

EQUIPO DIGESTOR PARA DETECCIÓN DE TRIQUINA



Este manual es parte inseparable del aparato por lo que debe estar disponible a todos los usuarios del equipo. Le recomendamos leer atentamente el presente manual y seguir rigurosamente los procedimientos de uso para obtener las máximas prestaciones y una mayor duración del mismo.

 ¡ATENCIÓN! NO SE ADMITIRÁ NINGÚN APARATO PARA REPARAR QUE NO ESTÉ DEBIDAMENTE LIMPIO Y DESINFECTADO.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. COMPOSICIÓN	2
2. TRIQUINOSIS.....	3
3. PREVENCIÓN.....	3
4. MÉTODO DE DETECCIÓN DE REFERENCIA	
3.1 Instrumental y reactivos.....	3
3.2 Recogida de muestras y cantidad que debe digerirse.....	4
3.3 Procedimientos.....	5
5. ACCESORIOS.....	7

1. COMPOSICIÓN DEL KIT

El equipo se compone de las siguiente componenetes:


<i>Referencia</i>	<i>Descripción</i>
50692010	Agitador magnético digital c/calefacción mod 692/1
12394321	Embudo decantación 2L, abierto, p/equipo triquina
12360151	Embudo cilíndrico 50mL, abierto, p/equipo triquina
63205001	Tamiz 100x40, 180 µm
63206050	Soporte pie plato 300x180 mm con varilla 10x600mm
63236120	Aro c/espiga 100 mm, acero cromado
63236070	Aro c/espiga 70 mm, acero cromado
63203520	Pinza 2 dedos sin nuez, 12-45 mm
63201316	Nuez doble pintada mediana, 16 mm (3 uds)
10155331	Vaso forma baja 3000 mL
60671055	Imán teflonado cilíndrico 55x8 mm
11636120	Probeta graduada vidrio, 25 mL
11605791	Pipeta graduada 25 mL / 0,1 mL
42600120	Aspirador pipetas, 25 mL rojo
45000828	Varilla agitación PP
40022901	Placas Rodac cuadrículadas b/20

- ◆ Si se detectan triquinas en un grupo de muestras de cinco cerdos, se tomarán nuevas muestras de 20 g de cada animal del grupo y se examinarán por separado utilizando el método arriba descrito.
- ◆ Las muestras con parásitos se mantendrán en alcohol etílico al 90 % para su conservación y la identificación de su especie en el laboratorio nacional o comunitario de referencia.
- ◆ Una vez recogidos los parásitos, los líquidos positivos (jugos digestivos, sobrenadante, líquidos de lavado, etc.) se descontaminarán sometiéndolos a una temperatura de al menos 60 °C.

5. ACCESORIOS

El equipo se suministra en su configuración estándar descrita en la página de este manual, pero puede ser ampliado con los siguientes elementos:

<i>Referencia</i>	<i>Descripción</i>
55062230	Balanza de precisión 300 g / 0.01 g, serie 5062
50234000	Estereomicroscopios ZUZI 234
61302316	Pinza disección 1:2 dientes, 160 mm
62112116	Tijera recta aguda-aguda, 160 mm
30880081	Reloj bolsillo 24 h, 1 memoria
11605711	Pipeta graduada, 1ml/0.01ml
11605771	Pipeta graduada, 10ml/0.1ml



INSTRUCCIONES SOBRE PROTECCIÓN DEL MEDIO AMBIENTE

No se deshaga de este equipo tirándolo a la basura ordinaria cuando haya terminado su ciclo de vida; llévalo a un punto de recogida para el reciclaje de aparatos eléctricos y electrónicos. No contiene elementos peligrosos o tóxicos para el ser humano pero una eliminación no adecuada perjudicaría al medio ambiente.

Los materiales son reciclables tal como se indica en la marcación. Al reciclar materiales o con otras formas de reutilización de aparatos antiguos, esta Ud. haciendo una contribución importante a la protección del medio ambiente. Por favor póngase en contacto con la administración de su comunidad para que le asesoren sobre los puntos de recogida.

- ◆ Después de 30 minutos, traspasar rápidamente una muestra de 40 ml del líquido de digestión al embudo cilíndrico de 50 mL.
- ◆ Mantener los líquidos de digestión y otros residuos líquidos en una bandeja hasta que se haya completado la lectura de los resultados.
- ◆ Dejar reposar la muestra de 40 ml durante 10 minutos y recoger 10 ml del sedimento en una cubeta para el cómputo de larvas o en una placa de Petri.
- ◆ La muestra de 10 ml del sedimento restante se verterá en una cubeta para el cómputo de larvas o en una placa de Petri.
- ◆ Enjuagar el embudo de 50 mL con 10 ml como máximo de agua del grifo, que se agregará a la muestra en la cubeta de cómputo de larvas o en la placa de Petri. Luego, proceder a la observación en el triquinoscopio o al examen en el estereomicroscopio con un aumento de 15 a 20 veces. Se permite la visualización utilizando otras técnicas cuando se haya comprobado que el examen de las muestras de control positivas da un resultado igual o mejor que los métodos tradicionales de visualización. Siempre que se observen zonas sospechosas o formas similares a parásitos, deberán aplicarse aumentos superiores, de entre 60 y 100 veces.
- ◆ Los líquidos de digestión se examinarán desde el momento en que estén dispuestos. En ningún caso se podrá posponer el examen al día siguiente.
- ◆ Cuando los líquidos de digestión no se examinen en los 30 minutos siguientes a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera. Verter la muestra final de unos 40 ml en una probeta graduada y dejar reposar durante 10 minutos. Luego, retirar 30 ml del líquido sobrenadante, dejando un volumen de 10 ml. Dicho volumen se llevará a 40 ml con agua del grifo. Después de un nuevo período de reposo de 10 minutos, aspirar 30 ml del líquido sobrenadante para obtener un volumen máximo de 10 ml que se examinará en una placa de Petri o en una cubeta para cómputo de larvas. Lavar la probeta graduada con 10 ml como máximo de agua del grifo y agregar el líquido obtenido a la muestra en la placa de Petri o en la cubeta para el cómputo de larvas, para su examen.
- ◆ Si el examen revela que el sedimento no es transparente, verter la muestra en una probeta graduada, llevar su volumen a 40 ml con agua de grifo y seguir el procedimiento arriba mencionado. Este procedimiento podrá repetirse de 2 a 4 veces hasta que el líquido sea lo suficientemente claro para una lectura fiable.

Grupos de menos de 100 g

- ◆ Cuando sea necesario, una cantidad que no supere los 15 g podrá añadirse a un grupo completo de 100 g y examinarse conjuntamente con arreglo al punto 3, sección I. Las cantidades superiores a 15 g se deberán examinar como grupos completos. En el caso de grupos de hasta 50 g, los líquidos de digestión y los ingredientes podrán reducirse a 1 l de agua, 8 ml de ácido clorhídrico y 5 g de pepsina.

Resultados positivos o dudosos

- ◆ Cuando el examen de una muestra colectiva dé un resultado positivo o incierto, se tomará una nueva muestra de 20 g de cada cerdo con arreglo al punto 2, letra a). Las muestras de 20 g procedentes de cinco cerdos se reunirán y examinarán utilizando el método arriba descrito. De esta forma se examinarán muestras de 20 grupos de cinco cerdos.

2. TRIQUINOSIS

La triquinosis es una enfermedad parasitaria y transmisible. Esta originada por el consumo de carnes crudas o mal cocinadas que estén parasitadas con larvas de un nematodo del género *Trichinella*, del cual existen distintas especies.

Los principales síntomas que se presentan en una persona afectada, por orden cronológico, son: Manifestaciones gastrointestinales, como dolor abdominal tipo cólico, náuseas, vómitos, diarrea. Edema de párpados superiores seguido de hemorragias subconjuntivales y retinianas con dolor y fotofobia. Dolores musculares, sed, sudación, escalofríos, debilidad, prostración, fiebre.

3. PREVENCIÓN

Con el fin de prevenir contagios, el Reglamento (CE) 2075/2005 por el que se establecen normas específicas para los controles oficiales de la presencia de triquinas en la carne, establece requisitos concretos para prevenir la enfermedad humana provocada por el consumo de carne infectada por triquinas. Las canales de cerdos domésticos, caballos, jabalíes u otras especies animales de cría o silvestres sensibles a la infección por triquinas se someterán a muestreos sistemáticos en mataderos o establecimientos de manipulación de caza.

Link al Reglamento (CE) 2075/2005:

<http://eur-ex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0060:0082:ES:PDF>

4. MÉTODO DE DETECCIÓN DE REFERENCIA:

(Reglamento (CE) 2075/2005, Anexo I, capítulo I)

Método de digestión de muestras colectivas con utilización de un agitador magnético

1. Instrumental y reactivos

- ◆ Un cuchillo o tijeras y pinzas para cortar las muestras.
- ◆ Bandejas divididas en 50 cuadrados que puedan contener, cada uno, muestras de carne de 2 g, aproximadamente, u otros instrumentos que ofrezcan garantías equivalentes por lo que respecta a la trazabilidad de las muestras.
- ◆ Un mezclador con una cuchilla afilada. En caso de que las muestras pesen más de 3 g, deberá utilizarse una picadora de carne con aperturas de entre 2 y 4 mm o unas tijeras. Si se trata de carne o lengua congeladas (una vez retirada la capa superficial, que no puede ser digerida), se precisará una picadora de carne, y el tamaño de la muestra deberá aumentarse considerablemente.

- ◆ Agitadores magnéticos provistos de una placa térmica de temperatura controlada y barras recubiertas de teflón de 5 cm, aproximadamente.
- ◆ Embudo de separación cónico de vidrio de una capacidad de 2L como mínimo, preferiblemente provistos de llaves de seguridad de teflón, abierto para recibir el tamiz de malla de 180 micras.
- ◆ Soportes con anillos y fijaciones.
- ◆ Tamices con una malla de 180 micras y un diámetro exterior de 11 cm, provistos de una rejilla de acero inoxidable.
- ◆ Vasos de precipitados de vidrio de una capacidad de 3 l.
- ◆ Probeta graduada de vidrio de 25 mL.
- ◆ Un triquinoscopio provisto de una tabla horizontal o un estereomicroscopio, con una fuente de luz de intensidad regulable bajo la platina.
- ◆ Varias placas de Petri (para su uso con el estereomicroscopio) de un diámetro de 9 cm cuyo fondo se haya dividido en cuadrados de 10 × 10 mm mediante un instrumento puntiagudo.
- ◆ Una cubeta para el cómputo de larvas (para su uso con el triquinoscopio), formada por placas acrílicas de un espesor de 3 mm y que presente las siguientes características:
 - el fondo de la cubeta medirá 180 × 40 mm y estará dividido en cuadrados,
 - las placas medirán 230 × 20 mm,
 - las placas frontales medirán 40 × 20 mm. El fondo y las placas frontales deberán estar fijos entre las placas laterales de manera que formen dos pequeñas asas en ambos extremos. La parte superior del fondo deberá estar entre 7 y 9 mm más elevada con relación a la base del cuadrado formado por las placas laterales y frontales. Los componentes deberán estar pegados con una cola adecuada para el material.
- ◆ Hoja de aluminio.
- ◆ Ácido clorhídrico de 25 %.
- ◆ Pepsina con una concentración de 1: 10 000 NF (US National Formulary), correspondiente a 1: 12 500 BP (British Pharmacopoea) y a 2 000 FIP (Fédération Internationale de Pharmacie).
- ◆ Agua del grifo calentada a una temperatura de 46 a 48 oC.
- ◆ Una balanza de precisión de al menos 0,1 g.
- ◆ Cubetas metálicas de 10 a 15 l de capacidad para recoger el jugo digestivo restante.
- ◆ Pipetas graduadas de diferentes tamaños (1, 10 y 25 ml).
- ◆ Sifón para agua del grifo.

2. Recogida de muestras y cantidad que debe digerirse

- ◆ Cuando se trate de canales enteras de cerdos domésticos, deberá tomarse una muestra de un peso mínimo de 1 g en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa. Podrá utilizarse un fórceps especial de triquinas si puede garantizarse una precisión de entre 1,00 y 1,15 g. En el caso de las cerdas de cría y los verracos, deberá tomarse una muestra mayor de un peso mínimo de 2 g en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la

parte tendinosa. Cuando no se disponga del pilar del diafragma, deberá tomarse una muestra de doble tamaño, 2 g (o 4 g en el caso de las cerdas de cría y los verracos), de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, o de los maseteros, la lengua o los músculos abdominales.

- ◆ Para los trozos de carne, se tomará una muestra de un peso mínimo de 5 g de músculo estriado, que contenga poca grasa y, en la medida que sea posible, esté situado cerca de los huesos o de los tendones. Se tomará una muestra del mismo tamaño de la carne que no esté destinada a ser muy cocida o a otros tipos de tratamiento posterior al sacrificio.
- ◆ En el caso de las muestras congeladas, se tomará para analizar una muestra de un peso mínimo de 5 g de músculo estriado. El peso de las muestras de carne se entenderá libre de toda grasa o fascias. Deberá ponerse especial cuidado al tomar muestras de músculo de la lengua a fin de evitar contaminación con la capa superficial de la misma, que es indigestible y puede impedir la lectura del sedimento.

3. Procedimiento

I. Grupos completos de muestras (100 g de muestras a la vez)

- ◆ Añadir 16 ± 0,5 ml de ácido clorhídrico a un vaso de precipitados de 3 l que contenga 2 l de agua del grifo, calentada a una temperatura de 46 a 48 °C. Introducir el imán en el vaso y comenzar la agitación suavemente.
- ◆ Añadir 10 ± 0,2 g de pepsina.
- ◆ Triturar en el mezclador 100 g de muestras obtenidas de acuerdo con el punto 2.
- ◆ Llevar la carne picada al vaso de precipitados de 3 l que contenga el agua, la pepsina y el ácido clorhídrico.
- ◆ Introducir varias veces el dispositivo de triturado del mezclador en el líquido de digestión del vaso de precipitados y enjuagar la taza del mezclador con una pequeña cantidad de líquido de digestión para quitar la carne que aún esté adherida.
- ◆ Cubrir el vaso de precipitados con una hoja de aluminio.
- ◆ Deberá regularse el agitador magnético de tal forma que durante su funcionamiento mantenga una temperatura constante de 44 a 46 oC. Durante la agitación, el líquido de digestión deberá girar a una velocidad suficiente para que se forme un remolino profundo sin salpicaduras.
- ◆ Agitar el líquido de digestión hasta que desaparezcan las partículas de carne (durante 30 minutos aproximadamente). Detener el mezclador y verter el líquido de digestión a través del tamiz en el embudo de separación. Pueden ser necesarios períodos más largos de digestión (que no superen los 60 minutos) para determinados tipos de carne (lengua, carne de caza, etc.).
- ◆ Se considera satisfactorio el proceso de digestión si no permanece más del 5 % del peso de la muestra inicial en el tamiz.
- ◆ Dejar el líquido de digestión en el embudo durante 30 minutos.