



TÉCNICA DE DIGESTIÓN ARTIFICIAL EN FRIGORÍFICOS Y MATADEROS DE CERDOS

MINISTERIO DE
DESARROLLO
AGRARIO



GOBIERNO DE LA
PROVINCIA DE
**BUENOS
AIRES**

Ley N° 6703/61 (Policía Sanitaria Animal y Fomento Ganadero) y su decreto reglamentario N° 66/63, provincia de Buenos Aires; Disposición N° 436/99, Ministerio de Asuntos Agrarios, provincia de Buenos Aires; Resolución N° 740/99, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.

AUTORIDADES

Gobernador

Dr. Axel Kicillof

Ministro de Desarrollo Agrario

Dr. Javier Rodríguez

Jefe de Gabinete

Lic. Jonatan Sánchez Sosa

Subsecretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

Lic. Carla Seain

Directora Provincial de Ganadería

Med. Vet. Héctor Trotta

Director de Carne Vacuna, Aviar, Porcina y Otros

Ing. Agr. Marcos Pérez Visñuk

Colaboradores/as en la redacción del presente material:

Med. Vet. Mariana Pouzo,
Med. Vet. Silvana Antón,
Lic. Manuel Couyoupetrou,
Med. Vet. Leonardo Sebastián González,
Med. Vet. Mateo Labanchi Alurralde,
Lic. Paula Rodríguez Guerrero.

ÍNDICE

- I. INTRODUCCIÓN.
- II. MATERIALES Y REACTIVOS NECESARIOS.
- III. EXAMEN DE LOS CERDOS EN MATADEROS.
- IV. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.
- V. SENSIBILIDAD DE LA PRUEBA.
- VI. PREPARACIÓN DE LA PRUEBA.
- VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PEPSINA ACIDIFICADA AL 1% PARA 100 GRAMOS DE MUESTRA.
- VIII. RECUPERACIÓN DE LARVAS.
- IX. CLARIFICACIÓN DE LA MUESTRA.
- X. PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL SEGÚN LA COMISIÓN INTERNACIONAL DE TRIQUINELLOSIS (ICT).
- XI. SISTEMA VERIFICABLE DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.
- XII. CONTACTOS.

I. INTRODUCCIÓN

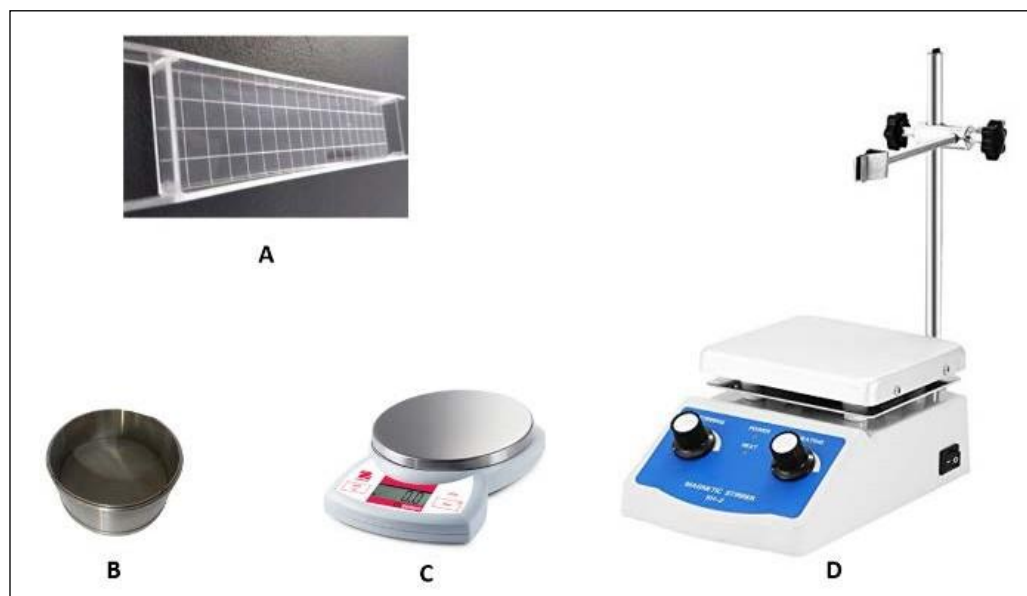
El siguiente documento, basado en la Resolución SENASA N° 740/99 y la Disposición Ministerial N° 436/99 del entonces Ministerio de Asuntos Agrarios, aporta los lineamientos para realizar la técnica de digestión artificial en frigoríficos y mataderos de cerdos, para el diagnóstico de Triquinellosis.

La técnica se basa en que la digestión artificial de muestras de tejido muscular en una solución de pepsina con ácido clorhídrico (simulando la digestión estomacal) libera larvas vivas de triquina de los quistes musculares; la presencia y observación de esas larvas determina el resultado positivo de la muestra.

II. MATERIALES Y REACTIVOS NECESARIOS

Instrumentales:

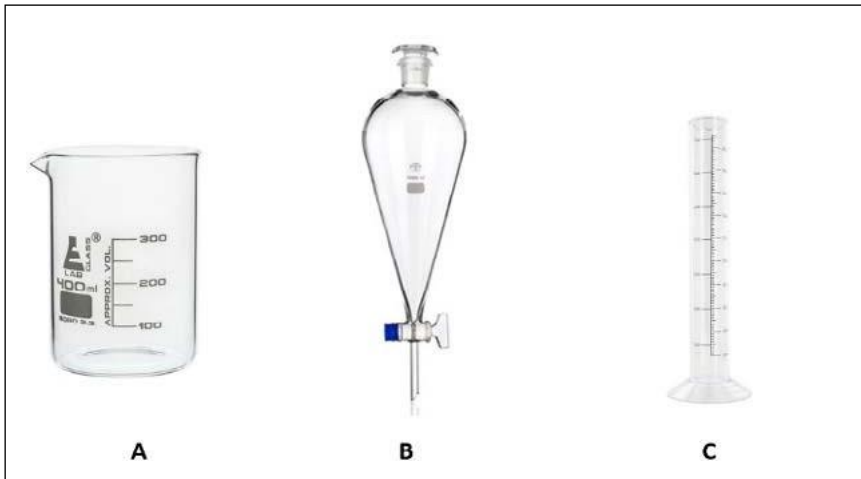
- ▣ Procesadora o picadora de carne tipo Minipimer / Moulinex.
- ▣ Agitador magnético con platina térmica de temperatura controlada / termocupla.
- ▣ Barra magnética o buzo (recubierto con teflón).
- ▣ Balanza de precisión (sensibilidad 0.1 gramo hasta 200 gramos).
- ▣ Triquinoscopio o lupa estereoscópica (aumento 60X).
- ▣ Tamices Malla 80 (177 micrones).
- ▣ Cubeta con fondo cuadrículado para la lectura o placas de Petri con capacidad de 15 ml.
- ▣ Termómetro de rango 0 a 60 °C.
- ▣ Bomba de vacío.



Ejemplos de Instrumental:
A) Cubeta de fondo cuadrículado.
B) Tamiz.
C) Balanza de precisión.
D) Agitador magnético.

Materiales de vidrio:

- ▣ Embudo/Ampolla de decantación cónico (modelos squibb) con soporte y fijación. Capacidad 2 lts.
- ▣ Vasos de precipitados con capacidad de 500 ml y 2 lts.
- ▣ Probetas graduadas con capacidad de 100 ml.
- ▣ Embudo para recibir el tamiz.
- ▣ Pipeta de 10 y 15 ml y propipetas.



Ejemplos de material de vidrio:
A) Vaso de precipitado.
B) Ampolla de decantación.
C) Probeta graduada.

Reactivos:

- ▣ Pepsina. Actividad diastásica 1:10.000 N.F. (U.S. National Formulary).
- ▣ Ácido clorhídrico fumante, concentración 37%.
- ▣ Solución formulada de hipoclorito de sodio al 10% para inactivar material de vidrio y líquido de digestión.
- ▣ Tiras reactivas para medir pH.

III. EXAMEN DE LOS CERDOS EN MATADEROS

El estudio de triquinosis es un examen de rutina llevado a cabo en las carcasas de cerdos usando la digestión en pooles de muestras. En este caso, se realiza en pooles de 100 gramos.

Se utilizan 5 gramos por animal en faena de rutina, y 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.

En la faena de tropas provenientes de criaderos interdictados, las cuales consideramos sospechosas, el análisis se realizará con pooles de 10 animales por vez, utilizando 10 gramos por muestra de cada animal.

En caso de 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 más pequeños, de 5 animales, procesando 20 gramos de muestra por animal para aumentar la sensibilidad (Figura 1).



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 positivas sean identificadas.

Muestra de carne pesada en balanza de precisión.

Se recomienda no mezclar tropas en un mismo pool.



Figura 1

IV. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras deben ser extraídas de sitios de predilección según la especie.

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 recomendable es diafragma o lengua.

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

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

V. SENSIBILIDAD DE LA PRUEBA

En 1 gramo de muestra podrían detectarse un número mayor o igual a 3 larvas por gramo.

En 3 gramos de muestra podrían detectarse un número mayor o igual a 1,5 larvas por gramo.

En 5 gramos de muestra, podrían detectarse un número mayor o igual a 1 larva por gramo.

Esto explica el aumento en tamaño de la muestra según Disposición N° 436/99, que nos permite detectar animales en estadios recientes de enfermedad con menor carga larvaria.

La Digestión Artificial realizada con un mínimo de 5 gr ELIMINA el RIESGO para el consumidor de alimentos, permitiendo liberar las reses al consumo, pero NO implica que la muestra sea negativa / libre del parásito.

VI. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

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



*Proceso de limpieza de muestra de carne.
De debe sacar la grasa y facies.*



La carne debe ser picada, y no molida.

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

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PEPSINA ACIDIFICADA AL 1 % PARA 100 GRAMOS DE MUESTRA

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



Pepsina pesada en balanza de precisión.

La solución debe tener un pH entre 1 y 2, lo que permite la activación de la pepsina.

Agregar la muestra picada.

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

Se procede a la digestión durante 30 a 60 minutos 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.



Muestra con la solución sobre la placa calefactora con agitación y control de temperatura.

VIII. RECUPERACIÓN DE LARVAS



Al finalizar la digestión, la totalidad de la mezcla se pasará 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 completar el proceso. Se permite un residuo de no más del 5 % de la carne analizada.

Se decanta la solución por 30 minutos.

Pasado este tiempo, se abre la espita por completo de la ampolla de decantación y se recolectan 50 ml de solución en una probeta.

Ampolla de decantación con la mezcla en su interior.

IX. CLARIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Se deja decantar durante 15 minutos a los 50 ml de la solución extraídos de la ampolla.

Una vez transcurrido el tiempo, se aspiran 40 ml del sobrenadante con bomba de vacío.

Los 10 ml 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 minutos. 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 de este.



Larvas observadas en un triquinoscopio.

X. 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 durante todo el proceso la temperatura en el rango de 44 a 46°C. La temperatura por encima de 46°C traerá como resultado la inactivación de la pepsina, digestión incompleta y pobres tasas de recuperación larvaria. La temperatura por debajo de 44°C requiere 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 X.
- ▣ 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.

XI. SISTEMA VERIFICABLE DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Los animales ingresan a un 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 (Ver Figura 3), los animales ingresan a la playa por tropa. El orden de las tropas está registrado en la lista de faena. En la zona sucia, después de pasar por la escaudadora, peladora y el repaso, son identificados con un número de orden correlativo, con tinta vegetal violeta. A los adultos se los identifica en la parte externa de los dos garrones. En cuanto a los lechones, la identificación se realiza 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. Una vez que las reses han pasado por la zona limpia y se ha realizado el lavado, llegan a la balanza. Aquí nuevamente se lo 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 siguientes datos: nombre del titular de la faena, nombre y nú-

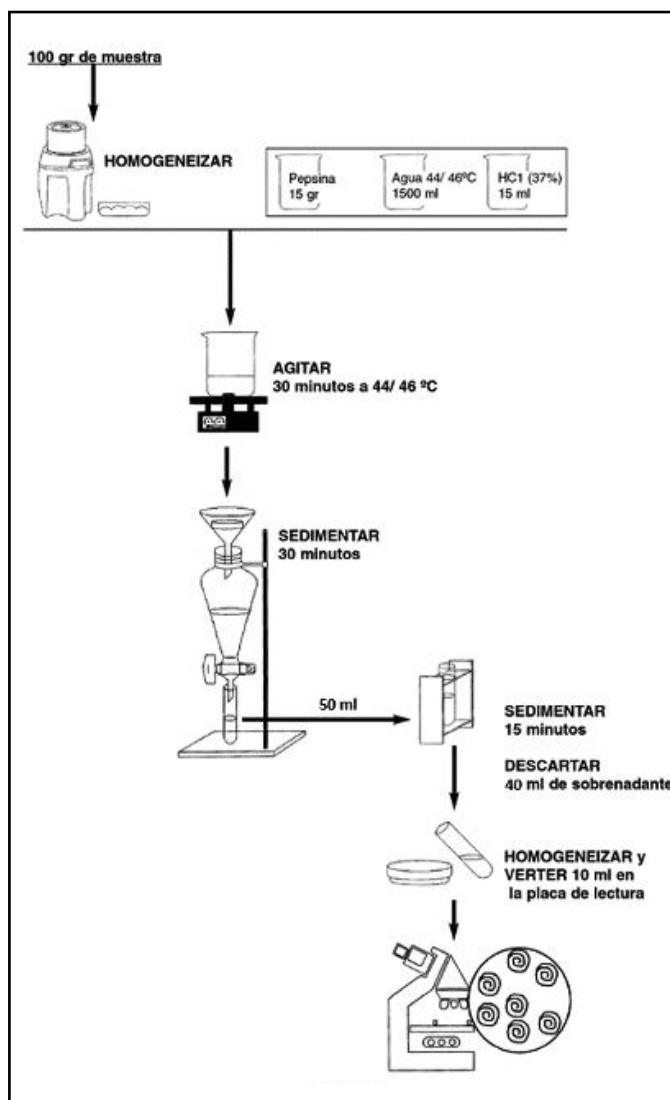


Figura 2

mero 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 hilo, 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.

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.

Confeción 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, y de ácido clorhídrico al 37%, acompañándolo con la factura correspondiente.

SECUENCIA DE FAENA

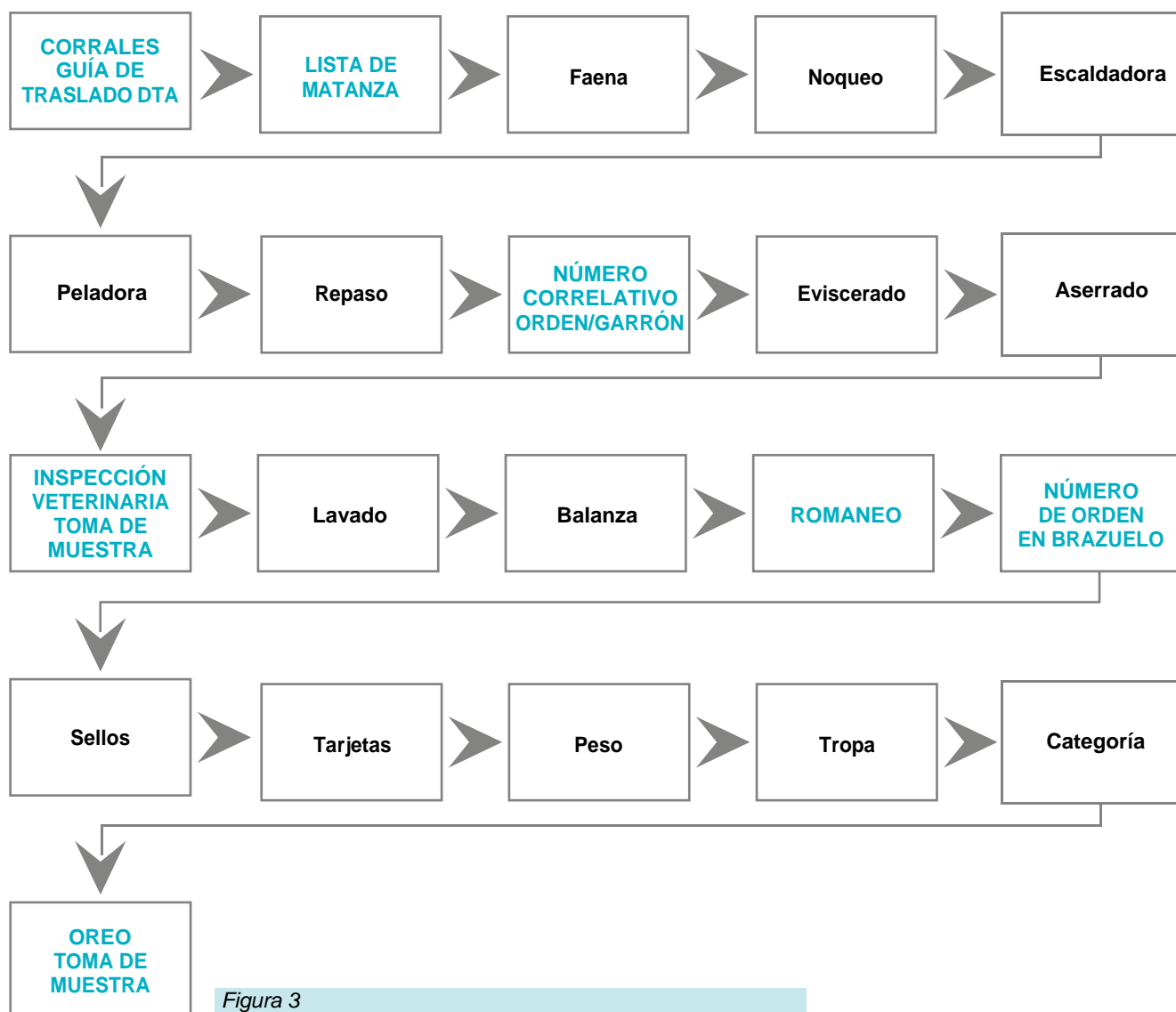


Figura 3

XII. CONTACTOS

**Laboratorio Central La Plata
(Dirección de Carne Vacuna, Aviar, Porcina y otros):**

Mail: laboratoriocentral@mda.gba.gob.ar
Teléfono: (0221) 470-9965

**Denuncias e información sobre manejo de focos
(Dirección de Auditoría Agroalimentaria):**

Mail: dauditoria@mda.gba.gob.ar

**MINISTERIO DE
DESARROLLO
AGRARIO**



GOBIERNO DE LA
PROVINCIA DE
**BUENOS
AIRES**

SUBSECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA Y PESCA
DIRECCIÓN PROVINCIAL DE GANADERÍA
Dirección de Carne Vacuna, Aviar,
Porcina y Otros
dcarnes@mda.gba.gob.ar

