

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

**En búsqueda de *Trichinella* spp. en cerdos de traspatio
sacrificados en el camal Municipal del cantón Rocafuerte
provincia de Manabí**

Nashell Christina Castillo Benitez

Ingeniería en Procesos Biotecnológicos

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniera en Procesos Biotecnológicos

Quito, 04 de mayo de 2020

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**En búsqueda de *Trichinella* spp. en cerdos de traspatio sacrificados en el
camal Municipal del cantón Rocafuerte provincia de Manabí**

Nashell Christina Castillo Benitez

Nombre del profesor, Título académico

Verónica Barragán, PhD. MSc.

Quito, 04 de mayo de 2020

DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Nombres y apellidos: Nashell Christina Castillo Benitez

Código: 00134295

Cédula de identidad: 0550500151

Lugar y fecha: Quito, mayo de 2020

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

Trichinella spp. es un nemátodo que causa triquinelosis, una enfermedad zoonótica cuyos reservorios son mamíferos, principalmente carnívoros y omnívoros. Los animales domésticos que se han asociado con el mayor número de infecciones en humanos son los cerdos, perros y vacas. Una particularidad de los cerdos que viven en las comunidades rurales o periurbanas es que se crían en el patio trasero de las casas de sus dueños. Las personas que crían estos animales tienen un alto riesgo de infección por triquinelosis debido a que la cría se realiza en malas condiciones de infraestructura y no incluye prácticas sanitarias adecuadas. Por tanto, los cerdos viven en contacto cercano con el vector y dispersor principal de *Trichinella* spp. La triquinelosis en humanos ocurre al consumir carne cruda o poco cocida de cerdos infectados con larvas viables. En Ecuador existe una gran producción de carne de cerdo, específicamente en la provincia de Manabí, donde se encuentra el 12,4% de la producción y se estima que el 40% de esta producción proviene de la cría de cerdos de traspatio. Desafortunadamente, en el Ecuador no se han realizado estudios sistemáticos que monitorean la presencia de *Trichinella* spp. en cerdos criados en estas condiciones. El objetivo de nuestro estudio es buscar la presencia de *Trichinella* spp. en cerdos criados en zonas rurales de Rocafuerte, ubicado en Manabí en la costa de Ecuador. Durante julio y agosto de 2018 recolectamos muestras de 70 cerdos en el camal local. La detección de *Trichinella* spp. en muestras musculares (diafragma y base de la lengua) se realizó mediante la técnica de digestión enzimática. Nuestros resultados muestran la ausencia de larvas viables de *Trichinella* spp. en todas las muestras analizadas. Podemos concluir que no existe evidencia que muestre la presencia de *Trichinella* spp. en los cerdos muestreados. Sin embargo, debido al pequeño tamaño de la muestra, recomendamos ampliar este estudio con un tamaño de muestra más grande y confirmar nuestros resultados.

Palabras clave: *Trichinella* spp., cerdos de traspatio, digestión enzimática

ABSTRACT

Trichinella spp. is a nematode that causes trichinellosis, a zoonotic disease whose reservoirs are mammalian, mainly carnivores and omnivorous. Domestic animals that have been associated with the highest number of infections in humans are pigs, dogs and cows. A particularity of pigs from rural or peri-urban communities is that they are raised in the backyard of their owner's houses. People raising these animals have a high risk of trichinellosis infection because animal breeding is performed in poor infrastructure conditions and does not include adequate sanitary practices. Therefore, pigs live in close contact with the main animal vector and disperser of *Trichinella* spp., the rats. Trichinellosis in humans occurs by consuming raw or undercooked meat from pigs infected with viable larvae. In Ecuador, there is a large production of pork meat, specifically in the province of Manabí where 12,4% of national production is found, and it has been estimated that 40% of this production comes from backyard pig rearing. Unfortunately, systematic studies that monitor the presence of *Trichinella* spp. in pigs raised in these conditions have not been performed in Ecuador. The aim of our study is to look for the presence of *Trichinella* spp. in pigs raised in rural areas of Rocafuerte, located at Manabí in the coast of Ecuador. During July and August 2018, we sampled 70 pigs from the local slaughterhouse. The detection of *Trichinella* spp. in muscle samples (diaphragm and base of the tongue) was performed using the enzymatic digestion technique. Our results show the absence of viable *Trichinella* spp. larvae in all analyzed samples. We can conclude that there is no evidence that shows the presence of *Trichinella* spp. in the sampled pigs. However, due to the small sample size, we recommend to expand this study with a larger sample size and confirm our results.

Keywords: *Trichinella* spp., Backyard pigs, enzymatic digestion.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción.....	8
Métodos.....	11
Resultados.....	14
Discusión.....	14
Conclusiones.....	16
Referencias bibliográficas	17

1. INTRODUCCIÓN

Trichinella spp. es un parásito cilíndrico intestinal perteneciente al filo Nematoda. Su morfología consta de un estilete y esticosoma en la zona anterior del cuerpo con una zona posterior redondeada. Las hembras adultas presentan un tamaño entre 3 a 4 mm de longitud y 60 μ m de diámetro (INSST, 2013). La longitud de los machos adultos es aproximadamente la mitad de la longitud corporal de las hembras y en la zona posterior poseen dos apéndices caudales lobulares (Shuguli, K. 2018).

Su transmisión se da tras la ingesta de músculo estriado de un animal que contiene las larvas infectivas. En el estómago el músculo es digerido liberando las larvas infectivas y estas se adhieren a las células epiteliales del intestino delgado (INSST, 2013). En el intestino delgado las larvas completan su crecimiento hasta convertirse en larvas adultas, copulan, luego las hembras depositan las larvas iniciales en esta zona. Las larvas iniciales ingresan por los vasos sanguíneos y se diseminan por la sangre hasta llegar a los músculos estriados donde se convertirán en larvas infectivas, enquistándose en forma de espiral en células del tejido muscular (Shuguli, K. 2018).

Este parásito puede ser transmitido entre animales y entre animales y seres humanos, esta última conocida como zoonosis. Los principales reservorios de este parásito son mamíferos carnívoros de vida silvestre. Sin embargo, los principales mamíferos que infectan a seres humanos con triquinelosis son los cerdos domésticos, esto se da, debido al gran consumo de carne de cerdos. Uno de los principales factores relacionados con la infección de *Trichinella* spp. en cerdos domésticos, es la crianza bajo estándares mínimos de sanidad, esto incluye alimentación intencional con desperdicios alimenticios, acceso de los animales a cadáveres de animales silvestres infectados, ratas y desechos. Otro factor es el pastoreo de campo libre que posibilita el contacto con animales silvestres

posiblemente infectados, lo que incrementa el riesgo de transmisión de animales silvestres a animales domésticos, dando inicio al ciclo doméstico de *Trichinella* spp. (Pozio, E. 2013).

La triquinelosis en humanos es una enfermedad zoonótica causada por la ingesta de carne de cerdo cruda o poco cocida con larvas enquistadas de *Trichinella* spp., esta enfermedad se presenta en tres fases. La fase de incubación que comprende el periodo entre el consumo de la carne infectada y la aparición de los síntomas iniciales (fiebre, cefalea y astenia). La fase de invasión, caracterizada por la presencia de fiebre, cefalea y edema palpebral bilateral. Finalmente, la fase de estado, que presenta síntomas agudos como miositis, mialgias, afecciones gastrointestinales y cutáneas (Builes & Laverde, 2009). La propagación de las larvas puede involucrar el miocardio, pulmón o encéfalo, generando infecciones graves y en ocasiones puede provocar la muerte. El diagnóstico clínico en humanos se puede detectar mediante el incremento de eosinófilos, también al realizar la detección del parásito en biopsia del músculo, ensayos serológicos y análisis de niveles elevados de enzimas en el músculo (Villamil, et. al, 2013).

Por otro lado, los cerdos infectados con *Trichinella* spp. no presentan síntomas característicos de triquinelosis, esto representa un mayor riesgo de infección a humanos, debido a que el animal no será diagnosticado ni recibirá tratamiento (Rossanigo, et. al, 2008). Ante esta situación, para monitorear la presencia del patógeno, se han desarrollado métodos de diagnóstico directo post-mortem con la finalidad de detectar la presencia de larvas en primer estadio en el tejido muscular esquelético (Pozio, E. 2013). Existen varias técnicas de diagnóstico de *Trichinella* spp. en animales, las cuales consisten en métodos directos, moleculares y serológicos. Los métodos directos son triquinoscopía directa y digestión enzimática, esta última es una prueba de referencia o “gold standard” y son aplicados post-mortem. Los métodos moleculares permiten la identificación de especies

y genotipos de *Trichinella* spp, a partir de larvas detectadas en tejido muscular. Finalmente, los métodos serológicos como ensayos ELISA permiten la detección de anticuerpos anti-*Trichinella* basados en las proteínas de los productos de excreción secreción de *Trichinella* spp., sin embargo, la técnica de ELISA debe ser confirmada mediante Western Blot, esta técnica es utilizada en granjas como un método de vigilancia (Gajadhar, et. al, 2019).

Siendo los cerdos una fuente importante de infección en humanos, se han realizado múltiples investigaciones referentes a la presencia de *Trichinella* spp. en carne de cerdo (Gottstein, et. al, 2009). La distribución cosmopolita de *Trichinella* spp. se evidencia principalmente en producciones de cerdos de traspatio, debido a que son criados bajo estándares mínimos de higiene y alimentados con residuos y desechos contaminados. Las características de este tipo de crianza están relacionadas con zonas rurales y periurbanas, donde los productores se dedican a la crianza de cerdos en el patio trasero de sus casas, como una fuente de ingresos económicos, en estas zonas los productores no cuentan con instalaciones tecnificadas lo que puede provocar el ingreso de animales infectados, además, no cuentan con controles veterinarios (Nario, M. 2017). Esta realidad se evidencia en muchos países de América Latina y en algunos de estos países como Chile, Argentina y México se ha demostrado que la circulación de *Trichinella* spp. es endémica (Gottstein, et. al, 2009).

En Ecuador, la crianza de cerdos en el traspatio de las casas representa una actividad económica importante y de consumo interno. Es así como el 40% de la producción porcina nacional proviene de cerdos de traspatio (AGROCALIDAD, 2017). A pesar de este alto porcentaje de cerdos criados en condiciones de poca salubridad, *Trichinella* spp. no es un parásito monitoreado por las agencias de control en Sanidad Animal e Inocuidad Alimentaria en los camales del país. Así mismo, se ha realizado poca investigación

científica sobre su circulación en Ecuador. Existe registro de un estudio serológico en el que se ha confirmado la presencia de anticuerpos anti-*Trichinella* en sangre de cerdos (Chávez, et. al, 2005). Sin embargo, estos resultados requieren confirmación mediante métodos de diagnóstico directo, como triquinoscopía directa o digestión enzimática (Gajadhar, et. al, 2019).

Trichinella spp. es un parásito de distribución mundial y su monitoreo es de suma importancia para prevenir la enfermedad en seres humanos (Pozio, E. 2013). En este contexto, considerando la gran producción porcina de traspatio llevada a cabo especialmente en zonas rurales y periurbanas de nuestro país, el presente estudio utiliza la técnica de digestión enzimática para detectar la presencia de *Trichinella* spp. en cerdos del cantón Rocafuerte en la provincia de Manabí. Seleccionamos este cantón debido a que tiene una alta producción de cerdos para consumo local y registra el 72,5% de su población en zonas rurales (INEC, 2010).

2. MÉTODOS

2.1 Muestreo

Las muestras recolectadas provienen de cerdos faenados en el camal Municipal del cantón Rocafuerte provincia de Manabí durante los meses de julio y agosto del año 2018, se consideraron como criterios de inclusión cerdos con características de traspatio (cola no cortada, capa con manchas, pelaje largo, señal de haber sido amarrados con cuerdas o alambres). Las muestras seleccionadas para la búsqueda de *Trichinella* spp. son músculos esqueléticos con gran irrigación sanguínea como pilares del diafragma y base de la lengua, debido a su gran irrigación en este tejido podremos encontrar una mayor concentración de larvas iniciales se conviertan en infectivas enquistándose en forma de espiral. Se recolectó 20g de los pilares del diafragma evitando tomar grasa o tejido

conectivo y 20g del músculo de la base de la lengua evitando tomar papilas gustativas (COLVEMA, 2016). En este estudio se incluyeron 70 muestras de músculo esquelético de cerdos faenados en el camal de Rocafuerte.

2.2 Preparación de las muestras

De acuerdo con criterios internacionales en zonas endémicas para *Trichinella* spp. se realiza el diagnóstico con métodos directos mediante un procesamiento de muestras por cada individuo, mientras que en zonas que reportan casos esporádicos o ausencia de *Trichinella* spp. se recomienda el procesamiento de las muestras formando pools de 10 individuos para optimizar tiempo y reactivos (Shuguli, K, 2018). Tomando en cuenta estos criterios, en el Ecuador no se ha detectado la presencia de *Trichinella* spp. mediante métodos de diagnóstico directo. Es así que, se procesaron pools de 10 muestras de 10 individuos (Shuguli, K, 2018). Cada pool estuvo conformado por muestras de 10 animales: 10g de cada individuo (5g de base de la lengua sin papilas gustativas y 5g del pilar del diafragma sin tejido conectivo ni grasa) con un peso final de 100g. Se trituró esta muestra mediante un procesador de alimentos a velocidad máxima durante 3 segundos por dos ocasiones, con la finalidad de permitir una digestión uniforme del tejido muscular (Gamble, et al, 2000).

2.3 Digestión enzimática de muestras musculares

La digestión de cada pool fue realizada con una solución de pepsina y HCl como se describe a continuación. Inicialmente se realizó la preparación de la solución digestora precalentando agua corriente con ayuda de un agitador magnético con control de temperatura (MTOPOS, Tailandia), la temperatura debe oscilar entre 46°- 48°C, este rango de temperatura garantiza la actividad enzimática de la pepsina. Posteriormente se añadió 16 ml de HCl al 25% y 10g de pepsina (Mayer, et. al, 2017).

El proceso de digestión enzimática se mantuvo a una temperatura entre 46°- 48°C

durante 60 minutos (Mayer, et. al, 2017). Tras finalizar la primera digestión enzimática se ejecutó la primera decantación durante 60 minutos. El residuo filtrado se sometió a una segunda digestión enzimática, empleando la solución digestora a una temperatura de 46°-48°C durante 60 minutos (Wang, et. al, 2011). Tras finalizada la segunda digestión enzimática se ejecutó su decantación durante 60 minutos. Una vez finalizada la segunda decantación se estimó el valor del residuo (cantidad de tejido que no se digirió) a través de diferencias de pesos, para determinar si el proceso de digestión enzimática se ejecutó correctamente, este valor debe ser <5% del peso del pool de las muestras (100g) (OIE, 2013). Caso contrario, se repitió la digestión enzimática hasta obtener el valor del residuo deseado.

Se recolectó el material decantando (solución digerida probablemente con larvas viables) en 2 tubos de ensayo que fueron mantenidos en posición vertical por 10 minutos, para permitir la precipitación de las larvas que podrían haber quedado en suspensión. Posterior a esto se realizó un lavado del material digerido, retirando el sobrenadante y colocando agua. Nuevamente se mantuvo los tubos en posición vertical por 10 minutos, por último, se descartó el sobrenadante y se observó al microscopio la solución resultante (Laverde, et. al, 2009).

2.4 Análisis en el microscopio

En una caja Petri cuadrículada de 2ml, se colocó 1ml de la solución resultante en cada cuadrícula y se observó al microscopio cuadrante por cuadrante con un aumento de 15-20X. En caso de encontrar larvas se aumenta la ampliación a 40-100X. Finalmente, se retira las larvas y se colocan en un tubo con etanol al 90%. Si el resultado del pool de muestras es positivo para larvas de *Trichinella* spp. se debe repetir el análisis por separado de cada una de las muestras del pool. De esta manera se puede determinar qué muestras del pool son positivas (Beck & Marinculi, 2005).

3. RESULTADOS

El análisis de 70 muestras provenientes de cerdos con características de traspatio faenados en el camal Municipal del cantón Rocafuerte provincia de Manabí, evidenció la ausencia de larvas de *Trichinella* spp. en los cerdos muestreados. El detalle de cada uno de los pools se observa en la tabla No. 1.

Tabla No.1 Análisis de la presencia de *Trichinella* spp. en cerdos.

Nº pool	Código	Fecha de muestreo	Características de traspatio	Resultado
1	R171-R179	julio-agosto 2018	Sí	Negativo
2	R230-R239	julio-agosto 2018	Sí	Negativo
3	R240-R249	julio-agosto 2018	Sí	Negativo
4	R250-R259	julio-agosto 2018	Sí	Negativo
5	R260-R269	julio-agosto 2018	Sí	Negativo
6	R270-R279	julio-agosto 2018	Sí	Negativo
7	R280-R289	julio-agosto 2018	Sí	Negativo

4. DISCUSIÓN

Trichinella spp. es un parásito de distribución mundial que se ha adaptado a cerdos domésticos y salvajes. El monitoreo de este parásito en carne de cerdo es importante para prevenir la triquinelosis humana. Son escasos los estudios que se han realizado en Ecuador sobre este parásito (Chávez, et. al, 2005).

Nuestros resultados evidencian la ausencia de larvas viables de *Trichinella* spp. en los pools analizados que fueron recolectados en el cantón Rocafuerte provincia de Manabí, esto concuerda con el estudio realizado por Chávez, *et. al*, en el que se analizó 646 muestras recolectadas en el sur de los Andes ecuatorianos, el análisis que se realizó mediante digestión enzimática, mostró ausencia de larvas viables de *Trichinella* spp. Otro estudio que concuerda con nuestros resultados es el estudio por Shuguli, K. *et. al*. en el cual se analizaron 720 muestras procedentes del cantón Mira provincia del Carchi (al norte de la sierra ecuatoriana), el análisis se realizó mediante digestión enzimática, este análisis evidenció ausencia de *Trichinella* spp. (Shuguli, K. 2018).

Sin embargo, en el mismo estudio realizado por Chávez, *et. al*, se hicieron análisis mediante métodos serológicos basados en ELISA, y evidenció presencia de anticuerpos anti-*Trichinella* en los cerdos muestreados, lo que demuestra la circulación del parásito (Chávez, *et. al*, 2005).

A pesar de haber encontrado evidencia de la presencia de *Trichinella* spp. en cerdos de traspatio mediante la técnica ELISA, e independientemente de que los ensayos ELISA utilizan antígenos de excreción-secreción (E/S) para incrementar la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de *Trichinella* spp., este método requiere una confirmación por otros métodos diagnósticos (Flores, *et. al*, 2006).

Considerando esto, los resultados encontrados en el estudio realizado por Chávez, *et. al*, en el que se detectan cerdos de traspatio positivos para *Trichinella* spp., pero sin presencia de larvas viables mediante digestión enzimática, podría explicarse debido a la exposición previa a *Trichinella* spp. o a ensayos ELISA que presentan reacciones cruzadas con antígenos de otros parásitos intestinales en cerdos (*Taenia solium*, *Ascaris suum* y *Trichuris suis*) (Riva, *et. al*, 2007). Esta deducción se fortalece ante la presencia de cisticercosis porcina en Ecuador (Peñate, R. 2008).

A pesar de los resultados observados no se puede descartar la circulación de *Trichinella* spp. en los cerdos de traspatio muestreados debido al tamaño de la muestra de este estudio, además es necesario considerar el alto riesgo de infección que representan los cerdos de traspatio, ya que son criados sin condiciones sanitarias adecuadas exponiéndolos a una alimentación con residuos alimenticios contaminados, ratas posiblemente infectadas, cadáveres de otros animales que podrían estar infectados y contacto con animales silvestres (Pozio, E. 2013). Ante esto, es de gran importancia la realización de un estudio sistemático que permita evaluar la presencia de *Trichinella* spp. en Ecuador, considerando el riesgo para la salud humana que representa la triquinelosis.

5. CONCLUSIÓN

Se evidencia ausencia de la circulación de *Trichinella* spp. en las 70 muestras de cerdos de traspatio provenientes del cantón Rocafuerte provincia de Manabí, en el periodo de muestreo de julio y agosto del 2018. Sin embargo, debido al tamaño de la muestra es necesario realizar un nuevo estudio con un mayor número de animales para confirmar la hipótesis planteada en este estudio.

Referencias bibliográficas:

- AGROCALIDAD, (2017). Manual de aplicabilidad de buenas prácticas porcícolas. Recuperado el 04 de abril del 2020 de <http://www.agrocalidad.gob.ec/documentos/dia/manual-buenas-practicas-porcicolas-24-01-2017.pdf>
- Beck, R. & Marinculi, A. 2005. Comparison of trichinelloscopy with a digestion method for the detection of *Trichinella* larvae in muscle tissue from naturally infected pigs with low level infections. *Veterinary Parasitology*. 132: 97-100
- Builes, L., & Laverde, L. (2009). Triquinelosis una zoonosis parasitaria. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 133-134.
- Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid, (2016). Investigación de triquina en carne. Obtenido de <http://www.madrid.org/bvirtual/BVCM017937.pdf>
- Chávez-Larrea, M. A., Dorny, P., Moeller, L., Benítez-Ortiz, W., Barrionuevo-Samaniego, M., Rodríguez-Hidalgo, R., ... & Kapel, C. (2005). Survey on porcine trichinellosis in Ecuador. *Veterinary parasitology*, 132(1-2), 151-154.
- Flores L., Amilcar A., & Rodriguez H., Patricia. (2006). Estandarización de la prueba de ELISA para el inmunodiagnóstico de hidatidosis humana empleando antígenos de producción local. *Gaceta Médica Boliviana*, 29(1), 5-10. Recuperado el 15 de abril de 2020, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662006000100002&lng=es&tlng=es.
- Gajadhar, Alvin & Noeckler, Karsten & Boireau, Pascal & Rossi, Patrizia & Scandrett, Brad & Gamble, H. (2019). International Commission on Trichinellosis: Recommendations for quality assurance in digestion testing programs for *Trichinella*. *Food and Waterborne Parasitology*. 16. e00059. 10.1016/j.fawpar.2019.e00059.
- Gamble, H. R., et al. International Commission on Trichinellosis: recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Vet. Parasitol.* 93 (3-4), 393-408 (2000).
- Gottstein, Bruno & Pozio, Edoardo & Nöckler, Karsten. (2009). Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control of Trichinellosis. *Clinical microbiology reviews*. 22. 127-45, Table of Contents. 10.1128/CMR.00026-08.
- INEC, (2002). III Censo Nacional Agropecuario. Recuperado el 04 de abril del 2020 de https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Estadisticas_agropecuarias/CNA/Tomo_CNA.pdf
- INEC, (2010). Fascículo provincial Manabí. Recuperado el 04 de abril del 2020 de <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Manualateral/Resultados-provinciales/manabi.pdf>
- INSST, (2013). *Trichinella* spp. Recuperado el 22 de enero del 2020 de <https://www.insst.es/documents/94886/354041/TrichinellaSpp.pdf/51a5f880-f5cd-4617-adc1-84574d68eb78>
- Laverde, et. al, (2009). Detección de *Trichinella spiralis* en cerdos faenados en dos plantas de beneficio en el municipio de Bello. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 47-56
- Mayer-Scholl, A., Pozio, E., Gayda, J., Thaben, N., Bahn, P., & Nöckler, K. (2017). *Magnetic Stirrer Method for the Detection of Trichinella Larvae in Muscle Samples*. *Journal of Visualized Experiments*, (121). doi:10.3791/55354

- Nario, M. (2017). Caracterización de la crianza porcina de traspatio en el distrito de San Antonio-Huaro-chiri. Recuperado el 04 de abril del 2020 de http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/URP/1422/Nario_mj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Nöckler, K & Reckinger, S & Szabó, I & Maddox-Hyttel, C & Pozio, E & Giessen, J & Vallée, Isabelle & Boireau, Pascal. (2008). Comparison of three artificial digestion methods for detection of non-encapsulated *Trichinella pseudospiralis* larvae in pork. *Veterinary parasitology*. 159. 341-4. 10.1016/j.vetpar.2008.10.075.
- Peñate, R. (2008). Comparación de la técnica modificada de formalina detergente contra McMaster, para el diagnóstico de parásitos gastrointestinales y pulmonares en cerdos de traspatio del municipio de san Agustín Acasaguastlán, el Progreso. Recuperado el 15 de abril del 2020 de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/7223/>
- Pozio, Edoardo. (2013). Searching for *Trichinella*: Not all pigs are created equal. *Trends in parasitology*. 30. 10.1016/j.pt.2013.11.001.
- Riva, E., Steffan, P. E., & Fiel, C. A. (2007). Trichinellosis: Aspectos múltiples de una zoonosis global. *Mejoramiento del control de la trichinellosis. FAO América Latina y el Caribe, Roma. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*, 94-109.
- Rossanigo, Carlos & L., Estelrich & J., Arroqui & G., Pequeño & D., Barzola & M., Gioda & P., Amieva & F., Adaro & A., Salvagno & I., Salvagno. (2008). Prevalencia de trichinellosis en cerdos faenados en la provincia de San Luis. 10.13140/RG.2.2.11475.37927.
- Shuguli, K. (2018). Determinación de la presencia de *Trichinella spiralis* en porcinos (*sus scrofa domesticus*) por digestión artificial en la Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito”. Recuperado el 22 de enero del 2020 de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/14920/1/T-UCE-0014-061-2018.pdf>
- Villamil, Javier & Krivokapich, Silvio & Ribicich, Mabel. (2013). Análisis epidemiológico de trichinellosis en humanos y jabalíes del Departamento de Utracán, La Pampa, Argentina. *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes*. 8. 16-19.
- Wang, Guo-Ying & Du, Jing-Fang & Dun, Guo-Qing & Sun, Wei-Li & Wang, Jin-Xi. (2011). Evaluation of artificial digestion method on inspection of meat for *Trichinella spiralis* contamination and influence of the method on muscle larvae recovery. *Zhongguo xue xi chong bing fang zhi za zhi = Chinese journal of schistosomiasis control*. 23. 211-3
- World Organisation for Animal Health, (2013). Principles and methods of validation of diagnostic assays for infectious diseases. https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/chapitre_validation_diagnostics_assays.pdf