

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

a) Instrumental y reactivos:

Un cuchillo y pinzas para la toma de muestras. Bandejas divididas en 50 cuadrados que puedan contener, cada uno, muestra de carne de 2 gramos, aproximadamente. Un molinillo. Un agitador magnético provisto de una placa térmica de temperatura controlada y una barra magnética (recubierta de teflón) de 5 centímetros, aproximadamente. Embudos de separación cónicos de una capacidad de 2 litros. Soportes con anillos y fijaciones. Tamices, finura de la malla de 177 micras, de un diámetro exterior de 11 centímetros provistos de una rejilla de acero inoxidable. Embudos de un diámetro interior mínimo de 12 centímetros destinados a recibir el tamiz. Un vaso de precipitados de 3 litros. Probetas graduadas de una capacidad aproximada de 50 mililitros o tubos de centrifugación. Un triquinoscopio provisto de una tabla horizontal o un estereomicroscopio que disponga de una iluminación adecuada. Una cubeta para el cómputo de larvas (en caso de utilización de un triquinoscopio). La cubeta deberá estar formada por placas acrílicas de un espesor de 3 milímetros y deberá presentar las siguientes características: i) Fondo de la cubeta: 180 x 40 milímetros dividido en cuadrados. ii) Placas laterales: 230 x 20 milímetros. iii) Placas frontales: 40 x 20 milímetros. El fondo y las placas frontales deberán estar fijos entre las placas laterales, de manera que formen dos pequeñas asas en los dos extremos. La parte superior del fondo deberá estar entre 7 y 9 milímetros más elevada con relación a la base del cuadrado formado por las placas laterales y frontales. Las placas se fijarán con una cola adecuada al material. Varias placas de «Petri», si se utiliza un estereomicroscopio, cuyo fondo esté dividido en cuadrados de 10 x 10 milímetros mediante un instrumento puntiagudo. Una hoja de aluminio. Ácido clorhídrico al 25 por 100. Concentración de pepsina: 1:10.000 NF (US National Formulary); correspondiente a 1:12.500 BP (British Pharmacopea); correspondiente a 2.000 FIP (Federación Internacional de Farmacia). Agua de grifo calentada a una temperatura de 46-48 °C. Varios recipientes de 10 litros que se utilizarán para la descontaminación del instrumental, mediante un tratamiento como el formol, y para el juego digestivo que quede en caso de resultado positivo. Una balanza de precisión de 0,1 gramo.

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales están enteras tomar una muestra de, aproximadamente, 2 gramos de uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa; si no hubiera pilar del diafragma, tomar la misma cantidad en la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, o en la musculatura de la lengua, o en los músculos masticadores, o también en la musculatura abdominal.

2. Para los trozos de carne tomar una muestra de, aproximadamente, 2 gramos, en los músculos esqueléticos que contenga poca grasa y, en la medida que sea posible, cerca de los huesos o en los tendones.

c) Método:

1. A) Grupos completos de muestras (100 a la vez): Triturar en el molinillo 100 muestras de, aproximadamente, 1 gramo, tomadas de cada muestra individual, de acuerdo con las indicaciones de la letra b). Hacer funcionar el aparato tres o cuatro veces durante un segundo. Llevar la carne picada a un vaso de precipitados de 3 litros y espolvorear con 10 gramos de pepsina. Introducir en el vaso de precipitados 2 litros de agua de grifo calentada a una temperatura de 46-48 °C y agregar 16 mililitros de ácido clorhídrico. Introducir varias veces el dispositivo de triturado del molinillo en el líquido de digestión que se encuentre en el vaso de precipitados, para quitar de él las sustancias que aún tenga adheridas. Colocar la barra magnética en el vaso de precipitados y cubrirlo con una hoja de aluminio. Colocar el vaso de precipitados en la placa precalentada del agitador magnético y comenzar la agitación. Antes de empezar el proceso de agitación, se deberá regular el agitador magnético de tal forma que,

durante el funcionamiento, pueda mantenerse una temperatura constante de 44-47 °C. Durante el proceso de agitación, el líquido de digestión deberá girar a una velocidad lo suficientemente elevada para permitir la formación de un profundo remolino central, sin provocar salpicaduras. Agitar el líquido de digestión durante treinta minutos, parar el aparato, filtrar el líquido de digestión a través de un tamiz colocado en un embudo y recoger el filtrado en un embudo de separación. Dejar el líquido de digestión en el embudo de separación durante treinta minutos. Después de treinta minutos, traspasar rápidamente una muestra de 40 mililitros del sedimento del líquido de digestión a la probeta graduada o al tubo de centrifugación. Dejar reposar la muestra de 40 mililitros durante diez minutos y luego aspirar 30 mililitros del líquido sobrenadante, dejando así un volumen de 10 mililitros. La muestra de 10 mililitros del sedimento restante se verterá en una cubeta para el cómputo de larvas o en una placa de «Petri». Enjuagar la probeta graduada o el tubo de centrifugación con, aproximadamente, 10 mililitros de agua de 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 el examen en el estereomicroscopio, según el caso. Los líquidos de digestión deberán observarse desde el momento en que estén dispuestos. En ningún caso, se podrá postergar el examen para el día siguiente. Si los líquidos de digestión no se examinan en el plazo de treinta minutos siguientes a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera: Verter la muestra final de, aproximadamente, 40 mililitros en una probeta graduada y dejar sedimentar durante diez minutos. Después de dicho tiempo, quitar 30 mililitros del líquido sobrenadante, con el fin de obtener un volumen de 10 mililitros. Dicho volumen se llevará a 40 mililitros con agua de grifo. Después de un nuevo período de reposo de diez minutos, quitar por aspiración 30 mililitros del líquido sobrenadante, para obtener un volumen de 10 mililitros que se examinará en una placa de «Petri» o en una cubeta para cómputo de larvas. Lavar la probeta graduada con 10 mililitros de agua de 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 está claro, se deberá verter la muestra en una probeta graduada, y con agua de grifo se deberá llevar su volumen a 40 mililitros. Luego se aplicará el método antes mencionado.

B) Grupos de menos de 100 muestras: Eventualmente se podrán agregar 15 muestras, de 1 gramo cada una, a un grupo de 100 muestras y se podrán examinar al mismo tiempo que estas últimas, de acuerdo con el método descrito en la letra c). En caso de más de 15 muestras se deberán examinar en calidad de grupo completo. En el caso de grupos que lleguen hasta 50 muestras, los líquidos de digestión podrán reducir a 1 litro. 2. En caso de resultado positivo o dudoso del examen de una muestra colectiva, se deberá tomar una muestra de 20 gramos de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en la anterior letra b). Las muestras de 20 gramos procedentes de cinco cerdos, se deberán reunir y examinar de acuerdo con el método antes descrito. De esta forma, se examinarán las muestras en 20 grupos de cinco cerdos. Si se detectan las triquinas en una muestra de un grupo de cinco cerdos, se deberán tomar las muestras de 20 gramos de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se deberán examinar de acuerdo con el método antes descrito.