

MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA

1582 *ORDEN de 17 de enero de 1996 sobre detección de triquinas en las carnes frescas procedentes de animales domésticos de las especies porcina y equina.*

La integración de España en las Comunidades Europeas exige la adopción por nuestro derecho interno de las normas sanitarias aplicables en el sector de la carne.

En una primera fase, la Orden de 22 de septiembre de 1989, sobre detección de triquina en las carnes de animales domésticos de la especie porcina destinadas al comercio intracomunitario y las importadas de terceros países, incorporó al derecho nacional parte del contenido de las Directivas 77/96/CEE del Consejo, de 21 de diciembre; 84/319/CEE, de 7 de junio, y 89/321/CEE, de 27 de abril.

Con la puesta en práctica del mercado interior en la Unión Europea y teniendo en cuenta la supresión de los controles en fronteras para el comercio intracomunitario y el refuerzo de las garantías en origen, no cabe establecer diferencias entre las carnes frescas destinadas al mercado nacional y las destinadas al mercado intracomunitario, por lo que se promulgó la Directiva 91/497/CEE, de 29 de julio, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios intracomunitarios de carnes frescas para ampliarla a la producción y comercialización de carnes frescas, que fue incorporada a nuestro derecho interno por el Real Decreto 147/1993, de 29 de enero, que indica que las carnes de las especies porcina y equina deben ser sometidas al examen triquinoscópico, según lo dispuesto en el anexo I de la Directiva 77/96/CEE, o bien, en el caso de no realizar el mencionado examen, ser sometidas a un tratamiento por frío, de conformidad con lo dispuesto en el anexo IV de la misma.

No obstante, la Directiva 94/59/CE, de 2 de diciembre, modificó la Directiva 77/96/CE, incorporando, por un lado, determinadas adaptaciones técnicas y nuevos métodos de detección de triquinas aplicados actualmente, especialmente los referidos al análisis de carne de caballo y a los requisitos que deben cumplir los laboratorios de detección de triquinas y, por otro, aprobando métodos de congelación alternativos para inactivar las triquinas.

Asimismo, el Real Decreto 1728/1987, de 23 de diciembre, que aprobó las normas técnico-sanitarias que regulan las prescripciones exigibles para el comercio intracomunitario e importación de terceros países de carnes frescas, así como las que deben reunir los mataderos, salas de despiece y almacenes frigoríficos autorizados para dicho comercio, en el punto 4.3 de la norma XVII, faculta para determinar por Orden ministerial los métodos de detección de triquina en las carnes frescas de animales domésticos.

Por todo ello, se ha procedido a la unificación, en un único texto legislativo, de todos los métodos existentes hasta el momento en esta materia, al objeto de establecer la necesaria claridad que debe reunir cualquier regulación, para los afectados por la misma y evitar la dispersión en distintas normas.

La presente Orden se dicta al amparo de lo previsto en los artículos 10 y 16 del artículo 149.1 de la Constitución, y en los artículos 38 y 40.2 de la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad, y en cumplimiento de lo establecido en el apartado 4.3 de la norma XVII del Real Decreto 1728/1987, de 23 de diciembre, y en el Real Decreto 147/1993, de 29 de enero.

Para su elaboración han sido consultadas las Comunidades Autónomas y los sectores afectados, habiendo informado la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria.

En su virtud, a propuesta de los Ministros de Sanidad y Consumo y de Agricultura, Pesca y Alimentación, y de acuerdo con el Consejo de Estado, dispongo:

Artículo 1.

1. Las carnes frescas procedentes de animales domésticos de la especie porcina y equina sacrificados en los establecimientos contemplados en el Real Decreto 147/1993, de 29 de enero, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción y comercialización de carnes frescas, serán sometidas a una investigación de triquinas en su estructura de músculos estratificados conforme a uno de los métodos descritos en el anexo I y en el punto I del anexo V, debiendo los triquinoscopios cumplir las disposiciones del capítulo III del anexo II de la presente Orden.

2. La investigación de triquina, siempre que dicho examen tenga lugar en un matadero, se realizará en un laboratorio de detección de triquinas suficientemente equipado y con los recursos humanos necesarios para realizar la mencionada investigación, ajustándose a los requisitos previstos en el capítulo I del anexo II.

En el caso de que dicho examen no tenga lugar en el matadero, éste deberá realizarse en laboratorios o emplazamientos que dispongan de las condiciones mencionadas en el capítulo I del anexo II, autorizados expresamente por la Administración sanitaria de la correspondiente Comunidad Autónoma.

3. Las carnes frescas de origen porcino y equino que no hayan sido sometidas a un examen de triquinas, conforme a uno de los métodos descritos en el anexo I, serán sometidas a un tratamiento por frío de conformidad con el anexo IV, o el punto II del anexo V.

Artículo 2.

1. Para su importación, las carnes frescas de animales domésticos de la especie porcina y equina procedentes de terceros países, deberán haber sido sometidas, en el matadero de origen, a una investigación de triquinas conforme a uno de los métodos descritos en el anexo I, y en el punto I del anexo V, debiendo los triquinoscopios cumplir las disposiciones del capítulo III del anexo II.

La autorización y publicación de los mencionados mataderos se realizará según el procedimiento previsto en la normativa vigente.

2. Los mataderos dispondrán de un laboratorio que se ajustará a los requisitos previstos en el capítulo I del anexo II.

3. El personal, locales, material e instrumentos empleados en la investigación de triquinas, deberán cumplir las disposiciones del capítulo II del anexo II.

4. Cuando el resultado del examen sea negativo, las carnes frescas deberán marcarse, inmediatamente después del final del examen, con arreglo a lo dispuesto en el anexo III.

5. No obstante lo dispuesto en el punto 1 anterior, se autoriza que las carnes frescas de porcino y equino, procedentes de terceros países, puedan no ser sometidas a examen triquinoscópico siempre que sean sometidas a un tratamiento por frío, efectuado con arreglo a lo dispuesto en el anexo IV o en el punto II del anexo V. Dicho tratamiento se efectuará en un establecimiento autorizado situado en el tercer país expedidor.

6. La autorización y publicación de los establecimientos antes mencionados se realizará según el procedimiento previsto en la normativa vigente.

7. La realización del tratamiento por frío en el tercer país expedidor deberá ser objeto de una mención específica, por parte del Veterinario oficial, en los certificados de inspección veterinaria que acompañan a las carnes frescas, previstos en la normativa vigente.

Artículo 3.

- Las carnes frescas de animales domésticos de las especies porcina y equina procedentes de terceros países, a su llegada al territorio nacional, serán sometidas a los controles previstos en el Real Decreto 2022/1993, de 19 de noviembre, por el que se establecen los controles veterinarios aplicables a los productos que se introduzcan en territorio nacional procedentes de países no pertenecientes a la Comunidad Europea, y en la Orden de 20 de enero de 1994, por la que se fijan modalidades de control sanitario a productos de comercio exterior destinados al uso y consumo humano y los recintos aduaneros habilitados para su realización.

Disposición adicional.

La presente Orden se dicta al amparo de lo previsto en los apartados 10 y 16 del artículo 149.1 de la Constitución, y en los artículos 38 y 40.2 de la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad, y en cumplimiento de lo establecido en el apartado 4.3 de la norma XVII del Real Decreto 1728/1987, de 23 de diciembre, por el que se aprueban las normas técnico-sanitarias para el comercio intracomunitario e importación de terceros países de carnes frescas, así como las que deben reunir los mataderos, salas de despiece y almacenes frigoríficos autorizados para dicho comercio, y en el Real Decreto 147/1993, de 29 de enero, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción y comercialización de carnes frescas.

Disposición derogatoria.

Queda derogada la Orden del Ministerio de Sanidad y Consumo, de 22 de septiembre de 1989, sobre detección de triquina en las carnes de animales domésticos de la especie porcina destinadas al comercio intracomunitario y las importadas de terceros países («Boletín Oficial del Estado» de 4 de octubre).

Disposición final.

La presente Orden entrará en vigor el día siguiente al de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».
Madrid, 17 de enero de 1996.

PEREZ RUBALCABA

Excmos. Sres. Ministros de Sanidad y Consumo y de Agricultura, Pesca y Alimentación.

ANEXO I

Métodos de investigación de triquinas

I. Examen triquinoscópico

a) Instrumental:

Triquinoscopio de lámpara incandescente que permita un aumento de 50 y 80 ó 100 veces la imagen real.

Placa compresora, formada por dos plaquetas de vidrio que puedan comprimirse una contra otra, una de las cuales estará dividida en zonas iguales.

Unas tijeras pequeñas curvas.

Una pinza pequeña.

Un cuchillo para cortar las muestras.

Pequeños recipientes numerados destinados a recoger las muestras.

Un cuentagotas.

Un vaso que contenga ácido acético y otro que contenga una solución de potasa cáustica para aclarar, en caso de posible calcificación, o para ablandar la carne seca.

b) Toma de muestras:

1. Cuando la canal sea entera deberá tomarse, por lo menos, una muestra del grosor de una avellana, de cada uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa.

2. Cuando únicamente se disponga de un pilar del diafragma, habrá que tomar de él una muestra que tenga un grosor doble que el de una avellana. A falta de ambos pilares del diafragma habrá que tomar dos muestras del grosor aproximado de una avellana de la parte del diafragma situada cerca de las costillas, del esternón o de la musculatura de la lengua o de los músculos masticadores o, incluso, de los músculos abdominales.

3. Para los trozos de carne: De cada trozo, tres muestras de músculos esqueléticos que contengan poca grasa, del tamaño de una avellana y tomadas en puntos diferentes, en la medida de lo posible cerca de los huesos o de los tendones.

c) Modo de operar:

De cada una de las dos muestras tomadas de canales enteras, anteriormente descritas, deberán cortarse, en caso de que se disponga de ambos pilares del diafragma, siete fragmentos del tamaño de un grano de avena, es decir, 14 fragmentos en total y, en caso de que se cuente únicamente con una muestra de uno de los pilares del diafragma, 14 fragmentos en diferentes lugares y, si es posible, en la zona intermedia entre el músculo y tendón, y comprimirlos entre la placa compresora de forma que puedan leerse fácilmente a través de las preparaciones, los caracteres de imprenta normales. Cuando la carne de los trozos que vayan a examinarse esté seca y envejecida, las preparaciones deberán empaparse, durante diez a veinte minutos, en una solución de potasa diluida en dos volúmenes de agua antes de comprimirlos.

Cuando, en el caso de las canales enteras, las dos muestras procedan de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, de la musculatura de la lengua o de los músculos masticadores o, incluso, de los músculos abdominales, deberán cortarse 14 fragmentos del tamaño de un grano de avena, de cada muestra, es decir, 28 fragmentos en total.

De cada una de las tres muestras tomadas en los trozos de carne, el Veterinario deberá cortar cuatro fragmentos del tamaño de un grano de avena, es decir, 12 fragmentos en total.

El examen en el triquinoscopio deberá hacerse de modo que cada preparado sea examinado lenta y cuidadosamente. Cuando, durante el examen triquinoscópico, se detecten imágenes sospechosas cuya naturaleza no pueda determinarse con certeza ni siquiera con ayuda del mayor aumento del triquinoscopio, deberá procederse a un examen posterior con ayuda del microscopio.

Este examen microscópico deberá hacerse de modo que cada preparación sea examinada, lenta y cuidadosamente, con un aumento de 30 a 40 veces.

En caso de duda, deberá proseguirse el examen con otras muestras y preparados, si es necesario, con aumentos superiores hasta que se obtengan las precisiones deseadas. El examen triquinoscópico deberá durar, por lo menos, tres minutos.

En caso de que se utilicen muestras de reserva procedentes de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, de la musculatura de la lengua o de los músculos masticadores o de los músculos abdominales, el examen triquinoscópico deberá durar, por lo menos, seis minutos.

El tiempo mínimo establecido para el examen no incluye el tiempo necesario para la toma de las muestras ni para la confección de las preparaciones.

En general, un Veterinario no debería examinar en el triquinoscopio más de 840 fragmentos por día, pudiendo, no obstante, elevarse, excepcionalmente, dicho número a 1.050.

II. Método de la digestión artificial

a) Instrumental y material:

Cuchillo para la toma de muestras.

Pequeños recipientes numerados que puedan ser cerrados para la conservación de las muestras, en su caso, hasta la repetición de los exámenes.

Estufa.

Embudo de vidrio, de 2 a 3 litros, con soporte y tubo de conexión de caucho, con pinzas para separar el tubo de conexión.

Tamiz de plástico (diámetro de 18 centímetros, aproximadamente, mallas de 1 milímetro, aproximadamente).

Cedazo.

Tubo puntiagudo de punta soldada.

Cubeta.

Picadora de carne.

Esteriomicroscopio (aumento de 15 a 40 veces) que disponga de una iluminación adecuada.

Líquido de digestión compuesto de la siguiente manera: 10 gramos de pepsina [80 U/g FIP (Federación Internacional de Farmacia)], 5 mililitros de HCl (al 37 por 100, por lo menos) y completar hasta 1 litro con agua corriente.

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales sean enteras, tomar una muestra de 20 gramos, por lo menos, 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 de diafragma, tomar la misma cantidad de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón o de la musculatura de la lengua o de los músculos masticadores o, incluso, de la musculatura abdominal.

2. Para los trozos de carne, tomar una muestra de 20 gramos, por lo menos, de los músculos esqueléticos que contengan poca grasa y, en la medida de lo posible, cerca de los huesos y de los tendones.

c) Método:

Para el examen de una muestra colectiva procedente de 10 cerdos, se tomará una muestra que pese 10 gramos de cada muestra individual (20 gramos). Los 10 gramos restantes se conservarán para un examen individual si fuera necesario.

Se reunirán 10 muestras de 10 gramos cada una, en una muestra colectiva; se triturarán por medio de una picadora de carne (diámetro de los agujeros: 2 milímetros) y se colocarán, sin aplastar, en el tamiz provisto de un cedazo. Se suspenderá entonces el tamiz en un embudo, unido por un trozo de tubo de caucho, a un tubo puntiagudo de punta soldada; se llenará el embudo con el líquido de digestión hasta que el material de análisis esté completamente recubierto. La relación material de análisis/líquido de digestión, deberá ser de 1/20 a 1/30, aproximadamente.

Después de una incubación de dieciocho a veinte horas, a una temperatura de 37 a 39 °C, se separará el tubo puntiagudo. Eliminar con precaución el líquido que sobrenade en dicho tubo y recoger en una cápsula el sedimento, que será cuidadosamente aclarado. Buscar la presencia de triquinas con ayuda del estereomicroscopio, con un aumento de 20 a 40 veces.

En caso de resultado positivo o dudoso del análisis de una muestra colectiva, analizar individualmente las muestras restantes, a las que se añadirán 20 gramos, tomadas de cada cerdo o, en caso de que se trate de trozos de carne, 20 gramos tomados de cada trozo, con arreglo a la letra b).

III. Método de la digestión artificial de muestras colectivas

a) Instrumental y reactivos:

Un cuchillo y pinzas para la toma de muestras.

Una máquina de picar carne, cuyos agujeros deberán tener un diámetro comprendido entre 2 y 3 milímetros.

Un matraz «Erlenmeyer» de 3 litros provisto de un tapón de goma o de guata.

Un embudo cónico de separación, de una capacidad de 2.000 mililitros.

Un soporte normal, con el pie en forma de A, de 28 centímetros de longitud, provisto de una varilla de 80 centímetros.

Un anillo de 10 a 11 centímetros que pueda fijarse al soporte.

Una pinza provista de una mordaza plana (23/40 milímetros) que pueda sujetarse al soporte mediante un manguito doble.

Un tamiz (finura de la malla: 177 micras) de un diámetro exterior de 11 centímetros, provisto de una rejilla de latón o de acero inoxidable.

Un embudo de un diámetro interior mínimo de 12 centímetros.

Probetas graduadas de 100 mililitros.

Un estereomicroscopio (aumento de 15 a 40 veces) que disponga de una iluminación adecuada, o un triquinoscopio provisto de una tabla horizontal para el compresor, que disponga de una iluminación adecuada.

En caso de utilización del triquinoscopio: Una cubeta para el cómputo de larvas, que se podrá describir de la siguiente manera:

Una cubeta formada por placas acrílicas de un espesor de 3 milímetros y que reúna 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 una cubeta provista de 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 deberán fijarse mediante una cola adecuada al material empleado.

En caso de utilización del estereomicroscopio, una serie de placas de «Petri», de un diámetro de 9 centímetros, cuyo fondo esté dividido en cuadrados de examen de 10 x 10 milímetros, mediante un instrumento puntiagudo.

Varios recipientes de 10 litros que se utilizarán para la descontaminación de los instrumentos, mediante un tratamiento (como el formal) y para el líquido de digestión que quede, en caso de resultado positivo.

Acido clorhídrico concentrado (al 37 por 100, por lo menos).

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).

Un número de bandejas que puedan contener 50 muestras de, aproximadamente, 2, gramos cada una. Una balanza de precisión de 0,1 gramo.

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales sean enteras, tomar una muestra, aproximadamente, de 2 gramos en 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 contengan poca grasa y, en la medida de lo posible, cerca de los huesos o de los tendones.

c) Método:

1.A) Grupos completos de muestras (100 a la vez):

Se tomará una muestra de, aproximadamente, 1 gramo de cada una de las 100 muestras individuales procedentes de los cerdos. La muestra colectiva se pasará una vez por la máquina de picar carne.

La carne picada se colocará en el matraz «Erlenmeyer» de 3 litros, al mismo tiempo que 7 gramos de pepsina y se cubrirá con 2 litros de agua de grifo, calentada a una temperatura aproximada de 40 a 41 °C y con 25 mililitros de ácido clorhídrico concentrado. Agitar la mezcla para disolver la pepsina. El pH de la solución será, entonces de, aproximadamente, 1,5 a 2.

Para la digestión, el matraz «Erlenmeyer» se colocará en una estufa a 40-41 °C durante cuatro horas, aproximadamente. Durante este tiempo se agitará regularmente, como mínimo, dos veces por hora.

Digerida la solución, se filtrará mediante un tamiz, a través del embudo cónico de separación de 2 litros y se dejará en reposo sobre el soporte durante, por lo menos, una hora.

Se trasvasará a una probeta graduada un volumen total de, aproximadamente, 45 mililitros, y se distribuirá en tres placas de «Petri», cuyos fondos estarán divididos en cuadrados de 15 mililitros por placa.

Cada placa de «Petri» se examinará minuciosamente en el estereomicroscopio, con el fin de descubrir las larvas.

En caso de utilización de cubetas para el cómputo de larvas, los 45 mililitros se distribuirán en dos cubetas y se examinarán en el triquinoscopio.

Las larvas aparecerán en el sedimento como unos organismos identificables y, si el agua estuviera tibia, frecuentemente se podrán observar los enrollados y desenrollados de la espiral.

Los líquidos de digestión se deberán examinar 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 fueran lo suficientemente transparentes, o si no se examinaran en el plazo de treinta minutos siguientes a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera:

Verter la muestra final de 45 mililitros en una probeta graduada y dejar sedimentar durante diez minutos. Después de dicho tiempo, quitar por aspiración 30 mililitros del líquido sobrenadante y agregar agua de grifo a los 15 mililitros restantes, hasta obtener un volumen total

de 45 mililitros. Después de un nuevo período de reposo de diez minutos, quitar por aspiración 30 mililitros del líquido sobrenadante, verter los 15 mililitros restantes en una placa de «Petri», con una cubeta, para el cómputo de las larvas, con vistas a su examen. Lavar la probeta graduada con 10 mililitros de agua de grifo; agregar el líquido así obtenido a la muestra en la placa de «Petri», o en la cubeta para cómputo de larvas y examinar.

1.B) Grupos de menos de 100 muestras:

Se podrá agregar un máximo de 15 muestras individuales, a un grupo completo de 100 muestras, para examinarlas al mismo tiempo que estas últimas. Si el número de muestras que se deban examinar es superior a 15 e inferior a 100, el líquido de digestión se deberá reducir proporcionalmente.

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 descubrieran las triquinas en la 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.

IV. Método de la digestión de muestras colectivas con asistencia mecánico/técnica de la sedimentación

a) Instrumental y reactivos:

Un cuchillo o tijeras para cortar las muestras.

Bandejas divididas en 50 cuadrados que puedan contener, cada uno, las muestras de carne de, aproximadamente, 2 gramos.

«Stomacher Lab-blender» 3.500, Thermo model.

Bolsas de plástico adaptadas al «Stomacher Lab-blender».

Embudos de separación cónicos de una capacidad de 2 litros, preferentemente, provistos de llaves de seguridad de teflón.

Soportes con anillos y fijaciones.

Tamices, finura de 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 cuyo destino sea recibir los tamices.

Probetas graduadas de 100 mililitros.

Un dosificador de 25 mililitros.

Vasos de precipitados de una capacidad de 3 litros.

Una cuchara o una varilla de vidrio para agitar el líquido de digestión en el vaso de precipitados.

Una jeringa de plástico y un tubo de aspiración.

Una cuchara graduada de 6 gramos.

Un termómetro de una precisión de $\pm 0,5$ °C, con una graduación de 1 a 100 °C.

Un vibrador (por ejemplo, una afeitadora eléctrica sin cabeza).

Un relé que se encienda y apague cada minuto.

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 deberán fijarse mediante una cola adecuada al material empleado.

En caso de utilización del estereomicroscopio, varias placas de «Petri» de un diámetro de 9 centímetros, cuyo fondo esté dividido en cuadrados de 10 x 10 milímetros, mediante un instrumento puntiagudo.

Solución de ácido clorhídrico al 17,5 por 100.

Concentración de pepsina: 1: 10.000 NF (US National Formulary), correspondiente a 1: 12.500 BP (British Pharmacopoea), correspondiente a 2.000 FIP (Federación Internacional de Farmacia).

Varios recipientes de 10 litros que se utilizarán para la descontaminación del instrumental, mediante un tratamiento (como el formol) y para el líquido de digestión que quede, en caso de resultado positivo.

Una balanza de una precisión de 0,1 gramo.

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales sean 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 contengan poca grasa y, en la medida de lo posible, cerca de los huesos o de los tendones.

c) Método:

1. Procedimiento de digestión:

A) Grupos completos de muestras (100 a la vez):

Proveer al «Stomacher Lab-blender» 3.500 de una pequeña bolsa doble de plástico y regular la temperatura en 40-41 °C.

Trasladar a la pequeña bolsa 25 mililitros de la solución de ácido clorhídrico al 17,5 por 100. Luego agregar 100 muestras de, aproximadamente, 1 gramo cada una (a 25-30 °C) tomadas de cada una de las muestras individuales, de acuerdo con el procedimiento contemplado en la letra b). Por último, agregar 6 gramos de pepsina.

Respetar escrupulosamente el orden de las operaciones, para evitar la descomposición de la pepsina.

Triturar en el «Stomacher» durante veinticinco minutos.

Quitar la pequeña bolsa de plástico del «Stomacher», filtrar el líquido de digestión a través de un tamiz y dejarlo pasar a un vaso de precipitados de 3 litros.

Lavar la pequeña bolsa de plástico con 100 mililitros de agua, aproximadamente, que luego se utilizará para enjuagar el tamiz y se agregará al filtrado que contenga el vaso de precipitados.

Se podrá agregar un máximo de 15 muestras individuales a un grupo completo de 100 muestras para examinarlas al mismo tiempo que estas últimas.

B) Grupos de menos de 100 muestras:

Proveer al «Stomacher Lab-blender» 3.500 de una pequeña bolsa doble de plástico y regular la temperatura en 40-41 °C.

Preparar un líquido de digestión mezclando, aproximadamente, 1 litro y medio de agua y 25 mililitros de ácido clorhídrico al 17,5 por 100. Agregar 6 gramos de pepsina y mezclar todo a una temperatura de 40-41 °C.

Hay que respetar escrupulosamente el orden de las operaciones para evitar la descomposición de la pepsina.

Determinar un volumen de líquido de digestión correspondiente a 15 mililitros por gramo de muestras (así, para 30 muestras, habrá que extraer 30 x 15 mililitros = 450 mililitros) y traspasarlo a la pequeña bolsa de plástico interior al mismo tiempo que las muestras de carne de, aproximadamente, 1 gramo (a 25-30 °C), tomadas cada una de las muestras individuales, de acuerdo con el procedimiento contemplado en la letra b).

Verter el agua, aproximadamente, a 41 °C, en la pequeña bolsa exterior, hasta obtener un volumen total de 1 litro y medio en las dos pequeñas bolsas.

Triturar en el «Stomacher» durante veinticinco minutos.

Quitar la pequeña bolsa de plástico del «Stomacher», filtrar el líquido de digestión a través de un tamiz y dejarlo pasar a un vaso de precipitados de 3 litros.

Lavar la pequeña bolsa de plástico con 100 mililitros de agua, aproximadamente, que luego se utilizará para enjuagar el tamiz y que se añadirá al filtrado que contenga el vaso de precipitados.

2. Aislamiento de las larvas con sedimentación:

Agregar al líquido de digestión 300-400 gramos de hielo en laminillas, o de hielo triturado, para obtener un volumen de 2 litros, aproximadamente. Agitar hasta que el hielo se funda. En el caso de grupos más pequeños de los descritos en la letra 1.B) anterior, la cantidad de hielo deberá reducirse proporcionalmente.

Traspasar el líquido de digestión enfriado a un embudo de separación de 2 litros provisto de un vibrador que se habrá fijado mediante una pinza supletoria.

Para la sedimentación, dejar el líquido en el embudo de separación durante treinta minutos, alternando un minuto de vibración y un minuto de pausa.

Después de los treinta minutos, introducir rápidamente 60 mililitros del sedimento en una probeta graduada de 100 mililitros. Después de su utilización, enjuagar el embudo con una solución detergente.

Dejar reposar la muestra de 60 mililitros y quitar por aspiración el líquido sobrenadante hasta dejar en la probeta un volumen de 15 mililitros, que se examinará para investigar la presencia de larvas.

Para la aspiración utilizar una jeringa de plástico desechable, provista de un tubo de plástico. La longitud del tubo deberá permitir que en la probeta graduada queden 15 mililitros del líquido cuando el cuello de la jeringa se encuentre al nivel del borde del cilindro.

Introducir los 15 mililitros restantes en una cubeta para el cómputo de larvas, o en dos placas de «Petri», y examinarlas en el triquinoscopio o en el estereomicroscopio.

Los líquidos de digestión se deberán examinar 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 fueran lo suficientemente transparentes, o si no se examinaran en el plazo de treinta minutos siguientes a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera: Verter la muestra final de 60 mililitros en una probeta graduada y dejar sedimentar durante diez minutos. Después de dicho tiempo, quitar por aspiración 45 mililitros de líquido sobrenadante y agregar agua de grifo a los 15 mililitros restantes, hasta obtener un volumen total de 45 mililitros. Después de un nuevo período de reposo de diez minutos, quitar por aspiración 30 mililitros del líquido sobrenadante, ver-

ter los 15 mililitros restantes en una placa de «Petri», o en una cubeta para el cómputo de las larvas, con vistas a su examen. 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 cómputo de larvas y examinar.

3. 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 el anterior apartado 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 descubrieran las triquinas en la muestra de un grupo de cinco cerdos, se deberán tomar muestras de 20 gramos de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se deberán examinar individualmente de acuerdo con el método antes descrito.

V. Método de la digestión de muestras colectivas con asistencia mecánico/técnica del aislamiento por filtración

a) Instrumental y reactivos:

Los mismos que los de la letra a) del método IV, más:

Un embudo «Gelman» de 1 litro, con soporte para filtro (diámetro del soporte: 45 milímetros).

Discos filtrantes compuestos de:

Una rejilla redonda de acero inoxidable: Finura de la malla de 35 micras, diámetro del disco de 45 milímetros.

Dos anillos de goma de 1 milímetro de espesor: Diámetro exterior de 45 milímetros, diámetro interior de 38 milímetros.

La rejilla se deberá colocar entre los anillos y se fijará con una cola de dos componentes que se adapten a los dos materiales (acero inoxidable y goma).

Un matraz «Erlenmeyer» de 3 litros provisto de un tubo lateral para aspiración.

Una bomba de filtración.

Bolsas pequeñas de plástico de una capacidad mínima de 80 mililitros.

Un saco de sosa.

«Rennilase» 1: 150.000 unidades «Soxlet» por gramo.

b) Toma de muestras:

Igual que la letra b) del método IV.

c) Método:

1. Procedimiento de digestión:

A) Grupos completos de muestras (100 a la vez):

Igual que en el apartado 1.A) del punto 1 de la letra c) del método IV.

B) Grupos de menos de 100 muestras:

Igual que en el apartado 1.B) del punto 1 de la letra c) del método IV.

2. Aislamiento de las larvas por filtración:

Agregar al líquido de digestión 300-440 gramos de hielo en laminillas o de hielo triturado, para obtener un volumen de 2 litros, aproximadamente. En el caso de grupos más pequeños, la cantidad de hielo deberá reducirse proporcionalmente.

Agitar el líquido de digestión hasta que el hielo se funda. Dejar reposar el líquido de digestión enfriado, durante tres minutos, por lo menos, para que las larvas puedan enrollarse.

Colocar el embudo «Gelman» provisto de un soporte para filtro, en el cual se encuentra un disco filtrante, sobre un matraz «Erlenmeyer» conectado a una bomba de filtración.

Introducir el líquido de digestión en el embudo «Gelman» y filtrar. Hacia el final, se podrá acelerar el paso del líquido a través del filtro, procediendo a una aspiración mediante la bomba de filtración. Terminar la aspiración exactamente antes de que el filtro se seque, es decir, cuando queden entre 2 y 5 mililitros de líquido en el embudo.

Después de la filtración de todo el líquido de digestión, quitar el disco filtrante y colocarlo en una pequeña bolsa de plástico de 80 mililitros agregando de 15 a 20 mililitros de solución de «rennilase». Para obtener la solución de «rennilase» se introducirán 2 gramos de «rennilase» en 100 mililitros de agua de grifo.

Practicar una doble soldadura en la pequeña bolsa de plástico y colocarla en el «Stomacher» entre la pequeña bolsa interior y la pequeña bolsa exterior.

Triturar en el «Stomacher» durante tres minutos, por ejemplo. Entre tanto, el aparato se utiliza para el análisis de un grupo completo o incompleto de muestras.

Después de tres minutos, quitar del «Stomacher» la pequeña bolsa de plástico que contiene el disco filtrante y la solución de «rennilase» y abrirla con la ayuda de tijeras. Introducir el líquido en una cubeta para el cómputo de las larvas, o en una placa de «Petri». Lavar la pequeña bolsa con 5 ó 10 mililitros de agua, que luego se introducirá en la cubeta para la triquinoscopia, o en una placa de «Petri» para examen en el estereomicroscopio.

Los líquidos de digestión deberán examinarse en el momento en que estén dispuestos. En ningún caso se podrá postergar el examen para el día siguiente.

Es importante no utilizar nunca discos filtrantes que no estén perfectamente limpios y no secar nunca discos filtrantes si no están limpios.

Para limpiar los discos es preciso dejarlos en una solución de «rennilase» durante al menos ocho horas. Antes de su utilización, se deberán lavar en el «Stomacher» en una solución de «rennilase».

3. 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). Se deberán reunir las muestras de 20 gramos procedentes de cinco cerdos y examinarlas de acuerdo con el método anterior. De esta forma, se examinarán las muestras en 20 grupos de cinco cerdos. Si se descubrieran 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 examinarán de acuerdo con el método antes descrito.

VI. 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, muestras 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 puntiado.

Una hoja de aluminio.

Acido clorhídrico al 25 por 100.

Concentración de pepsina: 1:10.000 NF (US National Formulary); correspondiente a 1:12.500 BP (British Pharmacopeia); 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 jugo 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 las 50 muestras, los líquidos de digestión se 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.

VII. Método de digestión automática de muestras colectivas de hasta 35 gramos

a) Instrumental y reactivos:

Cuchillo o tijeras para cortar las muestras.

Bandejas divididas en 50 cuadrados que puedan contener, cada uno de ellos, muestras de carne de 2 gramos, aproximadamente.

Mezclador «Trichomatic 35» con pieza de filtración.

Solución de ácido clorhídrico al 8,5 por 100 \pm 0,5 por 100 en peso.

Filtro de membrana de policarbonato transparente de 50 milímetros de diámetro con poros de 14 micrómetros.

Concentración de pepsina: 1:10.000 NF (US National Formulary), correspondiente a 1:12.500 BP (British Pharmacopeia), correspondiente a 2.000 FIP (Federación Internacional de Farmacia).

Balanza de precisión de 0,1 gramo.

Pinzas planas.

Varios portaobjetos de microscopio de 5 centímetros de lado como mínimo o varias placas de «Petri» de, al menos, 6 centímetros de diámetro, cuyo fondo esté dividido en cuadrados de 10 x 10 milímetros mediante un instrumento puntiagudo.

Esteriomicroscopio de transmisión de luz (15 a 60 aumentos) o triquinoscopio provisto de una tabla horizontal.

Cubo o recipiente para la recogida de líquidos residuales.

Varios recipientes de 10 litros que se utilizarán para la desinfección del instrumental, mediante un tratamiento (como el formol) y para el jugo digestivo sobrante, en caso de resultado positivo.

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales estén enteras, tomar una muestra de, aproximadamente, 2 gramos en 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 el borde costal del esternón, en parte del diafragma, en los músculos masticadores o bien en la musculatura abdominal.

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

c) Método:

1. Procedimiento de digestión:

Colocar el mezclador con la pieza de filtración, conectar el tubo de desagüe y conducir el tubo al cubo de residuos.

Al encender el mezclador, se inicia el calentamiento. Antes de comenzar se deberá abrir y cerrar la válvula del fondo situada bajo la cámara de reacción.

A continuación, agregar un máximo de 35 muestras, de, aproximadamente, 1 gramo cada una (a 25-30 °C), tomadas de cada una de las distintas muestras, según lo dispuesto en la letra b). Asegurarse de que se han eliminado los trozos de tendón de mayor tamaño, ya que pueden obstruir el filtro de la membrana.

Llenar de agua, hasta el borde, la cámara de líquidos conectada al mezclador (400 mililitros, aproximadamente).

Verter 30 mililitros, aproximadamente, de ácido clorhídrico (8,5 por 100) hasta el borde de la cámara de líquidos más pequeña, que también está conectada.

Colocar un filtro de membrana bajo el filtro grueso en el soporte para el filtro de la pieza de filtración.

Por último, agregar 7 gramos de pepsina.

Respetar escrupulosamente el orden de las operaciones para evitar la descomposición de la pepsina.

Cerrar la tapa de la cámara de reacción y de líquidos.

Seleccionar el tiempo de duración de la digestión:

Un período de digestión corto (cinco minutos), en el caso de cerdos en edad normal de sacrificio, y un período prolongado (ocho minutos) para las muestras restantes.

La digestión automática comienza al oprimir el botón de puesta en marcha del mezclador (la digestión y la filtración subsiguiente tienen lugar de forma automática). El proceso finaliza entre diez y trece minutos después y se detiene automáticamente.

Abrir la tapa de la cámara de reacción y comprobar que ésta se halla vacía. Si en la cámara hay espuma o líquido de digestión, aplicar el procedimiento descrito en el punto 5 de esta letra c).

2. Recuperación de larvas:

Desmontar el soporte para el filtro y trasladar el filtro de membrana a un portaobjetos o a una placa de «Petri».

Examinar el filtro de membrana con microscopio o triquinoscopio.

3. Limpieza del material:

En caso de resultado positivo, llenar de agua hirviendo dos tercios de la cámara de reacción del mezclador. Llenar de agua corriente la cámara de líquidos conectora hasta cubrir el sensor de nivel inferior. A continuación tiene lugar el programa automático de limpieza. Desinfectar el soporte para filtro y el material restante, por ejemplo, utilizando formol.

Al finalizar la jornada laboral, llenar de agua la cámara de líquidos del mezclador y llevar a cabo un programa estándar.

4. Uso de filtros de membrana:

Cada filtro de membrana de polibicarbonato no podrá usarse más de cinco veces. Deberá darse la vuelta al filtro después de cada uso. Igualmente, después de cada uso se comprobará que el filtro no haya sufrido daño alguno que lo haga inservible.

5. Método que deberá aplicarse cuando la digestión sea incompleta y, en consecuencia, no se pueda efectuar la filtración:

Cuando se efectúe el procedimiento automático del mezclador, de conformidad con el punto 1 de la letra c), si al abrir la tapa de la cámara de reacción y se comprueba que hay espuma o líquido en ella, se llevará a cabo el procedimiento siguiente:

Cerrar la válvula del fondo situada bajo la cámara de reacción.

Desmontar el soporte para filtro y trasladar el filtro de membrana a un portaobjetos o a una placa de «Petri».

Poner un nuevo filtro de membrana en el soporte para filtro y montar este soporte.

Llenar de agua la cámara de líquidos del mezclador hasta cubrir el sensor de nivel inferior.

Llevar a cabo el programa automático de limpieza.

Una vez finalizado el programa de limpieza, abrir la tapa de la cámara de reacción y comprobar si hay restos de líquidos.

Si la cámara está vacía, desmontar el soporte para filtro y trasladar el filtro de membrana, con ayuda de unas pinzas, a un portaobjetos o una placa de «Petri».

Examinar los dos filtros de membrana de conformidad con lo dispuesto en el punto 2 de la letra c). Si no es posible examinar los filtros, repetir todo el procedimiento de digestión, aplicando un período de digestión prolongado, de conformidad con el punto 1 de la letra c).

6. Si los resultados del examen de una muestra colectiva fuesen positivos o dudosos, se tomarán nuevas muestras de 20 gramos de cada uno de los cerdos, de acuerdo con el procedimiento descrito en la letra b).

Estas muestras se examinarán por separado, de acuerdo con el método citado anteriormente.

ANEXO II

CAPITULO I

Condiciones que deben cumplir los laboratorios de detección de triquinias

Los laboratorios de detección de triquinias deberán encontrarse próximos de los locales de sacrificio de los cerdos y caballos y deberán disponer, por lo menos, de:

a) Un local suficientemente equipado, que pueda cerrarse con llave, para la confección de las preparaciones; sus paredes serán lisas y estarán revestidas o pintadas con pintura lavable y clara hasta una altura de 2 metros.

Se dispondrá de un local de preparación para cada método de examen utilizado.

b) Un local de examen suficientemente equipado, cerrado con llave, que pueda oscurecerse en el caso de utilización de un triquinoscopio.

c) Equipos de ventilación suficiente y, en caso necesario, de una instalación de aire acondicionado que permita conseguir una temperatura ambiente que no sobrepase los 25 °C.

d) Iluminación natural o artificial suficiente que no modifique los colores: Deberá evitarse la luz solar intensa.

e) Equipos suficientes para la limpieza y la desinfección de las manos en el local donde se realizan las preparaciones.

f) En su caso, de una instalación frigorífica para la conservación de las muestras de carne.

g) Una sala con agua corriente para la limpieza y desinfección del material de examen (por ejemplo, recipientes de muestras, compresores, cuchillos y tijeras) provisto:

De un revestimiento del suelo impermeable e inalterable, fácil de limpiar y desinfectar.

De paredes lisas, revocadas hasta una altura mínima de 2 metros con un revestimiento o una pintura lavable y clara.

Esta sala no será obligatoria en caso de aplicación de los métodos contemplados en los apartados II, III, IV, V, VI del anexo I, siempre que los laboratorios dis-

pongan de un gran sumidero convenientemente conectado con las canalizaciones.

h) Vestuarios, aseos y salas de reposo, así como de retretes equipados con cisternas.

i) Lavabos provistos de agua potable corriente, fría y caliente, equipados con productos de limpieza y de desinfección y de toallas de usar y tirar.

j) Recipientes estancos, que resistan a la corrosión, provistos de tapaderas que cierren herméticamente, concebidos de modo que impidan toda toma no autorizada de su contenido, destinados a recoger los restos de muestras.

k) Instalaciones que suministren una cantidad suficiente de agua potable, fría y caliente.

l) Un dispositivo de evacuación de las aguas residuales, con arreglo a las prescripciones que regulan la autorización de los mataderos.

m) Dispositivos apropiados de protección contra los animales indeseables, tales como insectos, roedores, etc.

CAPITULO II

Disposiciones aplicables al personal, a los locales, al material y a los instrumentos de los laboratorios de detección de triquinias

1. Se exigirá en todo momento un estado de limpieza absoluta del personal del laboratorio, de los locales, del material y de los instrumentos, y especialmente:

a) El personal deberá, en particular, llevar ropa de trabajo limpia y lavarse las manos varias veces durante una misma jornada de trabajo, así como a cada reinicio del trabajo.

b) Ningún animal deberá penetrar en los laboratorios de detección de triquinias.

c) El material y los instrumentos utilizados para el trabajo deberán conservarse en buen estado de mantenimiento y de limpieza, deberán limpiarse y desinfectarse cuidadosamente varias veces durante una misma jornada de trabajo, así como al final de las operaciones de la jornada.

2. Se exigirá la utilización de agua potable para todos los usos.

3. En lo que se refiere al estado de salud de las personas asignadas a la toma de muestras para el examen, deberán acreditar mediante un certificado médico que no hay nada que se oponga a que se le asignen dichas tareas. Este control médico dependerá de la legislación vigente en el país tercero de que se trate.

4. Las muestras de carne necesarias para el examen deberán tomarse inmediatamente después del sacrificio y examinarse sin demora en el laboratorio de detección de triquinias del matadero.

Queda prohibido realizar dicho examen fuera del matadero en el que hayan sido sacrificados los animales, salvo autorización expresa de la autoridad competente.

5. Para prevenir la fatiga y sus consecuencias deberán concederse al personal de control breves interrupciones de trabajo.

CAPITULO III

Disposiciones relativas a los triquinoscopios

La concepción y el tipo de los triquinoscopios deberán responder a los criterios mínimos siguientes:

1. Facilidad de uso.
2. Iluminación potente:

Es preciso que los resultados del control sean seguros incluso si los locales no se encuentran completamente a oscuras.

La fuente luminosa será una lámpara de proyección de 100 W (12 V).

3. Aumentos suficientes:

Para el trabajo normal serán necesarios 50 aumentos. Para una identificación segura de las imágenes que no sean claramente identificables con los aumentos de trabajo normal, serán necesarios de 80 a 100 aumentos.

4. Poder separador:

Cada aumento deberá dar una imagen clara, precisa, de color neto.

5. Dispositivo de conmutación:

Todo cambio de aumento deberá ir acompañado de un ajuste automático de la luminosidad de la imagen.

6. Aumento de contraste:

El condensador deberá ir equipado de un diafragma de iris que permita reforzar los contrastes para el examen profundo de los casos delicados.

El diafragma de iris deberá ser de fácil regulación (por ejemplo, mediante una palanca de control fijada a la mesa del triquinoscopio).

7. Facilidad de enfoque:

Enfoque rápido, mediante anillo regulador.
Enfoque fijo, mediante palanca de mando.

8. Regulación de la tensión:

Que permita obtener la luminosidad deseada en la situación dada.

9. Desplazamiento del compresor en sentido único:

Un sistema de bloqueo automático deberá garantizar el desplazamiento del compresor en un solo sentido para impedir todo desplazamiento imprevisto.

10. Campo visual libre en dirección hacia la superficie de proyección.

11. Superficie de proyección:

Duradera.
Diámetro de 54 centímetros como mínimo.
Alto poder de reflexión.
Desmontable.
Fácil de limpiar.

ANEXO III

Marcado de las carnes, procedentes de países terceros, que hayan sido objeto del examen de detección de triquinas

1. El marcado de las carnes deberá efectuarse bajo la responsabilidad del Veterinario oficial. A este efecto, éste tendrá en su posesión y conservará:

Los instrumentos destinados al marcado, que únicamente podrá dejarlos al personal auxiliar en el momento mismo del marcado y durante el tiempo necesario para ello.

Los marchamos, en forma de placas, que se mencionan en el número 5. Dichos marchamos en forma de placas se darán al personal auxiliar en el momento mismo en el que deban utilizarse y en número que corresponda a las necesidades.

2. La marca deberá ser un sello en forma redonda, de 2,5 centímetros de diámetro, en el que deberán de

figurar en caracteres perfectamente legibles las indicaciones siguientes:

En el centro, la letra T mayúscula, cuyas barras tendrán 1 centímetro de longitud y 0,2 centímetros de anchura.

Bajo la letra T anteriormente citada, una de las siglas CEE, EEG, EWG, EOF, EOK, EEC o ETY. Las letras deberán tener una altura de 0,4 centímetros.

3. Las canales se marcarán con tinta o a fuego, en la cara interna de los muslos, con arreglo a lo dispuesto en el apartado 2.

4. Las cabezas se marcarán con tinta o a fuego, con ayuda de una marca que corresponda a lo prescrito en el apartado 2.

Los trozos obtenidos en las salas de despiece a partir de canales regularmente marcadas, deberán, en la medida en que no lleven estampilla alguna, ser marcados antes de la colocación del marcado de inspección veterinaria, con arreglo a lo dispuesto en el apartado 2.

En el caso de utilización de etiquetas, éstas deberán responder a las condiciones establecidas en el apartado 6 del presente anexo.

5. El marcado podrá efectuarse también con ayuda de un marchamo redondo, en forma de chapa. Dicho marchamo en forma de chapa se fijará en cada trozo o en cada canal y deberá ser de materiales resistentes, autorizados para entrar en contacto con los alimentos, no reutilizables y cumplirán todos los requisitos de la higiene.

Sobre el marchamo en forma de placa deberán figurar las indicaciones siguientes en caracteres perfectamente legibles:

Hacia el centro de la letra T mayúscula.

Bajo la letra T anteriormente citada cada una de las siglas CEE, EEG, EWG, EOF, EOK, EEC o ETY.

Las letras deberán tener una altura de 0,2 centímetros.

6. Sobre las etiquetas, previstas en el apartado 4 anterior, deberá figurar, además de la marca de inspección de veterinaria, una marca bien legible que sea la réplica de la marca prevista en el apartado 2.

ANEXO IV

Tratamiento por frío

I. Método 1

1. Las carnes que se encuentren en estado congelado deberán conservarse en dicho estado.

2. La instalación técnica y la alimentación de la energía de la cámara frigorífica deberán ser tales que la temperatura contemplada en el párrafo 6 pueda alcanzarse en el plazo más breve posible y mantenerse en todas las partes de la cámara frigorífica así como de la carne.

3. Antes de la congelación deberán quitarse todos los embalajes aislantes, excepto en lo que se refiere a la carne que en el momento de la introducción en la cámara frigorífica haya alcanzado ya en todas sus partes la temperatura contemplada en el párrafo 6.

4. Los lotes deberán conservarse por separado en la cámara frigorífica y guardarse bajo llave.

5. Deberá anotarse, para cada lote, el día y la hora de su introducción en la cámara frigorífica.

6. La temperatura en la cámara frigorífica deberá alcanzar, por los menos, los "25 °C bajo cero" (-25 °C), verificándose mediante aparatos de medida termoelectrónica homologados y registrándose constantemente. No deberá medirse en las corrientes de aire frío. Los aparatos de medida se mantendrán bajo llave. Los gráficos lle-

varán la indicación de los números correspondientes de las cámaras, así como el día y la hora del comienzo y del final de la congelación, y se conservarán durante un año.

7. Las carnes, cuyo diámetro o espesor sea igual o inferior a 25 centímetros, deberán congelarse sin interrupción durante doscientas cuarenta horas, por lo menos. Aquéllas cuyo diámetro o espesor esté comprendido entre 25 y 50 centímetros, durante cuatrocientas ochenta horas, por lo menos. Las carnes cuyo diámetro o espesor sea superior a dichas dimensiones no podrán ser sometidas a dicho proceso de congelación, debiendo realizarse la inspección de triquinas por cualquiera de los métodos descritos en el anexo I. El período de congelación se calculará a partir del momento en que se alcance en la cámara de congelación la temperatura contemplada en el párrafo 6.

II. Método

Se deberán cumplir las normas generales de los párrafos 1 a 5 del método 1 y se aplicarán las siguientes combinaciones de temperatura y tiempo:

1. La carne, con un diámetro o espesor inferior de 15 centímetros, se congelará según una de las siguientes combinaciones:

Veinte: A - 15 °C.
Diez días: A - 23 °C.
Seis días: A - 29 °C.

2. La carne de un diámetro o espesor situado entre 15 y 50 centímetros se congelará según una de las siguientes combinaciones:

Treinta días: A - 15 °C.
Veinte días: A - 25 °C.
Doce días: A - 29 °C.

La temperatura dentro de la cámara frigorífica no podrá ser superior a la temperatura de inactivación elegida. Deberá medirse con aparatos de medida termoelectrica homologados y registrarse constantemente. No deberá medirse directamente en el flujo de aire frío. Los aparatos de medida se guardarán bajo llave. Los gráficos deberán llevar los números correspondientes del registro de inspección de la carne importada, así como la fecha y la hora del comienzo y del final de la congelación y se conservarán durante un año.

III. Método 3

Control de temperatura en el centro de las piezas de carne:

1. Cuando se controle la temperatura en el centro de las piezas, se aplicarán las siguientes combinaciones de temperatura y tiempo y se cumplirán los requisitos de los apartados 2 a 6:

Ciento seis horas: A - 18 °C.
Ochenta y dos horas: A - 21 °C.
Sesenta y tres horas: A - 23,5 °C.
Cuarenta y ocho horas: A - 26 °C.
Treinta y cinco horas: A - 29 °C.

Veintidós horas: A - 32 °C.
Ocho horas: A - 35 °C.
Media hora: A - 37 °C.

2. La carne que llegue en estado congelado deberá conservarse en dicho estado.

3. Los lotes deberán conservarse por separado en la cámara frigorífica y guardarse bajo llave.

4. Se anotarán el día y la hora de introducción de cada lote en la cámara frigorífica.

5. La instalación técnica y el suministro de energía de la cámara frigorífica deberán ser tales que la temperatura indicada en el apartado 1 pueda alcanzarse muy rápidamente y mantenerse en la totalidad de la pieza.

6. La temperatura deberá medirse con aparatos de medida termoelectrica homologados y registrarse constantemente. La sonda del termómetro se colocará en el centro de una pieza de carne calibrada, de un tamaño que no podrá ser inferior al de la pieza más gruesa que se vaya a congelar.

7. La pieza de carne calibrada se colocará en el lugar menos favorable de la cámara frigorífica, alejada del sistema de refrigeración y sin que esté directamente bajo el flujo de aire frío.

8. Los aparatos de medida se guardarán bajo llave.

9. Los gráficos deberán llevar los números correspondientes del registro de inspección de la carne importada, así como la fecha y la hora del comienzo y del final de la congelación y se conservarán durante un año.

ANEXO V

Inspección y congelación de carne de caballo

I. Inspección

La inspección de carne de caballo se realizará según uno de los métodos de digestión indicados en el anexo I, pero con estas modificaciones:

Se tomarán muestras de 10 gramos, como mínimo, de los músculos linguales o de los músculos masticadores. Cuando no se disponga de éstos, se tomará una muestra del mismo tamaño de un pilar del diafragma, en la zona de transición hacia la parte tendinosa. Los músculos estarán exentos de tejido conjuntivo y de grasa.

Si se utiliza el método de la digestión artificial de muestras colectivas de los apartados III a VII del anexo I, se utilizará una muestra de 5 gramos que se digerirá para la inspección. Para cada digestión, el peso total de músculo a examen no deberá exceder de 100 gramos para los métodos III, IV, V y VI del anexo I o de 35 gramos para el método VII del anexo I.

En caso de resultado positivo se tomará otra muestra de 10 gramos para un posterior análisis independiente.

II. Congelación de carne de caballo

Para eliminar las triquinas por congelación, se someterá la carne de caballo a un tratamiento frigorífico de acuerdo con uno de los métodos descritos en el anexo IV.