

PROCEDIMIENTO DE SCREENING DE *TRICHINELLA* spp. CON LOS MÉTODOS DE DETECCIÓN DEL REGLAMENTO (CE) 2075/2005



Xavier Fàbregas i Comadran

xfabregues@hotmail.com

Sant Cugat del Vallès, 19/05/2011

CONSIDERACIONES

- **PERSONAL**

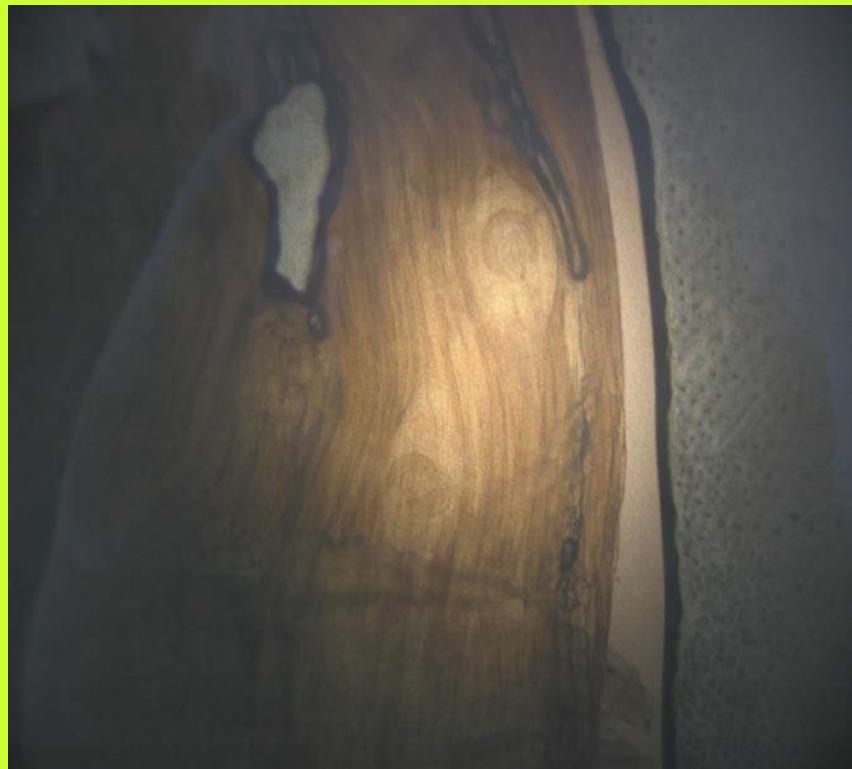
**4 Veterinarios
no investigadores ni docentes**

- **TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

**Metodológico
Limitaciones**



“*Triquinella*: el parásito que quería ser virus”
Despommier



INTRODUCCIÓN (I)

TRIQUINELOSIS: zoonosis emergente/reemergente

- 779 casos humanos UE 2007 / 29 España (EFSA, 2009)
 - Consumo carnes caza **T^a / tiempo**
 - Congelación (Gary-Toussaint, 2005)
 - 35°C / 7 días *T. britovi* NO Insp. Vet.
 - Cocción (Ranque, 2000)
 - “barbacoa” *T. pseudospiralis*
 - *T. britovi, T. nativa, T. genotipo T6*
 - **Consumo carnes caza (EFSA, 2009)**

INTRODUCCIÓN (II)

LEGISLACIÓN NPH

Reglamento 2075/2005 normas controles oficiales presencia triquinas en la carne (DOCE L 338: 60-78)

- Especificaciones (I):
 - aumentos 30-40x **Sospecha: 80-100x**
 - t examen: mínimo 6'/placa
 - animales/jornada: máximo 10 (10x3 placas = 30 pl)

INTRODUCCIÓN (III)

LEGISLACIÓN NPH

Reglamento 2075/2005

- **Especificaciones (II):**
 - peso muestra carne en fresco: mínimo 10 g
 - peso muestra carne congelada: mínimo 5 g
 - Digestión
 - peso mínimo 5 g
 - satisfactoria: < 5% peso muestra inicial en tamiz

INTRODUCCIÓN (IV)

LEGISLACIÓN NPH

Reglamento 2075/2005

- Especificaciones (III):
 - Compresión
 - peso mínimo 3 g/muestra de carne
 - 28 fragmentos (grano trigo)/placa Peso total = 1 g
 - examen 3 placas/muestra (3x1 g)

INTRODUCCIÓN (V)

INVESTIGACIÓN DE TRIQUINAS

- **Fiabilidad detección (Fàbregas, 2001):**
 - ms elección ees animal diana
 - peso muestra carne
 - grado de infestación / LPG
 - método investigación (3)





INTRODUCCIÓN (VI)

INVESTIGACIÓN DE TRIQUINAS

- Otros factores (Fàbregas, inédito):
 - equipo: marca / modelo / año fabricación
 - aumentos
 - tiempo visualización
 - experiencia observador
 - presencia quiste



INTRODUCCIÓN (VII)

Objetivo: localizar y caracterizar muestras + T.

1. Detectar L/Q en muestras de músculo por digestión/compresión:

especificaciones / limitaciones

2. Cuantificar grado infestación LPG

3. Identificar taxonómicamente ees T localizadas

T. spiralis / T. britovi / T. Pseudospiralis?

MATERIAL Y MÉTODOS (I)

MATERIAL

- n muestras de músculo
 - congeladas (-18°C)
 - identificadas individualmente / correlacionadas:
 - datos biológicos / geográficos
- carne cerdo comercial (T -)
- fichas control compresión / digestión
- nevera isotérmica / congelador / equipo informático (Excel)

MATERIAL Y MÉTODOS (II)

MÉTODOS

- 2 equipos: experiencia / entrenados conjuntamente
 - A: 3 veterinarios
 - sólo 2 examinadores
 - trabajan en colaboración o no
 - triquinoscopio OPTIC'S PEDRET 60x
 - B: 1 veterinario
 - triquinoscopio OPTIC'S PEDRET GT2000A 60x / 100x
- Clasificación muestras por peso SARTORIUS ED 224S:
 - < 3 g
 - 3 - 5 g
 - 5 - 8 g
 - > 8 g
- Instrumental, reactivos y procedimientos:
Reglamento 2075/2005

Anexo I: capítulo I y III
Anexo III

MATERIAL Y MÉTODOS (III)

MÉTODOS

Metodología:

- Muestras peso > 5 g: DIGESTIÓN
 - Visualización -
 - Visualización +

COMPRESIÓN: identificación individual +
- Muestras peso < 5 g: COMPRESIÓN: identificación individual
 - Visualización -
 - Muestra en fresco +

Retrocontrol - DIGESTIÓN

ISSR-PCR identificación taxonómica +

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (I)

■ Datos muestras + / Parámetros técnicos investigación:

	Equipo A	Equipo B
Veterinarios (n)	1-3	1
LPG compresión	21	23 /
LPG (cámara McMaster)		20 / 15
Quistes/fragmentos + placa 1 (n/n)	$23/15 = 1.5$	
Quistes/fragmentos + placa 2 (n/n)	$21/15 = 1.4$	
Quistes/fragmentos + placa 3 (n/n)	$19/13 = 1.5$	

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (II)

ISSR-PCR (+)		<i>T. britovi</i> / <i>T. britovi</i>
Preparación M (horas)	10	
Investigación (h)	90	70
Digestión + visualización (n)	15	10
Compresión (n)	44	81
Placas compresión examinadas (n)	132	243
Tiempo examen/placa (minutos)	8	
Coste material fungible: 2 euros/digestión		

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (III)

Recomendaciones

Toma de muestras en necropsias:

- **Disección diafragma completo**
- **Separar mínimo 10 g para investigación**
Trichinella spp. encapsuladas / no encapsuladas
- **Cortar 50 g complementarios para posteriores análisis**
Anexo III Reglamento 2075/2005

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (IV)

Conclusiones

- **Futuros estudios del efecto ciclos congelación-descongelación
SESGOS VISUALIZACIÓN**
- **Fiabilidad de técnica: principal factor limitante
PESO MUESTRA**
- **Cocción tradicional hace seguro consumo carnes caza
ESTOFADO**