

## **ANEXO I (Art. 2º)**

### **TÉCNICA DE DIGESTIÓN DE MUESTRAS AGRUPADAS**

#### **CON UTILIZACIÓN DE UN AGITADOR MAGNÉTICO**

##### **a) Toma de muestras:**

1. — Las muestras de músculo tomadas de la canal para las pruebas de digestión deben tener al menos el doble del peso requerido para el examen a fin de permitir el recorte de los tejidos no digeribles.

2. — En muestras individuales, cuando las canales están enteras, tomar una muestra, de aproximadamente CUARENTA Y CINCO (45) gramos, en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa; si no hubiere pilar del diafragma, como alternativa puede tomarse la misma cantidad de muestra de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, de la musculatura de la base de la lengua, de los músculos masticadores o de la musculatura abdominal.

3. — Las muestras deberán liberarse de restos de aponeurosis, grasa y tendones.

4. — Las muestras deberán ser rotuladas e identificadas unívocamente.

##### **b) Conservación de las muestras:**

1.- Las muestras que no sean procesadas en el día de la extracción, deberán ser mantenidas en condiciones de refrigeración (2-8°C) que ralentizan la descomposición pero evitan la congelación; en estas condiciones podrán ser procesadas hasta CUATRO (4) días posteriores a la toma de muestra.

2.- Solo se aceptarán muestras congeladas en caso que provengan de un brote, modificando en consecuencia el tiempo de sedimentación.

##### **c) Instrumental y reactivos:**

1.- Cuchillo, bisturí y pinzas para la toma de muestras.

2.- Bandejas numeradas, con tapa, divididas en VEINTE (20) cuadrados, también numerados, que puedan contener, cada uno, muestras de músculo de CUARENTA Y CINCO (45) gramos, aproximadamente.

3.- Máquina picadora de carne (manual o eléctrica).

4.- Agitador magnético provisto de una placa térmica de temperatura controlada.

5.- Barra magnética (recubierta de teflón) de aproximadamente la mitad del diámetro de la base del vaso de precipitados que se utilice.

6.- Ampolla cónica de vidrio de separación de una capacidad de DOS (2) litros.

- 7.- Soporte con anillos y fijación.
- 8.- Tamiz de acero inoxidable, tamaño de malla aproximadamente 177 micrones (aproximadamente 10 – 12 cm de diámetro)
- 9.- Embudo de vidrio de un diámetro interior mínimo de DOCE (12) centímetros, destinados a recibir el tamiz.
- 10.- Vaso de precipitado de vidrio de TRES (3) litros.
- 11.- Probeta de vidrio graduada de CINCUENTA (50) mililitros de capacidad.
- 12.- Pipeta de vidrio de DIEZ (10) mililitros.
- 13.- Propipeta automática o de goma o bomba de vacío.
- 14.- Triquinoscopio, lupa estereoscópica o microscopio que disponga de una iluminación adecuada y aumento suficiente para la correcta visualización del parásito.
- 15.- Papel de aluminio.
- 16.- Ácido Clorhídrico, calidad analítica.
- 17.- Pepsina: 1:10.000 N.F. (U.S. National Formulary); correspondiente a 1:12.500 B.P. (British Pharmacopea); correspondiente a 2.000 F.I.P.(Federación Internacional de Farmacia) o pepsina líquida estabilizada, con una concentración mínima de 660 unidades de la Farmacopea Europea/ml.
- 18.- Tiras indicadores de pH 1-14
- 19.- Agua destilada.
- 20.- Balanza granataria (sensibilidad máxima  $\pm 0.1$ g)
- 21.- Termómetro apto para el rango de trabajo
- 22.- Placas de Petri grabada en cuadrados de DIEZ (10) por DIEZ (10) milímetros.
- 23.- Cubeta para el cómputo de larvas (en caso de utilización de un triquinoscopio).

d) Método:

Procedimiento de Digestión para CIEN (100) gramos de músculo:

PREPARACIÓN DEL LÍQUIDO DE DIGESTIÓN:

- 1.- A un vaso de precipitado de 3 litros que contenga 2 litros de agua, precalentada a una temperatura de  $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , añadirle 11 ml de ácido clorhídrico 37%. Pueden utilizarse otras formulaciones del ácido siempre y cuando la concentración final de la solución de digestión sea 0,2%.

2.- Colocar una barra magnética en el vaso, y este en la placa precalentada del agitador magnético para comenzar la agitación.

3.- Añadir  $10 \pm 0,2$  g de pepsina o  $30 \pm 0,5$  ml de pepsina líquida.

4.- Picar el total de la carne que conformará la muestra de 100 gr. En caso de utilizar picadora eléctrica se debe evitar un excesivo procesado que pudiera destruir las larvas presentes.

5.- Trasvasar cuantitativamente la carne picada al vaso de precipitados de 3 litros que contiene el agua, el ácido clorhídrico y la pepsina.

6.- Verificar el pH en el rango 1-2

7.- Cubrir el vaso de precipitados con una hoja de aluminio.

#### DIGESTION, FILTRADO Y SEDIMENTACIÓN:

1.- Agitar el líquido de digestión a una velocidad suficiente para que se forme un remolino profundo sin salpicaduras manteniendo una temperatura constante de  $45 \pm 1$  °C, durante 45 a 60 minutos (hasta que se digiera la totalidad de la carne).

2.- Filtrar el líquido de digestión a través de un tamiz de 177 micras y recoger el filtrado en la ampolla cónica de decantación.

3.- Se considera satisfactorio el proceso de digestión si no queda más del 5 % del peso de la muestra inicial sin digerir (se observa en el tamiz).

4.- Dejar sedimentar el líquido de digestión en la ampolla cónica de decantación 30 minutos. Si el tiempo de sedimentación es menor a 30 minutos, es posible que no todas las larvas se hayan asentado y no se recuperen en el sedimento recolectado. El tiempo de sedimentación para muestras de músculo congelado debe extenderse hasta 60 minutos debido a la posible existencia de larvas muertas que sedimentan a menor velocidad.

5.- Transcurridos los 30 minutos, abrir el robinete y recolectar 40 ml del líquido de digestión rápidamente (flujo libre) en una probeta de 50 ml.

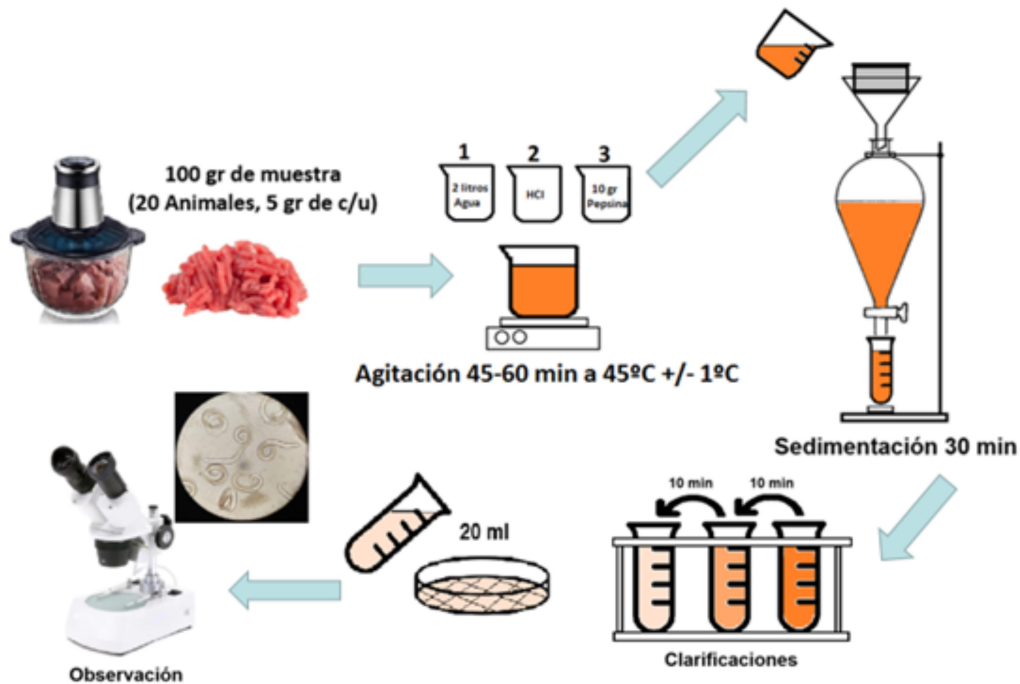
6.- Dejar reposar el extracto de 40 ml durante 10 minutos y luego aspirar superficialmente 30 ml de líquido sobrenadante, sin alterar el sedimento, dejando así un volumen de 10 ml.

7.- Puede ocurrir que este líquido requiera ser clarificado para su observación, en cuyo caso se procederá de la siguiente manera: agregar agua destilada a los 10 ml que quedaron en la probeta hasta recuperar el volumen de 40 ml; dejar reposar durante 10 minutos y aspirar superficialmente 30 ml del líquido sobrenadante, dejando un volumen final de 10 ml. Repetir este proceso hasta obtener una solución suficientemente límpida.

8.- La muestra de 10 ml del sedimento restante se verterá en una placa de Petri o en una cubeta para el recuento de larvas.

9.- Enjuagar la probeta graduada con 10 ml de agua destilada que se agregarán a la muestra en observación obteniendo así un volumen de 20 ml. para la lectura.

10.- Los líquidos de digestión deberán observarse en el momento. Si los líquidos de digestión no se examinan en el plazo de TREINTA (30) minutos siguientes a su preparación, se deberán clarificar, conforme a lo descrito.



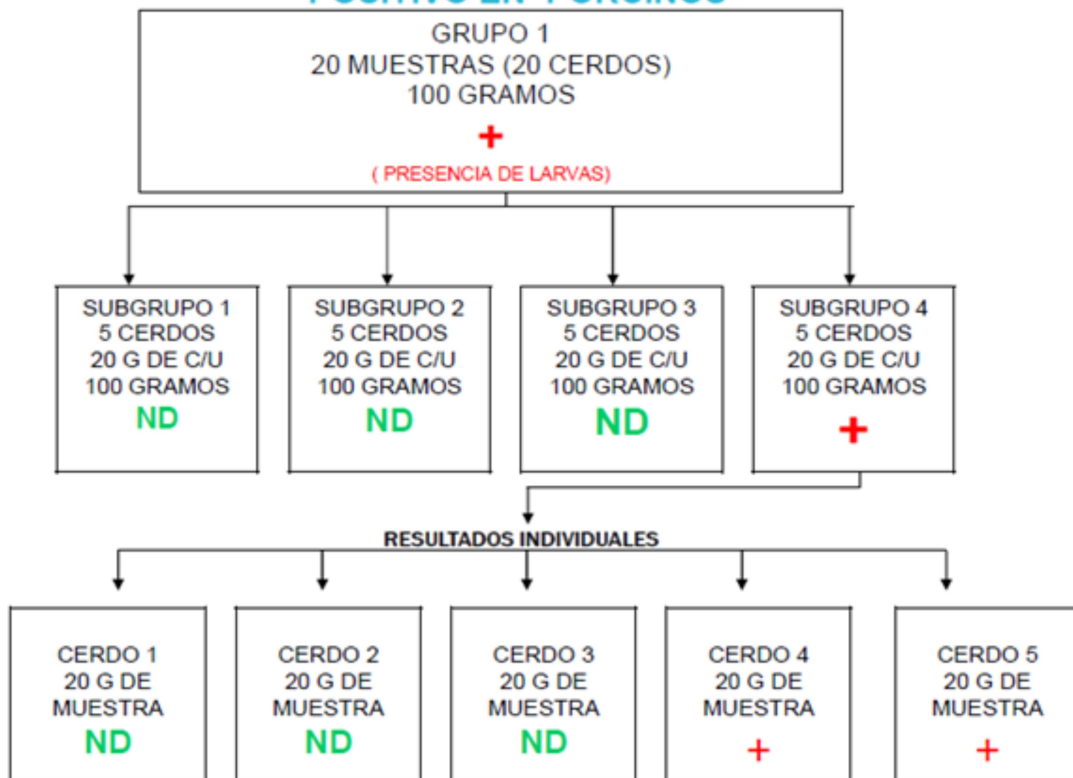
#### e) Resultado Positivo

1.- La presencia de una larva es indicativa de resultado positivo, y ante la ausencia de las mismas el resultado se informará como NO DETECTADO (ND)

2.- En caso de resultado positivo del análisis de un pool, se deberá tomar una muestra de 20 gr de cada cerdo, agrupándolas en grupos de 5 cerdos para ser examinadas por el método arriba descrito.

3.- Los grupos que resultaran positivos de esta última observación se deberán analizar abriéndolos y examinando individualmente cada animal utilizando 20 gr de muestra de cada uno.

## MARCHA DE LA TECNICA LUEGO DE UN RESULTADO GRUPAL POSITIVO EN PORCINOS



### f) Aseguramiento de la calidad del ensayo

1.- Las balanzas y termómetros utilizados deberán estar calibrados con trazabilidad metrológica en el rango de trabajo.

2.- Al validar la metodología deberá asegurarse un límite de detección del método de 1 larva cada 100 gramos de muestra.

3.- Inactivación de Larvas de *Trichinella* spp.

3.1 Superficies y material de Laboratorio: según concentración comercial del reactivo, deben prepararse las siguientes soluciones:

Hipoclorito de Sodio 55 g/l: preparar una solución al 30% (300 ml de Hipoclorito de Sodio por cada 700 ml de agua)

Hipoclorito de Sodio 110 g/l: preparar una solución al 15% (150 ml Hipoclorito de Sodio por cada 850 ml de agua)

El tiempo de contacto requerido es de 15 minutos. Posteriormente se procede al lavado del material.

3.2 Solución de digestión:

Por cada 700 ml de solución de digestión incorporar 300 ml de Hipoclorito de Sodio 55 g Cl/l

Por cada 850 ml de solución de digestión incorporar 150 ml de Hipoclorito de Sodio 110 g Cl/l

El tiempo de contacto requerido es de 30 minutos.

4.- Vasos de precipitados, probetas, embudos y ampollas de decantación no deben ser de material plástico y/o teflón, para evitar la adherencia de las larvas a la superficie del recipiente.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Informe gráfico**

**Número:**

**Referencia:** Anexo I.

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 6 pagina/s.