

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA TÉCNICA DE DIGESTIÓN ARTIFICIAL EN FROGORÍFICOS Y MATADEROS DE CERDOS

La digestión de muestras de tejido muscular en una solución de pepsina con ácido clorhídrico libera larvas de triquinella viva de los quistes musculares.

Instrumental:

Procesadora o picadora de carne
Agitador magnético con platina térmica de temperatura controlada.
Barra magnética o buzo (recubierto con teflón)
Balanza de precisión (sensibilidad 0.1 gramos.)
Termómetro de 0 a 60° C.
Triquinoscopio o lupa (60 aumentos)
Tamices
Cubeta con fondo cuadrículado para la lectura o placas de petri con capacidad de 15 ml.

Material de vidrio:

Embudo de separación cónicos (modelo squibb) con soporte y fijación.
Vasos de precipitados capacidad 2 litros
Probetas graduadas capacidad 100 ml
Embudo para recibir el tamiz
Propipetas y pipetas de 10 y 5 ml

Reactivos:

Pepsina actividad diastásica 1:10.000 N.F. (U.S. National Formulary)
Ácido clorhídrico fumante concentración 37%
Solución formolada al 10 % para inactivar material vidrio y líquido de digestión.

Examen de los cerdos en matadero: En pooles de 100 gramos.

El estudio de triquinosis es un examen de rutina en las carcasas de cerdos usando la digestión en pooles de muestras.

Se utiliza: 5 gramos por animal en faena de rutina

10 gramos por animal en tropas sospechosas.

Por lo tanto en faenas de rutina se analizará cada tropa en pooles de 20 animales por vez, utilizando 5 gramos por muestra.

La faena de tropas provenientes de criaderos interdictados las cuales consideramos sospechosas el análisis se realizara con pooles de 10 animales por vez, utilizando 10 gramos por muestra.

En caso que algún pool de la tropa resultara positivo, el proceso deberá repetirse enteramente, es decir se realizará el análisis del total de animales que componen la tropa, utilizando pooles mas pequeños, de 5 animales, procesando 20 gramos de muestra por animal para aumentar la sensibilidad.

El pool que resultara positivo de esta última observación se deberá abrir en forma individual utilizando 20 gramos por animal hasta que la o las reses positiva sean identificadas.



Se recomienda no mezclar tropas en un mismo pool.

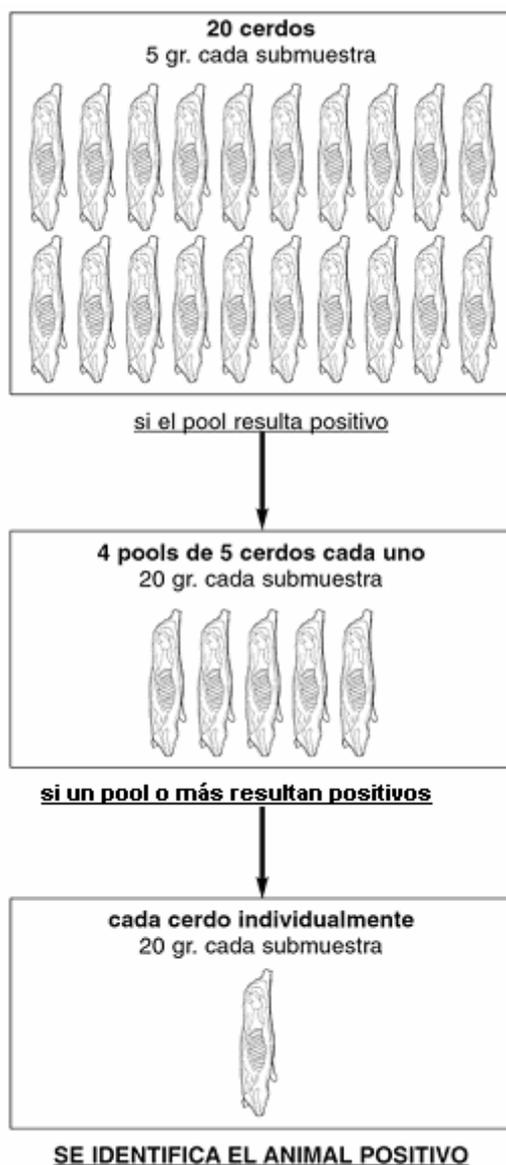


Figura 1

Recolección de muestras:

Las muestras deben ser extraídas de sitios de predilección según especies.

Cerdo: pilares carnosos de diafragma de la zona de transición entre la parte muscular y tendinosa.

Caballo: lengua, masetero En el caso de lengua (base de la lengua) separar el estrato córneo y utilizar solamente la musculatura.

Si se desconocen los sitios de predilección en la especie, lo recomendado es diafragma o lengua.

Tamaño de la muestra debe ser como mínimo 50 gramos de manera que permita realizar un nuevo análisis en caso de resultar el pool positivo.

Las muestras deben ser perfectamente identificadas para poder individualizar la carcasa positiva.



Sensibilidad de la prueba:

En 1 gramo de muestra podrían detectarse un n° mayor o = a 3 larvas por gramo.

En 3 gramos de muestra podrían detectarse un n° mayor o = 1,5 larvas por gramo

En 5 gramos de muestras, podrían detectarse un n° mayor o = a 1 larvas por gramo

Esto explica el aumento en tamaño de la muestra según disposición n° 436/99 que nos permite detectar animales en estadios reciente de enfermedad con menor carga larvaria.

Preparación de la muestra:

Las muestras deben estar totalmente libres de grasa y facies, ya que estos últimos tejidos no contienen larvas e interfieren en la lectura al no ser digeridos

Las muestras deben ser picadas y no molidas ya que esto último puede ocasionar la ruptura de las larvas en el músculo, lo que dificulta su diferenciación.

Se debe transferir la totalidad de la muestra picada a un vaso de precipitado que contiene la solución acidificada.

Preparación de la solución de pepsina acidificada al 1% para 100 gramos de muestra.

1-1500ml de agua destilada a una temperatura de 44 a 46° C.

2-15 gramos de pepsina 1/10000

3-15ml de ácido clorhídrico al 37%

Colocar en un vaso de precipitado en el que se incluye una barra magnética, el agua destilada precalentada a 44 - 46° C., el ácido clorhídrico y por último la pepsina.

La solución debe tener un ph entre 1 y 3 lo que nos permite la activación de la pepsina.

Agregar la muestra picada

Colocar el vaso de precipitado con la solución y la muestrera sobre un agitador. La velocidad de agitación no debe ser excesiva de manera de evitar que el líquido salte fuera del vaso de precipitado provocando contaminación o pérdida de larvas.

Se procede a la digestión durante 30' a una temperatura de 44 a 46 ° C., no excediendo los 48° C porque comienza a inactivarse la pepsina

La temperatura debe controlarse en forma constante usando un termómetro.

La digestión puede considerarse terminada cuando no hay piezas de tejido intactas a la vista en la solución de digestión.

Recuperación de larvas:

Al finalizar la digestión, la totalidad de la mezcla se pasara a través de un tamiz a una ampolla de decantación con un embudo. No deben observarse trozos de carne en el tamiz, si esto ocurriera deben transferirse a una solución de digestión y completarse el proceso.

Se decanta la solución por 30'.

Pasado este tiempo se abre la espita por completo de la ampolla de decantación y se recolectan 40ml de solución en una probeta.

Clarificación de la muestra:

A los 40 ml de la solución extraídos de la ampolla se le agregan 60ml de agua destilada completando un volumen de 100ml. Se deja decantar 15'.

Una vez transcurridos se aspira 90ml del sobrenadante con bomba de vacío.

Los 10ml restantes se agitan suavemente, se transfieren a una placa reticulada y se realiza la lectura en triquinoscopio o lupa. Se recomienda enjuagar la probeta con 1 ml de agua y colocarla en la placa para su lectura.



Si el líquido de digestión no está suficientemente claro, se vuelve a clarificar. Para ello a los 10 ml del sedimento se agrega agua para completar un volumen de 40 ml.

Se deja sedimentar 10'. Se extrae con bomba los 30 ml de sobrenadante. Se procede a la lectura de los 10 ml restantes. Este paso deberá realizarse las veces que sea necesario para obtener un líquido claro. El fluido deberá tener la suficiente claridad de manera que se pueda leer una hoja de diario a través del mismo.

Ver figura 2

Puntos críticos de control: según la Comisión Internacional de Triquinellosis (ICT)

- debe mantenerse un sistema verificable de recolección e identificación de las muestras lo que nos permita la identificación inequívoca del animal positivo.
- el líquido de digestión debe ser preparado de manera que no afecte la actividad de la pepsina es decir, agregar al agua destilada el ácido clorhídrico y luego colocar la pepsina. Este procedimiento evita el contacto directo del ácido sobre la pepsina.
- se debe mantener sobre todo el proceso la temperatura 44 a 46° C. Las temperaturas más altas traerán como resultado la inactivación de la pepsina, digestión incompleta y pobres tasas de recuperación larvaria. Las temperaturas más bajas requieren tiempos más prolongados de digestión.

- los procedimientos y tiempos de sedimentación deben ser respetados. Acortando los tiempos de sedimentación, se reducen las tasas de recuperación larvaria. Cuando se recupera el sedimento de la ampolla, la espita debe ser abierta en su totalidad, pues una apertura parcial de la misma puede ocasionar retención de larvas en la ampolla.
- las muestras digeridas deben clarificarse lo suficiente como para permitir la visualización de las larvas. Si esta clarificación no es correcta no se ven las larvas.
- El método óptico utilizado deberá tener un aumento de 60.
- las muestras de digestión deben examinarse antes de la liberación de las carcasas. Esto es imprescindible para asegurar que las reses positivas se desnaturalicen y no vayan al consumo.
- En caso de que las muestras no sean procesadas en el día, deben ser acondicionadas en envases individuales y refrigeradas.

Sistema verificable de recolección de muestras:

Los animales ingresan a frigorífico con guía de traslado y DTA. En ellos figuran todos los datos de los animales (origen, propietario, señal, etc.)

En el proceso de faena los animales ingresan a la playa por tropa. El orden de las tropas están registradas en la lista de faena. En la zona sucia, después de pasar por la escaldadora, peladora y el repaso, son identificados con un número de orden correlativo, con tinta vegetal violeta. Para los adultos en la parte externa de los dos garrones, para los lechones en la proximidad del garrón, en una de las caras externas de las piernas, en el caso de separar la cabeza del resto del animal deberá identificarse con el mismo número de orden de la res. Este número que corresponde a un animal de determinada tropa es irrepetible en el transcurso del día de faena. Cuando ya las reses han pasado por la zona limpia y se ha realizado el lavado llegan a la balanza. Aquí nuevamente se los vuelve a identificar con el número correlativo, que se encuentra en los garrones, se repite en los brazuelos, se colocan los sellos de clasificación, número de tropa y peso sobre las masas musculares correspondientes a ambas paletas. La colocación de sellos podrá ser reemplazada por etiquetas impresas donde se ubicarán los

4



siguientes datos: nombre del titular de la faena, nombre y número del establecimiento faenador, matrícula del establecimiento, cuit, número de certificado T.P., peso de la media res o res, número de tropa y número de orden o de garrón (tipificación, clasificación y destino comercial) Las etiquetas quedarán totalmente adheridas a la carne, quedando prohibida su fijación mediante hilos, lancetas u otro medio que no implique la adherencia en toda su superficie..En la balanza o palco de clasificación también se hace el romaneo en el cual figura número de orden, peso y categoría.

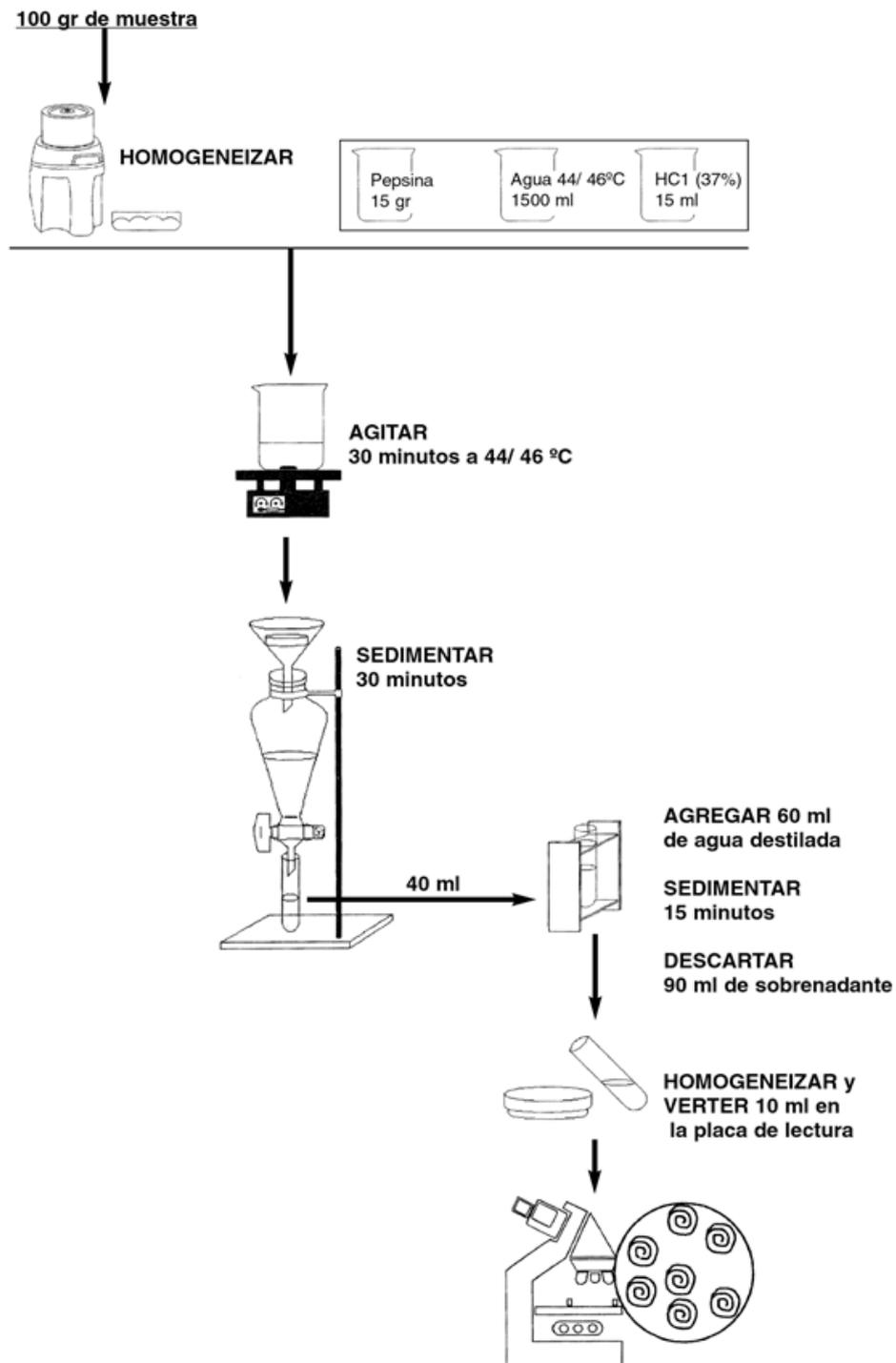


Figura 2

Por lo tanto para identificar el animal positivo tenemos:

Guía de traslado, DTA, lista de matanza, número de tropa, correlativo de orden o de garrón y romaneo.

Las muestras pueden tomarse al momento de la inspección veterinaria o bien en el oreo. Deben colocarse en bandejas divididas en cuadrantes los cuales estarán numerados correlativamente. En el momento de la extracción la muestra deberá colocarse en el cuadrante correspondiente al número de orden de la carcasa.

De esta manera si se debe repetir un análisis para individualizar una carcasa positiva, manteniendo el orden en la extracción y colocándola en la bandeja correspondiente se puede identificar de manera correcta la res positiva.

Confección de un libro foliado de entrada de muestras.

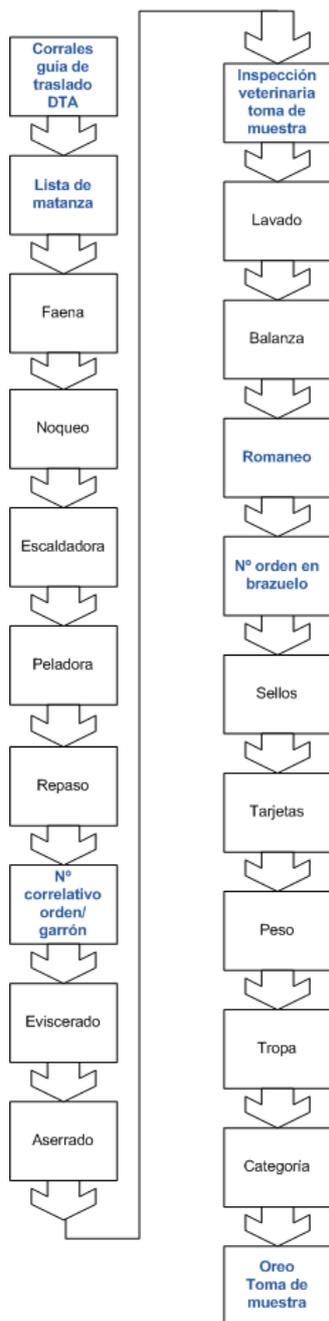
EJEMPLO

Fecha	Nº pool	Nº tropa	Nº garrón / orden	Total animales	Total negativos	Total positivos	Identificación Positivos
21/01	1	128	1 al 20	20	19	1	tropa128 orden 3
21/01	2	128	21 al 40	20	20	0	
21/01	3	129	41 al 60	20	20	0	

Deberá tener un registro de compra de pepsina acompañándolo con la factura correspondiente.



SECUENCIA DE FAENA



**Dirección de Auditoría
Agroalimentaria**
E-mail: auditoria@maa.gba.gov.ar
Tel-Fax: (0221) 429-5450

Laboratorio Central de Ganadería
consultatriquinosis@yahoo.com.ar
Tel/Fax: (0221)470-9965

MINISTERIO DE AGROINDUSTRIA DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

