en vidrios gruesos, luego se observa al trichinoscopio o microscopio (Imagen 4). (Hendrix 1999, Builes et al. 2009)



Tomado de: “una larva de *Trichinella spiralis* enquistada en una célula del músculo esquelético aún vivo. El paciente contrajo triquinosis por comer carne de cerdo cruda (X828)” David Lacomis, MD. 1992.

La otra técnica directa es conocida como digestión artificial o enzimática, en la que se usa pepsina, ácido clorhídrico y agua a una temperatura de 40°C aproximadamente para digerir el músculo y liberar la larvas

para finalmente ser recuperadas por filtración y sedimentación (Imagen 5)



Imagen 5: Tomado de: "Técnica Digestión Artificial. A- Se observa microscopio óptico de luz a 40x. B- a 100x" Moreno et al. 2012

El objetivo del estudio es evaluar la presencia de *Trichinella* spp. en porcinos faenados en seis plantas de sacrificio del departamento de Risaralda y validación secundaria del método por digestión enzimática.

METODOLOGÍA

Obtención de muestra

El estudio se llevó a cabo entre los meses de marzo a julio de 2016, obteniendo un total de muestra de 2.958, (se utilizó la herramienta es de WINEPI) para el cálculo muestral, con un nivel de confianza del 95% y una prevalencia mínima esperada de 0.10%

El procedimiento de la Toma de Muestra se realizó por disección de 100 gramos de músculo

diafragmático de la canal, se almacenará en bolsas Ziploc bajo refrigeración para su conservación, las muestra se rotularan identificando los cerdos con el código que la empresa le designa a cada uno y un código seriado de entrada al laboratorio, fueron transportadas en nevera de icopor con pilas refrigerantes para mantener la cadena de frío hasta el laboratorio de análisis microbiológico del programa de Microbiología de la Universidad Libre Seccional Pereira sede Belmonte (Imagen 6), atendiendo al siguiente protocolo:

- Nombre de la persona que las remite
- Nombre y ubicación del establecimiento de origen de las muestras.
- Cantidad de animales muestreados
- Peso de la muestra
- Hora toma de la muestra.
- Temperatura de la muestra.

El número de muestras a tomar teniendo en cuenta los volúmenes de sacrificio de cada planta (Tabla 1):

Central de Sacrificio	Numero de Muestras.
Frigotún	1043
OINC	962
La Virginia	835
Apía	60
Pueblo Rico	33
Guática	25
Total	2958

Tabla1: Número de muestras a evaluar por cada central de sacrificio del departamento de Risaralda.

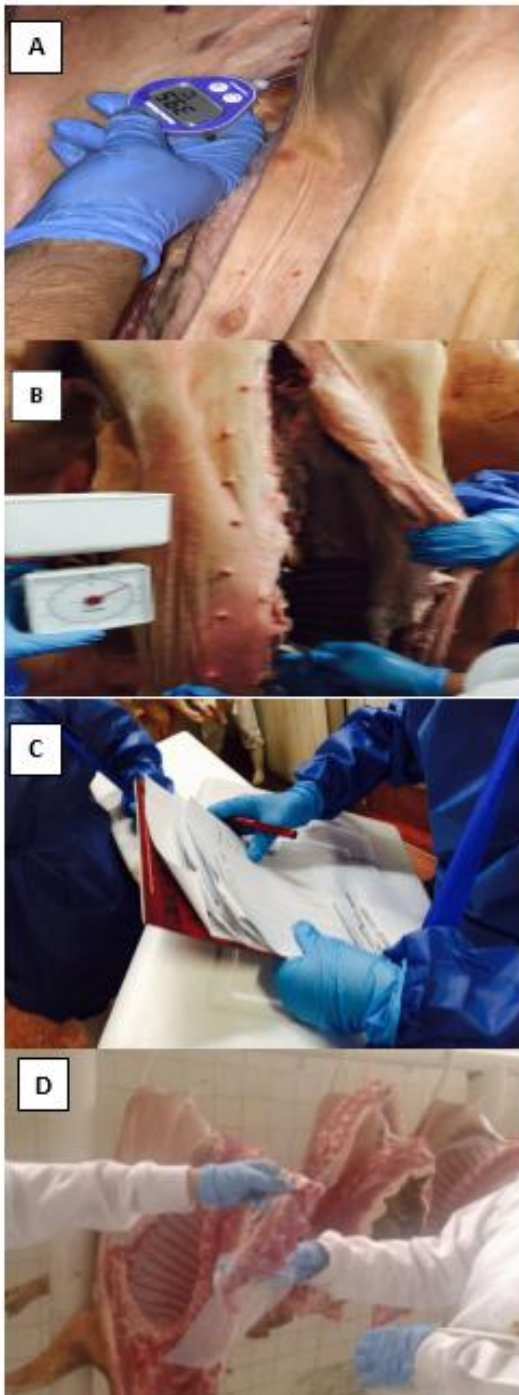


Imagen 6: Proceso de Toma de Muestras en las centrales de Sacrificio. A- Toma de Temperatura. B- Peso. C- Registro de Información en Actas. D- Almacenamiento en Bolsas Ziploc

Las muestras fueron recolectadas en cinco centros de beneficio hasta el momento en condiciones higiénico-sanitarias adecuadas, con inspección médico-veterinaria y los protocolos establecidos por el INVIMA. Las

unidades experimentales se analizaron por digestión artificial siguiendo el siguiente diagrama de flujo:

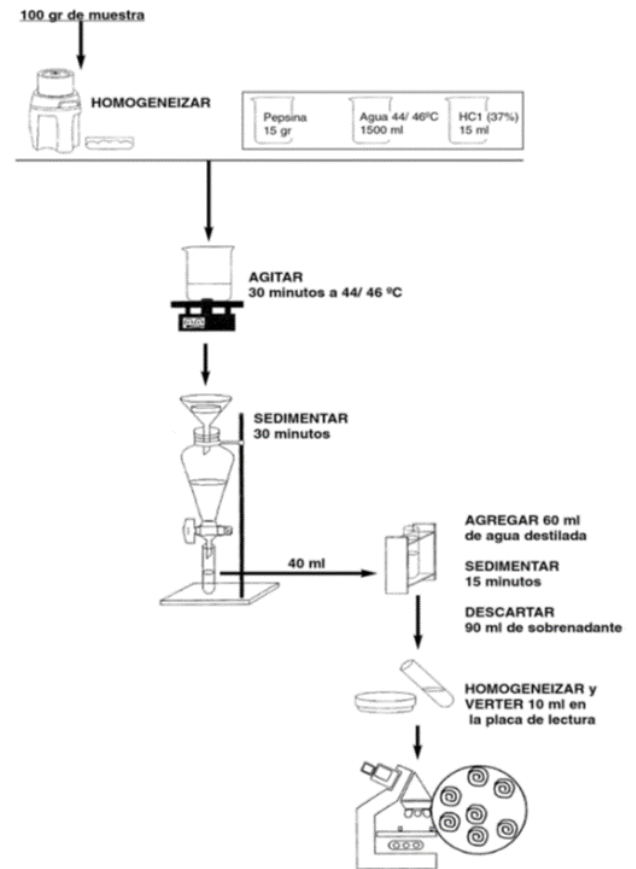


Figura 2

Prueba digestión enzimática:

Los métodos de diagnóstico directo consisten en demostrar la presencia de larvas de primer estadio (L1) de *Trichinella* spp. en tejido muscular de cerdos, el análisis que se realizan en muestras de tejido muscular será por digestión enzimática.

La digestión enzimática trata de reproducir in vitro la digestión estomacal, con el objeto de liberar las larvas de *Trichinella* spp. que pudieran hallarse dentro de quistes en el tejido muscular muestreado. La carne a diagnosticar, previamente

macerada, se sumerge en líquido de digestión compuesto por ácido clorhídrico y 10 gramos de pepsina en agua destilada. Luego de 30 a 45 minutos a 44- 46 °C con agitación continua, la cápsula que encierra al parásito es destruida y quedan en libertad las larvas de *Trichinella* spp. Éstas se recuperarán mediante procesos de filtración y sedimentación y se observarán al microscopio para su cuantificación, expresando el resultado como número de larvas encontradas por gramo de muestra (L/g).

Procedimiento:

- Preparación de la solución pepsina al 1% (100gr de la muestra). Tº: 44-46º. Se adiciona 5 mL de HCl al 37% y 5 gr de pepsina.
- En un recipiente agua destilada precalentada a una Tº de 44-46ºC, se utiliza el magneto y se adiciono el HCl por las paredes del recipiente y por último la pepsina.
- Se adiciono 1 gr de la muestra previamente picada y macerada, dejándola en agitación moderada durante el calentamiento, 30 min para evitar la inactivación de la pepsina.
- Pasados los 30 min se procede hacer un filtrado de la solución con ayuda de un tamiz, se deja en decantación por 30 min.
- Luego de la decantación se abrió la espita por completo y se recolecto 40 mL de la solución agregando 60 mL de agua destilada para aforar a 100 mL.
- Se dejó decantar durante 15 min, se transfieren 90 mL del sobrenadante, los 10 mL

restantes se agitan suavemente y se pasan a una caja de Petri.

- Por último se realiza la lectura en estereoscopio, para confirmar se observa en microscopio.

* Se realizó el procedimiento anterior por duplicado.

RESULTADOS Y RESDISCUSIÓN

De las 572 (tabla 2) muestras parcialmente evaluadas en cinco plantas de sacrificio del Departamento de Risaralda por el método de digestión artificial se han obtenido resultados negativos para la presencia de *Trichinella* spp.

Central de Sacrificio	Numero de Muestras.	%
<u>Frigotún</u>	247	23,6%
<u>Oinc</u>	304	31,60%
La Virginia	0	0%
<u>Apía</u>	11	18,33%
Pueblo Rico	6	18,10%
<u>Guática</u>	4	16%
Total	572	

Tabla 2: Representa la cantidad de muestra tomadas por cada central de sacrificio y el porcentaje respecto al total de muestras correspondiente a cada una

La cría de cerdos en Colombia se encuentra regido por varios decretos y la alimentación de los porcinos también se supone debe controlada bajo los estándares de calidad por lo que se puede asumir parcialmente que el parasito nematodo helminto *Trichinella* ssp. no se encuentra distribuido en el departamento de Risaralda, sin embargo se deben realizar más estudios en otras regiones del país ya que al presentar las condiciones socio-económicas y ambientales apropiadas se debe

pensar la posible presencia del parásito como un riesgo para la salud pública, también se tienen en cuenta que existen criaderos clandestinos los cuales no cuentan con condiciones higiénico-sanitarias para la crianza de los porcinos por lo que estos deben ser también tenidos en cuenta para futuras evaluaciones.

A pesar de que las centrales de sacrificio evaluadas son del departamento de Risaralda la gráfica 1 representa los diferentes orígenes geográficos de las fincas de donde provienen los porcinos sacrificados y muestreados en estas centrales, en el que Risaralda tiene la mayor proporción con 19 fincas, seguido por Valle del Cauca con 8 fincas y Caldas con 4 fincas y Quindío con 2 fincas.

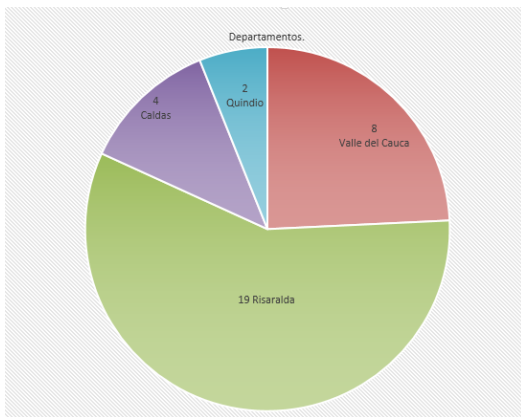


Gráfico 1: Origen geográfico de las fincas de donde provienen los porcinos muestreados.

Muchos productores crían cerdos siguiendo las prácticas de producción adecuadas que limitan o eliminan los factores de riesgo, el control de la exposición y la infección por serología, haciendo posible producir cerdos que no supongan un riesgo para adquirir *Trichinella* spp. en Colombia.

Otro estudio realizado en Colombia por técnica de trichinoscopia directa

para el diagnóstico y evaluación de los quistes larvales ha establecido una prevalencia del 0% pero indicando esta prueba como poco sensible y poco recomendada para la detección de *Trichinella* spp. (Laverde et al. 2009)

Estudios recientes afirman que la exposición de los cerdos a la vida salvaje es tomada en cuenta como un factor importante para que estos contraigan el parásito; Roedores, otros pequeños mamíferos carnívoros y omnívoros (mofetas, mapaches, zarigüeyas) y depredadores de mayor tamaño (zorros, osos) sirven como reservorios naturales de *Trichinella* spp. Si bien este ciclo silvestre está en curso, se presentan oportunidades donde los roedores y animales silvestres pueden introducir infecciones en la población de cerdos doméstico y estos a su vez han demostrado facilidad para comer tanto roedores muertos y vivos (Gamble 1999, Murrell 2016).

Así que importante reconocer que los mamíferos silvestres son reservorios comunes y que la biomasa de estos parásitos es mayor en los animales salvajes que en los animales domésticos y la mayoría de los brotes en Europa son atribuidos en la carne de cerdo han sido relacionados con los cerdos criados en granjas pequeñas o patios traseros, a menudo al aire libre donde tienen contacto con otros animales silvestres (Imagen 6), donde las malas condiciones de la cría de cerdos lugar de alto riesgo de contagio con *Trichinella* spp. factor que no se presenta con mucha frecuencia en Colombia. (Pozio 2014).



Imagen 6: Tomado de: "Fig 1. Imágenes al aire libre que ilustran la variación en los tipos de pastos empleados en granjas porcinas gama de libre. Los cerdos (A) que pastan en los pastos de hierba cultivada (EE.UU.). (b) los cerdos se alimentan en tierras marginales Reino Unido). (C) Los cerdos se alimentan en las tierras forestales (Reino Unido)". (Murrell 2016).

En reconocimiento a los riesgos asociados a la infección a *Trichinella* spp. a los que pueden ser expuestos los cerdos criados la Unión Europea (UE) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) tienen en cuenta criterios de desarrollo y directrices oficiales que permite compartimentos de las granjas de cerdos para ser manejados bajo condiciones controladas para así tener una categoría de riesgo insignificante, con sujeción a la supervisión y la inspección

constantes a la producción porcina (OIE 2013, UE 2014).

A pesar de ser necesario otro tipo de pruebas confirmatorias un estudio comparativo en Argentina afirma la pruebas de digestión enzimática es más confiable que la detección por métodos serológicos como Ensayo de Inmunoabsorción ligado a enzimas-ELISA y triquinoscopia directa por compresión. (Venturiello 1998).

Estudios comparativos, entre los métodos de compresión en placa y el de digestión artificial, realizados a la carne de los cerdos, muestran una diferencia de detección mayor por el método de digestión artificial, de incidencia de la enfermedad, en un 1.33%, mientras que por el método de compresión en placa, solo se detecta un 0.33%. Fragoso en 1981, examinó 1221 muestras por compresión en placa, resultando negativas el 100 % mientras que de 442 de éstas, el 0.22 resultó positiva por el método de digestión artificial. (Cabral et al. 1989, Chavez et al. 2006)

Debe tenerse en cuenta que en este estudio la digestión artificial péptica se realizó utilizando muestras agrupadas, de tan sólo 1 g de músculo de cada animal y se podría asumir por otra parte que estos animales presentan cargas de parásitos no detectables por la técnica parasitológica empleada. Los hallazgos realizados por Gamble (1996), demostraron que para las pruebas de digestión agrupado de los cerdos, 1g de muestras no es suficiente para identificar los cadáveres infectados que suponen un riesgo para la salud pública, por lo que el autor propone utilizar 5g tamaño de la muestra para la

inspección de carne de cerdo para garantizar la seguridad pública de triquinelosis. (Gamble 1996).

Por otra parte este estudio aporta resultados preliminares sobre el estado en el que se encuentra la región Risaraldense sobre la presencia del parásito y que deben tenerse en cuenta para la implementación de la vigilancia epidemiológica de *Trichinella* spp. Que el INVIMA exigirá a partir de agosto del presente año en todas las centrales de sacrificio del país.

CONCLUSIONES

- Las 572 muestras evaluadas parcialmente se reportan negativas para la presencia de *Trichinella* spp. Asumiendo una prevalencia del 0%
- Las 5 centrales de sacrificio estudiadas hasta el momento cumplen las exigencias establecidas por la resolución 240 del 2013.
- Los estudios reportados de zoonosis transmitidas por cerdos son limitados, los escasos estudios colombianos están dirigidos a complejo Teniasis cisticercosis.
- *Trichinella* spp no se encuentra distribuido en la región Risaraldense sin embargo se deben hacer mas muestreos a nivel nacional y se deben tener en cuenta carnicerías pequeñas que en muchos casos adquieren la carne de pequeños distribuidores que realizan crianza de cerdo traspatio y

sin las regulaciones exigidas por las normativas.

REFERENCIAS

1. Alí Kahn Z. 1966. The post embryonic development of *Trichinella spiralis* with special reference to ecdysis. J. Parasitol., 52: 248-259.
2. Bughdadi F. A. 2010 Ultrastructural studies on the parasitic worm *Trichinella Spiralis*. J. Of Taibah University for Science
3. Builes L. M., Laverde L. M., Triquinelosis Una Zoonosis Parasitaria. 2009. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. Vol 4. 2:130-136
4. Buncic S. 2015. Biological meat safety: challenges today and the day after tomorrow. International 58th Meat Industry Conference. Procedia Food Science 5: 26 – 29
5. Cabral S. J., Villicaña F. H., Fragoso U. R., Contreras A. 1989. Triquinosis en Zacatecas: Perfil epidemiológico 1978 – 1988, Infectologia. 9: 627.
6. Centers for Disease Control and Prevention. 2012. <http://www.cdc.gov/parasites/trichinellosis/> Consultada en Junio de 2016.
7. Chávez Guajardo E. G., Saldivar S., Muñoz Escobedo J. J., Moreno García M. A. Trichinellosis una zoonosis vigente. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. Vol. VII, Nº 05
8. Darwin K., Pozio E. 2011. Worldwide Occurrence and Impact of Human Trichinellosis, 1986–2009.

- Emerging Infectious Diseases;
Vol. 17, No. 12,
9. Decreto 1500 del 2007. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. COLOMBIA
 10. European Union. Commission Regulation No. 216/2014 of October 2014, amending Regulation (EC) No 2075/2005 laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat. Part A, Chapter 1.
 11. FAO/WHO/OIE. 2007 Guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis. Editors: J. Dupouy-Camet & K.D. Murrell.
 12. Gamble H.R., 1996. Detection of trichinellosis in pigs by artificial digestion and enzyme immunoassay. J. Food Pro. Vol. 59, 295-298
 13. Gamble H.R., Brady R.C., Bulaga L.L., Berthoud C.L., Smith W.G., Detweiler L.A., Miller L.A., Lautnere E.A. 1999. Prevalence and risk association for *Trichinella* infection in domestic pigs in the northeastern United States. Veterinary Parasitology Vol. 82, 59-69.
 14. Gottstein B., Pozio E., Nöckler K. 2009. Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control of Trichinellosis, Clinical Microbiology Reviews, p. 127-145
 15. Gould, E. Sylvester. Trichinosis. Ed. Charles C. Thomas, Springfield, vol III., U.S.A., 1945.
 16. Hendrix CH. 1999. Diagnóstico Parasitológico Veterinario. 2ª Edición. Edit. Harcourt Brace. España. Cap 4.
 17. Hughes, W. L., and J. P. Harley. 1977. *Trichinella spiralis*: Taxes of first stage migratory larvae, Exp. Parasitol., 42:363-373.
 18. INSHT, Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. 2013 *Trichinella* spp. España. 1-4
 19. Krivokapich SJ, Pozio E, Gatti GM, Prous CL, Ribicich M, Marucci G, La Rosa G, Confalonieri V. 2012. *Trichinella patagoniensis* n. sp. (Nematode), a new encapsulated species infecting carnivorous mammals in South America. Int J Parasitol; 42:903-910.
 20. Lacomis D. MD. 1992. University of Massachusetts Medical Center. Images of Clinical Medicine
 21. Laverde Trujillo L. M., Builes Cuartas, L. M., Masso Cardona, C. J., 2009. DETECCIÓN DE *Trichinella spiralis* EN CERDOS FAENADOS EN DOS PLANTAS DE BENEFICIO EN EL MUNICIPIO DE BELLO Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, vol. 4, pp. 47-56.
 22. Moreno G. A., Maldonado T. C., Chávez I., Reveles R.G., Quiroz Z., Muñoz J.J.. 2012 El estudio de *Trichinella spiralis* en modelos experimentales. REDVET Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 13, núm. 7, julio, 2012, pp. 1-12
 23. Murrell, K.D., The dynamics of *Trichinella spiralis* epidemiology: Out to pasture? Vet. Parasitol. (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vepar.2016.03.020>

- 24.OIE (World Animal Health Organization) 2013. Infection with *Trichinella* spp. Terrestrial Animal Health Code, Paris, France pp. 1–4 (Chapter 8.14)
- 25.PORCICOL. 2014. Porcicultura colombiana. Ed: 194, 20-26
- 26.Pozio E. 2014. Searching for *Trichinella*: not all pigs are created equal. ReviewArticle. TrendsParasitology;30(1):4-11.
- 27.Randazzo V.R., La Sala L. F., Costamagna S. R. 2011. Efecto de la temperatura sobre la viabilidad de larvas de *Trichinella spiralis*. Revista Argentina de Microbiología (2011) 43: 256-262.
- 28.Resolucion Numero 4282 De 2007. Ministerio De La Proteccion Social. Colombia.
- 29.Trichinella reference centre. 2003.
URL:<http://www.trichi.iss.it/>.
Consultada en junio 2016.
- 30.Velasco L. 2004. Industria porcícola Colombiana. Sector con potencial. Asociación Colombiana de Porcicultores, Fondo Nacional de la Porcicultura
- 31.Vélez H, Rojas W, Borrero J, Restrepo J.2003. Enfermedades Infecciosas. Fundamentos de Medicina. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas CIB. 48: 542-543.
- 32.Venturiello S.M., Ben G.J.M., Constantino S.N., Malmassari S.L., Nuñez G.G., Veneroni R.L., Traversa M.J. 1998. Diagnosis of porcine trichinellosis: parasitological and immunoserological tests in pigs from endemic areas of Argentina.