



Universidad Nacional de La Plata

Facultad de Ciencias Veterinarias

Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

TRABAJO FINAL INTEGRADOR

**Evaluación de costos de insumos, equipamiento e instalaciones
necesarias para el correcto diagnóstico de trichinellosis por el método de
digestión artificial**

Autora: Med. Vet. Gisela Andrea Giachero

Directora: Dra. Mabel Ribicich

Codirector: Dr. Cesar Iván Pruzzo

ÍNDICE

Resumen:	4
Palabras claves:	4
Introducción:	5
Objetivo general:	11
Objetivos específicos:	12
Materiales y métodos:	12
Toma de muestras:	12
Sensibilidad de la prueba:	13
Descripción de la técnica de la Digestión Artificial:	13
Puntos críticos en la técnica de la Digestión Artificial:	14
Evaluación de costos de insumos, equipamiento e instalaciones necesarias para el diagnóstico de trichinellosis por el método de digestión artificial	15
1) Evaluación de costos básicos para diagnosticar Trichinella en un laboratorio de cercanía.	15
a) Equipamiento:	15
b) Material de vidrio/plástico:	16
c) Instrumental y otros insumos:	16
d) Drogas:	17
e) Total:	17
2) Evaluación de costos realizados en base a un Laboratorio de Referencia para ser admitido en la Red Nacional de Laboratorios	17
a) Equipamiento:	17
b) Material de vidrio/plástico:	18
c) Instrumental y otros insumos:	19
d) Drogas:	20
e) Total	20

Condiciones Generales:	20
Revisión de las condiciones generales edilicias y de las instalaciones:	20
Requisitos generales del equipamiento:	21
Conclusión:	22
Bibliografía:	24

Resumen: La trichinellosis es una enfermedad parasitaria zoonótica que reviste gran importancia epidemiológica, problemas de salud humana y pérdidas económicas importantes. El método diagnóstico correcto para asegurar la aptitud de consumo de carnes en especies involucradas es el de la digestión artificial, la cual puede realizarse de manera individual o en grupos de muestras. En el presente trabajo se realiza un análisis de costos, basado en una recopilación de datos acerca de insumos y equipamientos, diferenciando los mismos en el caso de montar un laboratorio de cercanía y en el de uno de referencia; como así también una revisión de las condiciones para la instalación de un laboratorio de procesamiento de muestras para la digestión artificial, descripción de la técnica, toma de muestra y sensibilidad de la prueba.

Palabras claves: Trichinellosis, diagnóstico, digestión artificial, análisis de costos, laboratorio de cercanía, laboratorio de referencia.

Introducción:

La trichinellosis es una enfermedad parasitaria de carácter zoonótico y distribución mundial, producida por nematodos del género *Trichinella*, que afecta a una gran cantidad de animales, incluyendo mamíferos, reptiles y aves. Los humanos se infectan al ingerir, principalmente, carne de cerdo doméstico o salvaje inadecuadamente cocida o subproductos embutidos. En países europeos, se han reportado casos en humanos por el consumo de carne equina, la mayoría de estos provenientes de Francia, como así también en China y Eslovaquia por consumo de carne canina (Gottstein y col., 2009).

Las hembras adultas de *Trichinella* miden un promedio de 2,2 mm, éstas son vivíparas, y los machos tienen aproximadamente 1,2 mm de longitud; medidas que los ubica entonces entre las especies de nematodos más pequeños (Díaz y col., 2020).

En la actualidad, se reconocen diez especies y por lo menos tres genotipos diferentes con un status taxonómico sin clasificar, divididos en dos clados evolutivos definidos por la presencia o no de cápsula de colágeno que rodea a sus larvas en la célula muscular. Si bien en un principio las clasificaciones estaban basadas en hospedadores, rangos geográficos, caracteres biológicos y presencia o no de cápsula de colágeno, actualmente la biología molecular se ha encargado de mejorar los niveles de identificación y caracterización. Dentro del clado encapsulado encontramos a *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. nelsoni*, *T. britovi*, *T. murrelli* y *T. patagoniensis*. También se incluye a *T. chanchalensis* que, aunque es una especie encontrada en el noroeste de Canadá, presenta más cercanía filogenética con *T. patagoniensis* que con otras especies árticas, y a T6, T8 y T9 con taxonomía no resuelta (Sharma y col., 2020). En el clado no encapsulado encontramos a *T. pseudospiralis*, *T. papuae* y *T. zimbabwensis*, éstas dos últimas capaces de infectar homeotermos y poiquilotermos (Zarlenga y col, 2020). En Argentina la especie que más predomina es *T. spiralis*, pero también han sido encontradas otras especies como *T. pseudospiralis*, *T. britovi* (Krivokapich y col., 2019), siendo ésta desde el punto de vista zoonótico, la segunda especie más importante (Gottstein y col., 2009), y una especie autóctona, *T. patagoniensis* en pumas (Krivokapich y col, 2012).

Podemos reconocer tres fases sucesivas en el ciclo de vida de *Trichinella* tanto en el hombre como en el resto de los hospedadores: entérica, parenteral y de enquistamiento. Es en el estómago donde, por acción de la pepsina y el ácido clorhídrico, se van a liberar las larvas L1 (L1) que se hallaban enquistadas en el músculo estriado consumido y que luego van a invadir la mucosa del intestino delgado durante

la fase entérica. Allí se instalan en las células intestinales y maduran convirtiéndose sucesivamente en L2, L3, L4, y finalmente en vermes adultos, machos y hembras, los cuales van a aparearse dentro de la primera semana post-infección (p.i.). Los machos son eliminados por materia fecal luego de la cópula en tanto que las hembras grávidas comienzan la postura de las larvas recién nacidas (LRN) entre 3 y 5 días (p.i.). Las mismas, tienen un promedio de vida de 4 a 6 semanas antes de ser eliminadas y pueden llegar a producir hasta 1500 larvas en este período. Las LRN liberadas ingresan por vía linfática a la circulación hasta enquistarse en los músculos estriados (Gottstein y col., 2009; Díaz y col., 2020). La fase de enquistamiento comienza entre 10 y 15 días post ingesta. El encapsulamiento en el músculo esquelético estriado se da como producto de la liberación de factores de crecimiento del endotelio vascular que forman sustancias similares al colágeno que van a ayudar a evadir la respuesta inmunológica, como así también a resistir las bajas temperaturas. Como resultado se va a dar la formación de la “célula nodriza”, que va a contener a la L1 (Gottstein y col., 2009; Díaz y col., 2020). La célula nodriza es una estructura única, morfológicamente distinta de cualquier otra célula y su formación consta de dos fases: des-diferenciación de célula muscular y re-diferenciación en célula nodriza. Este proceso se produce entre 14 y 16 días luego de que el parásito haya ingresado a la célula muscular. En la primera etapa se destaca la desorganización de los elementos contráctiles con la desaparición de los filamentos de actina y miosina, la vacuolización de las mitocondrias y el desacoplamiento de la síntesis de ATP de las vías de metabolismo aeróbico. La segunda contiene el agrandamiento de los núcleos de la célula huésped, la angiogénesis y la sobreexpresión de síntesis de colágeno (Despommier, 1993).

En los animales, la trichinellosis cursa de manera asintomática, generalmente, en tanto que en humanos se presentan una gran variedad de signos y es destacable la relevancia de una correcta anamnesis en el diagnóstico precoz para instaurar, prontamente, el tratamiento frente a antecedentes de consumo de embutidos sin rotular o carne sin adecuada cocción. La carga parasitaria presenta relación con las manifestaciones clínicas de la enfermedad, en humanos. Mientras las bajas cargas parasitarias pueden presentarse de manera asintomática, en otros casos suelen presentarse vómitos, diarrea, náuseas y malestar abdominal durante la fase entérica, producto de la evolución y reproducción de los vermes adultos. Estos primeros síntomas ocurren entre 12 horas a 2 días post ingesta. (Gottstein y col., 2009; Díaz y col., 2020). La fase parenteral suele cursar con fiebre, mialgias, anorexia, malestar generalizado, distensión abdominal, disnea y dolor torácico. También se describen edema facial y periorbital, erupciones cutáneas, hemorragias retinianas y subungueales. Son 5 a 7 los

días posibles de incubación de la fase parenteral y siempre en relación a la carga parasitaria. (Díaz y col., 2020). Relacionada a estos síntomas está la respuesta eosinofílica y la liberación de histamina, serotonina y prostaglandinas, responsables de la vasculitis, edema y trombos (Gottstein y col., 2009). Los síntomas en fase enquistamiento pueden implicar mialgia intensa, especialmente en músculos estriados grandes, fiebre y disnea por alteración del funcionamiento del diafragma. Las larvas tienen capacidad de invadir órganos vitales, como cerebro, corazón, riñón, entre otros y, si bien no genera la formación de célula nodriza, no se descarta daño parenquimatoso (Despommier, 1993; Díaz y col., 2020). No obstante, la muerte es rara como desenlace y puede producirse como consecuencia a estos daños y también por sepsis o tromboembolismo. (Díaz y col., 2020). También se describen neumonitis y pleuritis bacteriana en la última etapa de la enfermedad (Gottstein y col., 2009).

La afinidad de las larvas es más pronunciada por aquellos músculos de mayor vascularización, tales como diafragma, lengua y maseteros (Gottstein y col., 2009) como así también psoas, pectoral mayor y glúteo mayor (Díaz y col., 2020).

En relación al ciclo de vida, el mismo es un ciclo biológico estrechamente relacionado al de predador-presa, donde los roedores juegan un rol fundamental en la parasitosis. Al permanecer viables las larvas aún en estado de congelación y en carne en descomposición, un solo animal infectado es capaz de infectar a cientos de otros. La práctica del incorrecto descarte de la carcasa de animales durante la caza y la alimentación con ésta de los perros de caza, favorecen la transmisión de la trichinellosis tanto en animales salvajes como domésticos (Gottstein y col., 2009; Díaz y col., 2020).

En el continente americano, los brotes se han originado fundamentalmente por el consumo de animales de traspatio criados en ambientes poco higiénicos. No obstante, también se han reportado casos por el consumo de carne de animales de caza principalmente en Canadá y EEUU. (Murrell, 2016).

En Bolivia, Brasil y Ecuador se encontraron serologías positivas para *Trichinella* en jabalíes, en tanto que no se reportaron casos humanos en los últimos 15 años. Argentina y Chile son endémicos y Colombia y Uruguay no reportan presencia de *Trichinella* en humanos o animales. En Venezuela, Paraguay, Guayana Francesa, Surinam y Guyana, no hay información al respecto (Ribicich y col., 2021). En Argentina los primeros casos de trichinellosis datan de 1898, principalmente asociados por el consumo de chacinados, donde se destaca la implicancia de la inmigración europea acercando algunas costumbres tales como el consumo de carne cruda y sus preparados, hoy más arraigadas en zonas rurales (Ribicich y col. 2005).

En lo que se refiere a métodos diagnósticos, podemos clasificarlos en directos e indirectos. Dentro de los primeros tenemos la triquinoscopía, hoy en desuso por su baja sensibilidad, y la técnica de digestión artificial. La triquinoscopía o método de compresión, consiste en la observación directa en microscopio óptico y búsqueda de la L1 del parásito luego de la obtención de finos cortes en dirección de las fibras musculares y su posterior compresión. En tanto, la digestión artificial permite garantizar la aptitud sanitaria para el consumo de carnes de especies susceptibles a *Trichinella* principalmente por su mayor sensibilidad. Ello se logra a través de la liberación de las larvas enquistadas, sometidas a un sistema de digestión enzimática in vitro utilizando una solución de pepsina y ácido clorhídrico, evidenciando así las L1 de *Trichinella*, que serán reconocidas y cuantificadas bajo el microscopio. Una ventaja importante de la digestión artificial es que permite diagnosticar varias muestras en simultáneo. Dentro de los métodos diagnósticos indirectos, incluimos a aquellos que detectan una respuesta inmunológica en el hospedero y otorgan una fuerte evidencia de contacto con el parásito. Las técnicas se basan en el principio de que todo anticuerpo específico va a unirse con el antígeno específico y concluirá en la formación de un complejo antígeno-anticuerpo exclusivo (Cruz Estupiñán y col, 2018). La inmunofluorescencia indirecta (IFI) consiste en incubar el suero problema en un sustrato antigénico (células HEp- 2, hígado o riñón de rata) al cual se le añadirá una antiinmunoglobulina marcada con un cromógeno que evidenciará la presencia de anticuerpos, de estar presentes, con el uso de un microscopio de fluorescencia. El ELISA indirecto o enzimoimmunoensayo indirecto consiste en el agregado del suero problema a una fase sólida en la cual se encuentra el antígeno adherido. Para esto se utilizan distintos antígenos de secreción y excreción. Un suero antiespecie con actividad enzimática es agregado a posteriori y, luego de sucesivos lavados, un conjugado capaz de reaccionar con éste, produciendo un cambio de color. La lectura se realiza con un lector de microplacas o espectrofotómetro ELISA. El Western Blot (WB) o Electroinmunotransferencia se basa en la evidencia de la unión antígeno anticuerpo específicos para *Trichinella* por electroforesis. Es una técnica costosa y se utiliza para complementar la herramienta serológica ya que permite discriminar anticuerpos de reacción cruzada (Cruz Estupiñán y col, 2018).

El ELISA indirecto es utilizado como herramienta de vigilancia epidemiológica debido a su alta sensibilidad, en tanto que no es válido como método de diagnóstico individual en el frigorífico ya que, en infecciones incipientes, pueden no detectarse anticuerpos específicos por un periodo variable de 7 a 56 días (Ribicich y col, 2000). Las técnicas moleculares se han desarrollado con el objetivo de identificar las especies

aisladas y los datos son recopilados en los centros de referencia de *Trichinella*, no siendo utilizados de rutina como métodos de diagnóstico, pero están resultando de gran importancia en la clasificación de los genotipos con el uso de PCR y PCR múltiplex (Cruz Estupiñán y col, 2018).

La digestión artificial fue instaurada efectivamente en Argentina, reemplazando la triquinoscopía que había sido utilizada hasta 1996, pero es a partir de 1999 que se dispone la referencia de 5 gramos de músculo diafragmático.. Si bien el diagnóstico se realiza todos los meses del año, la cantidad de notificaciones de brotes de trichinellosis han sido siempre más altos en época invernal debido a que, con el comienzo de las bajas de temperaturas, se organiza la faena domiciliaria en los campos para la elaboración de derivados cárnicos. Se desprende de aquí que hay una estacionalidad marcada en los meses de junio, julio y agosto a causa de una mayor producción de origen doméstico para consumo familiar o venta informal (SENASA, 2021). En tanto estas pautas han estado ligadas a cuestiones culturales y folclóricas de manera invariable en Argentina, en Norteamérica y Europa, la crianza al aire libre ha ido en aumento en los últimos años por exigencia de los consumidores, quienes perciben la idea de un manejo más sustentable y relacionado con el bienestar animal como algo relacionado a un producto más seguro, cuando esto no necesariamente es así (Murrell, 2016). Es en la zona del centro de la República Argentina donde se concentra la mayor parte de la cría de cerdos, en las provincias de Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires, con el 80% de la producción nacional de carne de cerdo. Es precisamente en esta zona donde los casos de trichinellosis humana han sido históricamente encontrados debido al consumo de subproductos sin control veterinario (Ribicich y col., 2005). Los casos de trichinellosis en humanos han ido en aumento en relación al consumo de carne porcina, 6682 casos en humanos fueron notificados entre 2012 y 2018 (Ribicich y col., 2021).

Según el Boletín Epidemiológico 31 del Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires, se notificaron 160 casos en la Provincia de Buenos Aires sospechosos de trichinellosis desde la primer hasta la trigésima primera semana de 2023, de los cuales 38 fueron confirmados, 56 se consideraron probables y 65 continuaron en estudio en el momento de la emisión del Boletín. En tanto es importante mencionar que para el mismo período del año 2022 se habían notificado 210 casos sospechosos, de los cuales se confirmaron 59 casos y 141 quedaron en estudio.

La ausencia de controles veterinarios en criaderos, sumado a condiciones higiénicas deficientes potencia el riesgo de contraer trichinellosis. La prevalencia en zonas donde el control es deficiente, indica la urgencia del mejoramiento de las prácticas

de cría, educación de los consumidores y mayores controles de inspección de carne y accesibilidad a estos (Murrell, 2016).

Considerada una enfermedad endémica, el control de la trichinellosis es potestad del Servicio Nacional de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria (SENASA) y de los Ministerios de Agricultura y Ganadería a través del diagnóstico de la detección del parásito en porcinos, equinos de comercio exterior y subproductos de sus correspondiente carnes, en conjunto éstos últimos con el Instituto Nacional de Alimentos dependiente de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica ANMAT (SENASA, 2021).

La vigilancia epidemiológica en humanos la realiza el ministerio de Salud de la Nación en conjunto con los ministerios provinciales de Salud mediante el Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS). La Ley 15.465 “Régimen legal de las enfermedades de notificación obligatoria” en su resolución 1.715/2007 enmarca a los casos y brotes de triquinosis como eventos de notificación obligatoria, involucrados allí mismo, el médico, el laboratorista y el veterinario (SENASA, 2021).

No obstante, si consideramos que este sistema de vigilancia es aplicado en aquellos criaderos registrados que llevan sus productos al frigorífico, pero que en muchas áreas se lleva a cabo un consumo directo de faena domiciliaria y de criaderos informales, podemos concluir sobre la importancia de establecer y facilitar la implementación diagnóstica a través de un laboratorio de cercanía y el compromiso de las autoridades locales en la difusión de la zoonosis.

SENASA, en su Guía para la prevención y control de la trichinellosis, establece cuatro pilares fundamentales para evitar la infestación en humanos:

- Educación a los consumidores: Se indica que el consumo de carne fresca, ya sea de cerdo o de animales silvestres, como el jabalí o el puma debe realizarse mediante cocción completa hasta que desaparezca el color rosado de la misma, es decir al lograr una temperatura interna mayor a los 71°C que elimine toda viabilidad de las posibles larvas. El consumo de subproductos a base de cerdos (embutidos, salazones y chacinados) debe provenir de establecimientos habilitados por la autoridad sanitaria correspondiente y deberán presentar rótulo con marca, número de lote, fecha de elaboración y vencimiento, identificación del establecimiento elaborador y registro ante autoridad sanitaria.
- Procesamiento adecuado de los alimentos: Se advierte estrictamente tomar precauciones extremas en el consumo de productos de carne cruda (cerdo, animales de caza), bajo cualquier circunstancia. Deberá realizarse el análisis de la digestión artificial y siempre esperar el resultado para elaborar chacinados o

embutidos elaborados con carne de faena domiciliaria. No se consideran seguros los siguientes métodos de preparación de carnes: microondas, curado, secado o ahumado y congelación.

- Inspección de carcasas: Implica la remisión de un mínimo de 20 gr de músculo diafragma para cerdos de faena domiciliaria y la misma cantidad de diafragma para animales provenientes de caza con el objeto de realizar la técnica de digestión artificial. Importa el registro y relevamiento de profesionales e instituciones que realizan la digestión artificial, para facilitar así el acceso por parte de productores familiares.
- Alimentación y crianza adecuada de los animales: Los productores de cría de cerdos de pequeña a gran escala deberán poseer su Registro Nacional Sanitario de Productores Agropecuarios (RENSPA) otorgado por el SENASA. Las condiciones básicas de tenencia, instalaciones, alimentación, condiciones de higiene y control de roedores se encuentran descritas en la Resolución exSAGPyA N° 555/2006.

En el mismo documento se encuentran descritas las medidas recomendadas de eliminación de carcasas de animales de caza con el fin de reducir la prevalencia del ciclo selvático, las cuales prevé y describe las siguientes posibilidades: Enterramiento, cremación y retiro de la carcasa.

Es por ello que se considera relevante que en cada municipio o partido cuente con un laboratorio de referencia y de cercanía para el diagnóstico de esta parasitosis, fundamentalmente para pequeños y medianos productores que crían sus animales para autoconsumo o venta regional.

Objetivo general:

- Brindar una herramienta para el conocimiento de los costos, instalaciones y material necesario para el montaje de un laboratorio de diagnóstico de trichinellosis para pequeños y medianos productores.
- Proveer información accesoria para un Laboratorio de Referencia para ser habilitado en la Red Nacional de Laboratorios.

Objetivos específicos:

- Recopilar datos de costos necesarios para la inversión en el armado de un laboratorio veterinario que ofrezca el servicio de diagnóstico de trichinellosis.
- Presentar las bases normativas concernientes a la instalación y condiciones edilicias requeridas para establecer un laboratorio de diagnóstico de trichinellosis según el SENASA y la Red Nacional de Laboratorios.
- Detallar el listado de insumos necesarios que facilite la búsqueda de información útil para el correcto procedimiento diagnóstico de *Trichinella*.

Materiales y métodos:

La información sobre costos de equipamiento y materiales fue recolectada en empresas de distribución de insumos de laboratorio localizadas en las provincias de Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires. Los mismos fueron obtenidos entre los meses abril y junio del año 2023, y su precio fue solicitado directamente en dólar americano en precio oficial de venta. En los casos en que el precio fue otorgado en pesos se procedió a extrapolar a dólares americanos en precio oficial de venta del mismo día en el que fueron presupuestados, obtenido este dato de la página web del Banco de la Nación Argentina <https://www.bna.com.ar/Personas>. La información sobre instalaciones necesarias para el diagnóstico de *Trichinella* fue obtenida en la página <https://www.argentina.gob.ar/senasa/laboratorios/rednacional-de-laboratorios/inscripcion-rubros-y-formularios>.

Toma de muestras:

En la resolución N°:740/99 SENASA establece el correcto tamaño de la muestra a procesar en faena de rutina, siendo este de 5 gramos por animal para muestras agrupadas y de 20 gramos por animal para muestras individuales. En el caso de la faena de animales sospechosos de *T. spiralis* será de 10 gr por animal para muestras agrupadas y 20 gramos por animal para muestras individuales. No obstante, la muestra extraída deberá tener un peso mínimo de 50 gramos, para que se pueda realizar un nuevo análisis en el caso de pool positivo.

El sitio de la toma dependerá de la especie: En cerdos se especifican los “pilares carnosos de diafragma de la zona de transición entre la parte muscular y tendinosa”. Y en caballo, “lengua, masetero. En el caso de lengua (base de la lengua), separar el estrato córneo y utilizar solamente la musculatura” (SENASA, 2022).

Sensibilidad de la prueba:

El peso mínimo de la muestra de 5 gramos en la especie porcina en frigoríficos, garantiza detectar un número mayor o igual a 1 larva por gramos, lo cual elimina el riesgo de enfermedad para el consumidor y permite liberar la res al consumo. Sin embargo, no implica que la muestra sea negativa.

Descripción de la técnica de la Digestión Artificial:

Los lineamientos para la correcta realización de la técnica de la digestión artificial son descritos por SENASA en el documento “Técnica de digestión artificial en frigoríficos y mataderos de cerdos”.(SENASA, 2022)

El primer paso en el manejo de la muestra consiste en liberar las mismas de grasas y fascias que puedan interferir en la lectura de larvas. Posteriormente se procede al picado breve de la carne en picadora, para luego ser transferida a un vaso de precipitado con la solución de pepsina acidificada al 1%.

Solución de pepsina: Estas cantidades corresponden a la cantidad suficiente para procesar 100 gramos de muestra.

- 1- 1500 ml de agua destilada a una temperatura de 44 a 46°C.
- 2- 15 ml de ácido clorhídrico al 37%
- 3- 15 gramos de pepsina 1/10000

Los pasos para la preparación deberán ser realizados en el siguiente orden: Primero el agua destilada precalentada se coloca en el vaso de precipitado conteniendo la barra magnética, luego se incorpora el ácido clorhídrico, y por último, la pepsina.

El siguiente paso consiste en realizar la digestión: colocada la carne en la solución, se lleva de inmediato al agitador magnético por 30-60 minutos a temperatura de entre 44-46°C, nunca superando por 48 °C para evitar la inactivación de la pepsina, por lo cual deberá controlarse la temperatura permanentemente con termómetro. En el

momento en el que no se observan, porciones de músculo, se considerará por finalizada la digestión.

Posteriormente a la digestión se procede a la recuperación de larvas pasando la totalidad de la muestra por un tamiz a una ampolla de decantación. En el tamiz vuelve a controlarse que no hayan quedado trozos de carne. De ser así, serán transferidos nuevamente a la solución de digestión y se completará el proceso anterior. El tiempo de decantación será de 30 minutos, para luego recolectar 50 ml de esa solución en una probeta.

La clarificación de la muestra es el paso a seguir, dejando decantar la muestra durante 15 minutos. A continuación, serán aspirados 40 ml del sobrenadante con una bomba de vacío o pipeta y los 10 ml restantes, serán agitados suavemente y transferidos para su lectura a una placa. De ser necesario, se volverá a clarificar la muestra, incorporando agua nuevamente hasta completar los 40 ml y repetir los pasos de reposo y aspiración de sobrenadante.

La lectura es el último paso. La presencia de una sola larva ya considera el resultado como positivo.

Puntos críticos en la técnica de la Digestión Artificial:

- La recolección e identificación de muestras deberá seguir un sistema verificable de modo que la identificación del animal positivo sea inequívoca.
- El orden de los ingredientes en la preparación del líquido de digestión, como ya mencionamos, es punto clave para evitar la inactivación de la pepsina.
- La temperatura por debajo de los 44°C enlentece el tiempo de digestión, en tanto que por encima de los 46°C aumenta el riesgo de inactivación de la pepsina y destrucción de las larvas.
- Respetar los tiempos de sedimentación es crucial, ya que acortarlos podría derivar en menor tasa de recuperación larvaria.
- La correcta clarificación es fundamental para la apropiada visualización de las larvas.
- El método de observación óptica deberá tener un aumento de 60x.
- Es fundamental y obligatorio procesar las muestras antes de la liberación de las carcasas, para evitar la desnaturalización de los casos positivos y su posible consumo.

- Las muestras no procesadas en el día deberán ser refrigeradas previo correcto acondicionamiento.

Evaluación de costos de insumos, equipamiento e instalaciones necesarias para el diagnóstico de *Trichinella* spp. por el método de digestión artificial

La siguiente evaluación ha sido presupuestada de dos formas:

1. Evaluación de costos básicos para diagnosticar *Trichinella*: Considera los insumos básicos para diagnosticar correctamente *Trichinella* en un pequeño laboratorio de cercanía.
2. Evaluación de costos realizados en base a un Laboratorio de Referencia para ser admitido en la Red Nacional de Laboratorios.

En ambos casos no se incluyeron costos estructurales de edificación, ni los que corresponden a la habilitación de cualquier comercio (matafuegos, etc.). El precio de los materiales y drogas se cotizó en varias distribuidoras, por lo que el resultado ofrecido es un promedio.

1) Evaluación de costos básicos para diagnosticar *Trichinella* en un laboratorio de cercanía.

En este caso se consideró importante sólo contemplar los gastos indispensables para el diagnóstico de *Trichinella*, bajo el supuesto de un muestreo no mayor a 15 muestras por día, por lo cual sólo se incluyó un solo instrumento de magnificación.

a) Equipamiento:

CONCEPTO	PRECIO UNITARIO(u\$s)	CANTIDAD	SUBTOTAL
Agitador magnético, con platina térmica Regulación de velocidad: 0-1500 rpm. Rango de temperatura (platina): desde ambiente +5°C hasta 100 °C. Precisión: ±3°C. Diámetro de la placa: 11,5 cm. Consumo: 40W en rotación, 250W con temperatura. Alimentación: 220V 50Hz.	194,50	1	194,50

Lupa estereoscópica binocular. Cabezal binocular con distancia interpupilar variable de 55 - 75 mm. Par de oculares WF 10x/23. Sistema Zoom de 0.63x a 5x. Distancia de trabajo 110mm. Aumentos totales 50x. Iluminación LED transmitida e incidente, ambas regulables en intensidad.	1514,00	1	1514,00
Balanza granataria, sensibilidad 0,1 g, pesada mínima 100 gr	261,00	1	261,00
Picadora de carne eléctrica, de capacidad mínima de 200 gr potencia 250V	60,00	1	60,00
Reloj de mesada de 0 a 60'	13,50	1	13,50
TOTAL EQUIPAMIENTO			2043,00

b) Material de vidrio:

CONCEPTO	PRECIO UNITARIO(u\$s)	CANTIDAD	SUBTOTAL
Vasos de precipitado de 3000 ml. de capacidad, vidrio borosilicato, graduado, con pico.	37,43	3	112,29
Probetas de vidrio borosilicato, graduadas, con pico, con base plástica de 50 ml.	5,56	6	33,36
Ampollas cónicas de decantación, modelo Squibb, de 2000 ml de capacidad, con robinete de teflón.	252,00	1	252,00
Pipetas graduadas de 25 ml	5,50	2	11,00
Pipetas graduadas de 10 ml	3,04	2	6,08
Pipetas graduadas de 5 ml	2,99	4	11,96
TOTAL MATERIALES DE VIDRIO			426,69

c) Instrumental y otros insumos:

CONCEPTO	PRECIO UNITARIO(u\$s)	CANTIDAD	SUBTOTAL
Tijera de disección de acero inoxidable y punta recta	9,43	2	18,86
Pinza anatómica de acero inoxidable sin diente.	10,85	2	21,7
Probeta con pico, graduada, de 2.000 ml.	45,72	1	45,72
Tamiz de malla de acero inoxidable N°80 (177 micrones) de 11 cm. de diámetro	383,00	1	383,00

Barra magnética de 4 cm de largo por 0.7 cm. de diámetro, lisas, revestidas en teflón.	10,67	1	10,67
Papel de aluminio, rollo de 28 cm. de ancho por 5 metros.	0,20	1	0,20
Embudo 12 cm.	0,34	5	1,70
Placas de Petri	8,29	4	33,16
TOTAL INSTRUMENTAL Y OTROS INSUMOS			515,01

d) Drogas:

CONCEPTO	PRECIO UNITARIO(u\$s)	CANTIDAD	SUBTOTAL
Pepsina 1:10.000, con certificado analítico. Frasco 100 gr	256,00	1	256,00
Ácido clorhídrico 36,6%-37 N fumante Fco. X 1000 ml.	14,56	1	14,56
TOTAL DROGAS			270,56

e) Total:

CONCEPTO	SUBTOTAL
Total equipamiento	2043,00
Total material de vidrio	426,69
Total Instrumental y otros insumos	515,01
Total drogas	270,56
TOTAL	3255,26

2) Evaluación de costos realizados en base a un Laboratorio de Referencia para ser admitido en la Red Nacional de Laboratorios

Para la realización de la búsqueda y análisis de costos de estos materiales se han establecido las siguientes pautas:

Dos instrumentos de magnificación, los de menor costo, para el supuesto de desperfecto o mantenimiento de uno de ellos.

Cantidad de material de vidrio e instrumental necesario para procesar más de 50 muestras diarias.

a) Equipamiento:

CONCEPTO	PRECIO UNITARIO(u\$s)	CANTIDAD	SUBTOTAL
----------	-----------------------	----------	----------

Agitador magnético, con platina térmica Regulación de velocidad: 0-1500 rpm. Rango de temperatura (platina): desde ambiente +5°C hasta 100 °C. Precisión: ±3°C. Diámetro de la placa: 11,5 cm. Consumo: 40W en rotación, 250W con temperatura. Alimentación: 220V 50Hz.	194,50	2	389,00
Lupa estereoscópica binocular. Cabezal binocular con distancia interpupilar variable de 55 - 75 mm. Par de oculares WF 10x/23. Sistema Zoom de 0.63x a 5x. Distancia de trabajo 110mm. Aumentos totales 50x. Iluminación LED transmitida e incidente, ambas regulables en intensidad.	1514,00	2	3028,00
Balanza granataria, sensibilidad 0,1 g, pesada mínima 100 gr	261,00	1	261,00
Picadora de carne eléctrica, de capacidad mínima de 200 gr potencia 250V	60,00	1	60,00
Reloj de mesada de 0 a 60'	13,50	2	27,00
TOTAL EQUIPAMIENTO			3765,00

b) Material de vidrio

CONCEPTO	PRECIO UNITARIO(u\$s)	CANTIDAD	SUBTOTAL
Vasos de precipitado de 3000 ml. de capacidad, vidrio borosilicato, graduado, con pico.	37,43	6	224,58
Vasos de precipitado de 1000 ml. de capacidad, vidrio borosilicato, graduado, con pico.	9,74	2	19,48
Vasos de precipitado de 500 ml. de capacidad, vidrio borosilicato, graduado, con pico.	6,11	2	12,22
Probetas de vidrio borosilicato, graduadas, con pico, con base plástica de 50 ml.	5,56	12	66,72
Ampollas cónicas de decantación, modelo Squibb, de 2000 ml de capacidad, con robinete de teflón.	252,00	5	1260,00
Ampollas cónicas de decantación, modelo Squibb, de 1000 ml de capacidad, con robinete de teflón.	58,60	2	117,20
Ampollas cónicas de decantación, modelo Squibb, de 500 ml de capacidad, con robinete de teflón.	47,76	2	95,52

Ampollas cónicas de decantación, modelo Squibb, de 250 ml. de capacidad, con robinete de teflón.	42,49	6	254,94
Pipetas graduadas de 25 ml	5,50	2	11,00
Pipetas graduadas de 10 ml	3,04	2	6,08
Pipetas graduadas de 5 ml	2,99	4	11,96
Atomizador 1 litro	0,19	2	0,38
TOTAL MATERIALES DE VIDRIO			2173,14

c) Instrumental y otros insumos:

CONCEPTO	PRECIO UNITARIO(u\$s)	CANTIDAD	SUBTOTAL
Tijera de disección de acero inoxidable y punta recta	9,43	2	18,86
Pinza anatómica de acero inoxidable sin diente.	10,85	2	21,70
Mango de bisturí N ° 4	3,18	2	6,36
Hojas de bisturí N ° 24, caja por 100 unidades.	8,37	1	8,37
Propipetas de goma	7,90	4	31,60
Probeta con pico, graduada, de 2.000 ml.	45,72	1	45,72
Tamices de malla de acero inoxidable N°80 (177 micrones) de 11 cm. de diámetro	383,00	4	1532,00
Barra magnética de 7 cm de largo por 1 cm. de diámetro, lisas, revestidas en teflón.	17,17	4	68,68
Barra magnética de 4 cm de largo por 0.7 cm. de diámetro, lisas, revestidas en teflón.	10,67	6	64,02
Papel indicador de pH, rango de 1 a 3, caja para 100 determinaciones	7,47	1	7,47
Papel de aluminio, rollo de 28 cm. de ancho por 5 metros.	0,20	1	0,20
Manguera de silicona de 1 cm. de diámetro externo por 2 metros.	10,50	1	10,50
Vasos de vidrio, lisos, capacidad aprox. 300 ml, caja por 6 unidades.	20,86	1	20,86
Embudo 12 cm.	0,34	5	1,70
Manguera de silicona de 1,5 cm. de diámetro externo por 50 cm.	8,30	1	8,30
Bandejas plásticas 49cm x 35cm x 22 cm	8,29	3	24,87
Placa de Petri	8,29	4	33,16
Juego de Pesas Patrón Clase F2 o M1 de 10 g, 50 g y 100 g, con certificado de calibración	72,00	1	72,00
TOTAL INSTRUMENTAL Y OTROS INSUMOS			1976,37

d) Drogas:

CONCEPTO	PRECIO UNITARIO(u\$s)	CANTIDAD	SUBTOTAL
Pepsina 1:10.000, con certificado analítico. Frasco 100 gr	256,00	1	256,00
Ácido clorhídrico 36,6%-37 N fumante Fco. X 1000 ml.	14,56	1	14,56
TOTAL DROGAS			270,56

e) Total

CONCEPTO	SUBTOTAL
Total equipamiento	3765,00
Total material de vidrio/plástico	2173,14
Total Instrumental y otros insumos	1976,37
Total drogas	270,56
TOTAL	8185,07

Condiciones Generales:

Revisión de las condiciones generales edilicias y de las instalaciones:

SENASA en el documento: "Requisitos para Inscripción en Red de Laboratorios para Análisis de Trichinellosis mediante la Técnica de Digestión Artificial en las Especies Porcina y Equina" especifica acerca de la infraestructura edilicia que deberá incluir el Laboratorio.

Son necesarias dos salas, completamente separadas en compartimentos definidos, y que deberán estar identificadas a tal fin. Estas son:

- Sala de Procesamiento y / o Análisis de muestras
- Sala de Lavado

Ambas deben presentar las siguientes características:

- Pisos, paredes y cielorrasos impermeables y lisos, perfectamente desinfectables y de colores claros.
- Satisfactoria ventilación y, de ser necesario, aire acondicionado que regula la temperatura ambiental entre 18 y 25 °C.

- Se requiere la presencia en el laboratorio de una campana o cabina de extracción que permita el trabajo con ácidos y sustancias corrosivas. La opción a esto es un respirador facial de cara completa con filtros para gases ácidos.
- Las aberturas deberán poseer protectores para prevenir el acceso de insectos.
- El suministro de agua deberá ser necesariamente potable, con acceso a agua fría y caliente.
- El sistema de evacuación de aguas residuales, estará funcionando de acuerdo a las disposiciones municipales y/o provinciales vigentes.
- Los lavatorios estarán correctamente provistos de productos de desinfección y limpieza, como así también de toallas descartables. Todos los lavabos deberán estar provistos de productos de limpieza, desinfección y toallas descartables.

No se admitirá la presencia de objetos ajenos al laboratorio.

Requisitos generales del equipamiento:

En el mismo documento se detallan algunos aspectos generales a tener en cuenta acerca de las condiciones del equipamiento:

- Recipientes para la toma de muestras: Serán necesarias cajas con tapa resistentes a la corrosión, herméticas y que posibilite la aplicación de algún dispositivo de seguridad tal como candado o precinto que garantice la inviolabilidad del contenido, como así también la correcta higiene y desinfección, con 20 compartimentos numerados correlativamente y de manera indeleble. Los compartimentos deben permitir muestras de entre 45 y 50 gramos.
- Heladeras: con un termómetro interno verificado para poder asegurar la conservación de las muestras entre 4° C (cuatro) y 8° C (ocho) grados centígrados.
- Balanza de precisión: Deberá tener una sensibilidad de 0,1 g y pesar dentro del rango necesario para la correcta técnica del análisis. Se debe asegurar su verificación y mantenimiento periódicos.
- Pesas Patrón: Se debe contar con pesas patrón Clase F2 o M1 de 10 g, 50 g. y 100 g, las cuales deben tener el correspondiente certificado de calibración expedido por calibrador acreditado por el O.A.A. cada 5 años.
- Termómetro patrón: características: de mercurio, de 0°C a 100°C (graduado en 0,5 de grado), calibrado a 10 cm. del bulbo en 43°C, 45°C y 47°C con certificado de calibración expedido por calibrador acreditado por el O.A.A. cada 5 años.

- Termómetro de mercurio: de 0°C a 100°C, con divisiones cada 0,5 de grado, con número de serie, verificado cada 6 meses con Termómetro patrón.
- Instrumento magnificador de imágenes para observación de las muestras: para la observación de los preparados será necesario contar con alguno de los siguientes instrumentos:
 1. Triquinoscopio Modelo Lys o similar, de pantalla con tapa de 50 cm de diámetro y rebatible. El mismo deberá poseer una iluminación provista por una lámpara de 100 W (12 voltios), aumento de 50 a 70 diámetros, imagen de proyección clara y definida, enfoque firme y preciso y cubetas para el recuento de larvas, las mismas grabadas con cuadrados de 1 cm. por 1 cm. en su base y que deberán ajustarse a la medida del soporte.
 2. Microscopio Triquinoscopio: que posea pantalla de 10 cm de diámetro y visera con tubo porta pantalla y ocular interno. Los aumentos deberán llegar hasta 150X y serán requeridas cápsulas de Petri de 5 cm. de diámetro de vidrio o plástico, las cuales estarán grabadas en su base en cuadrados de 0.5 cm. de lado.
 3. Microscopio: deberá alcanzar un rango de 80 (ochenta) a 100 (cien) aumentos. Son necesarias cápsulas de Petri de vidrio o plástico de 5 cm. de diámetro, también grabadas en su base en cuadrados de 0.5 cm. de lado.
 4. Lupa estereoscópica: (con o sin zoom) con oculares de 10X/22 o 10X/23. Serán necesarias cápsulas de Petri de vidrio o plástico de 9 cm. de diámetro y deberán estar grabadas en su base en cuadrados de 1 cm. de lado.

En todos los casos será necesario garantizar el mantenimiento anual del aparato y se destaca la importancia de disponer de otro aparato de repuesto en las mismas condiciones de calidad para prever el caso de desperfectos en todos los instrumentos fundamentales para el procesamiento de las muestras, tales como equipo de magnificación, picadora de carne, etc.

Conclusión:

El presente trabajo pretendió abarcar dos enfoques presupuestarios. El primero, conteniendo los costos básicos de materiales con los cuales es posible diagnosticar de manera efectiva y más económica a *Trichinella spp.*, útil a la hora de contemplar la apertura de un laboratorio de cercanía; y el segundo dirigido a conformar las disposiciones para ser admitido en la Red Nacional de Laboratorios de Ensayo y Diagnóstico del SENASA de los Laboratorios de Establecimientos Faenadores Porcinos

y Equinos, en el Rubro Análisis de Trichinellosis mediante la Técnica de Digestión Artificial.

Rescatamos con este trabajo la importancia de facilitar la instalación de un laboratorio de cercanía, debido a que la mayor cantidad de casos de Trichinellosis en humanos se producen por la faena y realización de embutidos de animales de traspatio sin el debido control y procedimiento diagnóstico. Como así también entendemos la importancia de la difusión de las herramientas educativas correspondientes para concientizar a la población acerca de la seguridad del producto a consumir.

Comprendiendo el concepto de “Una Salud” como un enfoque multidisciplinario, cuyo propósito es el de fomentar la coordinación y la colaboración entre los distintos marcos de gobernanza de los programas de salud humana, animal y medioambiental, entendemos que es posible mejorar la prevención y la preparación para los desafíos actuales y futuros en salud. Si hablamos de enfermedades de transmisión alimentaria estaremos involucrando fuerte e inevitablemente a las tendencias del mercado, la demanda del consumidor y a las políticas económicas y medioambientales que los regulen. Por ello la inocuidad de los alimentos no podrá ser abordada de manera eficaz sin un enfoque de “Una Salud”.

Con el actual ritmo de crecimiento demográfico, la escasamente planificada urbanización, las sucesivas deforestaciones y desmontes, junto con la globalización de los viajes y el comercio; los límites entre la población humana, la población animal de compañía y de cría y la población animal salvaje, han sido completamente desdibujados con respecto a unas décadas atrás y podemos apostar a que así seguirá siendo, con lo cual podemos predecir que se pueden incrementar los riesgos de que los alimentos actúen como vehículos de algunas enfermedades si no se toman las medidas correspondientes.

Muchas de estas enfermedades, generan un gasto y una mayor demanda en el sistema de salud, disminuyen la productividad de las personas, y reducen la producción económica en los países afectados ya que genera desconfianza de los mercados internacionales, pérdidas de alimentos, además de que el comercio y el turismo se ve afectado en consecuencia. Se estima que, en la Región de las Américas, 77 millones de personas se enferman cada año a causa de alimentos contaminados, 31 millones de ellos menores de 5 años, lo que causaría más de 9.000 muertes anuales (OPS, 2021).

Es fundamental comprender los costos asociados con la técnica de la digestión artificial en laboratorios de cercanía, ya que esto permite evaluar la viabilidad económica de implementar esta tecnología. Conocer los costos involucrados ayuda a planificar

adecuadamente el presupuesto, identificar posibles áreas de eficiencia y optimización, y garantizar que los recursos se utilicen de manera efectiva para mejorar tanto la producción de carnes porcinas como la calidad de vida de la población. Además, una comprensión clara de los costos puede facilitar la colaboración entre diferentes actores, como instituciones académicas, empresas y organizaciones sin fines de lucro, para impulsar el desarrollo continuo de esta importante técnica en entornos rurales.

Bibliografía:

- Cruz Estupiñan S, Chavarro Tulcán G, Pulido Medellín M. Métodos de detección de triquinosis en cerdos. Revista LOGOS Ciencia & Tecnología. 2018, 10: 203-211
- Despommier DD. *Trichinella Spiralis* and the concept of niche J Parasitol. 1993 Aug;79(4):472-82
- Diaz JH, Warren RJ, Oster M J. The Disease Ecology, Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Trichinellosis Linked to Consumption of Wild Animal Meat. Wilderness & Environmental Medicine 2020; 31(2): 235e44
- Gottstein B, Pozio E, Nockler K. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. Clin Microbiol Rev. 2009;22(1):127e45.
- Krivokapich SJ, Pozio E, Gatti G, Gonzalez Prous CL, Ribicich MM, Marucci G, La Rosa G, Confalonieri V. *Trichinella patagoniensis* n. sp. (Nematoda), a new encapsulated species infecting carnivorous mammals in South America. Int J Parasitol 2012; 42: 903-10.
- Krivokapich SJ, Gatti GM, Gonzalez Prous CL, Degese MF, Arbusti PA, Ayesa, G E, Bello GV, Salomón MC. Detection of *Trichinella britovi* in pork sausage suspected to be implicated in a human outbreak in Mendoza, Argentina. Parasitol. Int. 2019; 71, 53–55
- Murrell KD. The dynamics of *Trichinella spiralis* epidemiology: Out to pasture? Vet Parasitol 2016 Nov 15; 231:92-96
- Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires. Boletín Epidemiológico 31, 2023, https://www.ms.gba.gov.ar/sitios/media/files/2023/08/Bolet%C3%ADn-epidemiol%C3%B3gico_31.pdf
- Organización Panamericana de la Salud. CD59/9 Una salud: Un enfoque integral para abordar las amenazas para la salud en la interfaz entre los seres humanos, los animales y el medioambiente. 73va sesión del comité regional de la oms para

las Américas. Sesión virtual, del 20 al 24 de septiembre del 2021 Punto 4.6 del orden del día provisional 20 de julio del 2021.
<https://www.paho.org/es/documentos/cd599-salud-enfoque-integral-para-abordar-amenazas-para-salud-interfaz-entre-seres>

- Ribicich MM, Fariña FA, Aronowicz T, Ercole ME, Bessi C, Winter M, Pasqualetti MI, A reprint of: A review on *Trichinella* infection in South America. Vet Parasitol 2021; 297, 109540.
- Ribicich MM, Gamble H, Rosa A, Bolpe J y Franco A. Trichinellosis in Argentina: An historical review. Vet Parasitol 2005; 132: 137 – 142.
- Ribicich MM, Gamble H, Santillan G, Miguez M, Molina V, Guarnera E, Basso N. y Franco A. Proceedings of the Pig Veterinary Society. Evaluation of ELISA test for the diagnosis of porcine trichinellosis. Pig Journal. 2000; 46: 24 - 34
- Servicio Nacional de Sanidad Animal y Control Agroalimentario (SENASA) Guía para la prevención y control de la triquinosis. 2021.
<https://bancos.salud.gob.ar/recurso/guia-para-la-prevencion-y-el-control-de-la-triquinosistrichinellosis-en-la-republica#:~:text=Se%20trata%20de%20una%20zoonosis,Primer%20Edici%C3%B3n%202021>.
- Servicio Nacional de Sanidad Animal y Control Agroalimentario (SENASA). Manual de procedimientos trichinellosis. 2005.
<http://www.senasa.gob.ar/manual-de-procedimientos-trichinelosis>
- Servicio Nacional de Sanidad Animal y Control Agroalimentario (SENASA) Requisitos para Inscripción en Red de Laboratorios para Análisis de Triquinelosis mediante la Técnica de Digestión Artificial en las Especies Porcina y Equina 2022. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/pcp_2coa_ta_54_v1_if-2022-82524512-apn-dla_senasa.pdf
- Servicio Nacional de Sanidad Animal y Control Agroalimentario (SENASA) Técnica de digestión artificial en frigoríficos y mataderos de cerdos. 2022 http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/TECNICA_DIGESTION_ARTIFICIAL.pdf.
- SharmaRajnish Sharma a 1, Peter C. Thompson b 1, Eric P. Hoberg c, W. Brad Scandrett d, Kelly Konecsni d, N. Jane Harms e, Piia M. Kukka e, Thomas S. Jung e f, Brett Elkin g, Robert Mulders g, Nicholas C. Larter h, Marsha Branigan i, Jodie Pongracz i, Brent Wagner a, Pratap Kafle a, Vladislav A. Lobanov d, Benjamin M. Rosenthal b 2, Emily J. Jenkins a 2Hiding in plain sight: discovery and phylogeography of a cryptic species of *Trichinella* (Nematoda: Trichinellidae) in wolverine (*Gulo gulo*). Int J Parasitol 2020; 50(4): 277-287.

- Zarlenga D, Thompson P, Pozio E. *Trichinella* species and genotypes. Res Vet Sci 2020 Dec; 133:289-296.