

384L0319

Nº L 167/34

Diario Oficial de las Comunidades Europeas

27. 6. 84

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN

de 7 de junio de 1984

por la que se modifican los Anexos de la Directiva 77/96/CEE relativa a la investigación de triquinas en el momento de las importaciones, procedentes de terceros países, de carnes frescas de animales domésticos de la especie porcina

(84/319/CEE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Vista la Directiva 77/96/CEE del Consejo, de 21 de diciembre de 1976, relativa a la investigación de triquinas en el momento de las importaciones, procedentes de terceros países, de carnes frescas de animales domésticos de la especie porcina ⁽¹⁾, modificada en último lugar por la Directiva 83/91/CEE ⁽²⁾ y, en particular, su artículo 8,

Considerando que los estudios recientemente realizados han permitido el ajuste de determinados métodos de investigación de triquinas en las carnes de porcinos; que dichos métodos ofrecen garantías sanitarias equivalentes a las que ofrecen los métodos existentes; que conviene, por lo tanto, completar el Anexo I de la Directiva 77/96/CEE;

Considerando que para facilitar la ejecución de la investigación de triquinas, interesa que se permita a los terceros países y a los Estados miembros, la opción entre los métodos de investigación previstos,

Considerando que se deben introducir determinadas adaptaciones de orden técnico, en los métodos de investigación de triquinas actualmente aplicados, así como en lo que se refiere a las condiciones que deben cumplir los laboratorios de detección de triquinas,

Considerando que las medidas previstas en la presente Directiva concuerdan con el Dictamen del Comité veterinario permanente,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

La Directiva 77/96/CEE se modificará conforme al Anexo.

Artículo 2

Los Estados miembros aplicarán las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para cumplir la presente Directiva, a más tardar, el 1 de enero de 1985, e informarán de ello a la Comisión.

Artículo 3

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 7 de junio de 1984

Por la Comisión

Poul DALSAGER

Miembro de la Comisión

(1) DO nº L 26 de 31. 1. 1977, p. 67.

(2) DO nº L 59 de 5. 3. 1983, p. 34.

ANEXO

A. El Anexo I se modificará de la siguiente manera:

1. En la letra a) del punto II:

- el segundo guión se sustituirá por el siguiente guión:
 - «— Estereomicroscopio (aumento de 15 a 40 veces) que disponga de una iluminación adecuada».
- el último guión se sustituirá por el siguiente guión:
 - «— Líquido de digestión compuesto de la siguiente manera: 10 g de pepsina [80 U/g FIP (Federación Internacional de Farmacia)], 5ml de HCl (37 %, por lo menos), llevar a un litro con agua corriente».

2. El texto del punto III se sustituirá por el siguiente texto:

«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 mm.
- Un matraz Erlenmeyer de 3 l provisto de un tapón de goma o de guata.
- Un embudo cónico de separación de una capacidad de 2 000 ml.
- Un soporte normal con el pie en forma de A, de 28 cm de longitud, provisto de una varilla de 80 cm.
- Un anillo de 10 a 11 cm que pueda fijarse al soporte.
- Una pinza provista de una boca chata (23/40 mm) que pueda sujetarse al soporte mediante un manguito doble.
- Un tamiz (finura de la malla: 177 μ) de un diámetro exterior de 11 cm, provisto de una rejilla de latón o de acero inoxidable.
- Un embudo de un diámetro interior, mínimo, de 12 cm.
- Probetas graduadas de 100 ml.
- 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 mm y que reúna las siguientes características:
 - i) fondo de la cubeta: 180 \times 40 mm, dividido en cuadrados;
 - ii) placas laterales: 230 \times 20 mm;
 - iii) placas frontales: 40 \times 20 mm.
 - El fondo y las placas frontales deberán estar fijos entre las placas laterales, de manera que formen una cubeta provista de 2 pequeñas asas en los dos 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. Las placas deberán fijarse mediante una cola adecuada al material.
- En caso de utilización del estereomicroscopio, una serie de placas de Petri de un diámetro de 9 cm, cuyo fondo esté dividido en cuadrados de examen de 10 \times 10 mm, mediante un instrumento puntiagudo.
- Varios cubos de 10 l que se utilizarán en el momento de la descontaminación de los instrumentos, mediante un tratamiento como el formol, y para el jugo digestivo que quede, en caso de resultado positivo.
- Acido clorhídrico concentrado (37 %).
- 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 g cada una.
- Una balanza de precisión de 0,1 g.

b) Toma de muestras

1. Cuando las canales están enteras, tomar una muestra, de aproximadamente 2 g, en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa; si no hubiere pilar del diafragma, 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 g, 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. i) Grupos completos de muestras (100 a la vez)**

Se tomará una muestra, de aproximadamente 1 g, 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 l, al mismo tiempo que 7 g de pepsina y se cubrirá con 2 l de agua de grifo calentada a una temperatura aproximada de 40 a 41 °C, y con 25 ml 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 4 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 l y se dejará en reposo sobre el soporte durante, por lo menos, una hora.

— Se trasegará a una probeta graduada, un volumen total de aproximadamente 45 ml, y se distribuirá en tres placas de Petri, cuyos fondos estarán divididos en cuadrados de 15 ml 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 ml 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 30 minutos siguiente a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera: verter la muestra final de 45 ml en una probeta graduada y dejar sedimentar durante 10 minutos. Después de dicho tiempo, quitar, por aspiración, 30 ml del líquido sobrenadante y agregar agua de grifo a los 15 ml restantes hasta obtener un volumen total de 45 ml. Después de un nuevo período de reposo de 10 minutos, quitar, por aspiración, 30 ml del líquido sobrenadante, verter los 15 ml 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 ml de agua de grifo; agregar el líquido obtenido a la muestra en la placa de Petri, o en la cubeta para cómputo de larvas y examinar.

ii) 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 g, de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en la anterior letra b). Las muestras de 20 g procedentes de 5 cerdos se deberán reunir y examinar de acuerdo con el método arriba descrito. De esta forma se examinarán las muestras de 20 grupos de 5 cerdos. Si se descubrieran las triquinas en un grupo de muestras de 5 cerdos, se deberán tomar las muestras de 20 g de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se deberán examinar de acuerdo con el método arriba descrito».

3. Se añadirán los siguientes puntos IV, V, VI:

«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 g.
- Un Stomacher Lab-blender 3 500, Thermo model.
- Bolsas de plástico adaptadas al Stomacher Lab-blender.
- Embudos de separación cónicos de una capacidad de 2 l, preferentemente provistos de llaves de seguridad de Teflon
- Soportes con anillos y fijaciones.
- Tamices, finura de malla 177 μ , de un diámetro exterior de 11 cm, provistos de una rejilla de acero inoxidable.
- Embudos de un diámetro interior mínimo de 12 cm, cuyo destino será recibir los tamices.
- Probetas graduadas de 100 ml.
- Un dosificador de 25 ml.
- Vasos de precipitados de una capacidad de 3 l.
- 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 g.
- 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 mm y deberá presentar las siguientes características:
 - i) fondo de la cubeta: 180 \times 40 mm, dividido en cuadrados;
 - ii) placas laterales: 230 \times 20 mm;
 - iii) placas frontales: 40 \times 20 mm.
 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 mm más elevada con relación a la base del cuadrado formado por las placas laterales y frontales. Fijar las placas mediante una cola adecuada al material.
- En caso de utilización del estereomicroscopio, varias placas de Petri de un diámetro de 9 cm, cuyo fondo esté dividido en cuadrados de 10 \times 10 mm, mediante un instrumento puntiagudo.
- Solución de ácido clorhídrico de 17,5 %.
- 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).
- Varios cubos de 10 l que se utilizarán en el momento de 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 una precisión de 0,1 g.

b) Toma de muestras

1. Cuando las canales están enteras, tomar una muestra, de aproximadamente 2 g, en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa; si no hubiere pilar del diafragma, 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 g, 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****i) 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.
- Verter un litro y medio de agua caliente a 32-35 °C en la pequeña bolsa interior y llevarla a 40-41 °C
- Trasladar a la pequeña bolsa 25 ml de la solución de ácido clorhídrico de 17,5 %.
- Luego, agregar 100 muestras, de aproximadamente 1 g 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 g de pepsina. Respetar escrupulosamente el orden de las operaciones, para evitar la descomposición de la pepsina.
- Triturar en el Stomacher durante 25 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 l.
- Lavar la pequeña bolsa de plástico con 100 ml 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.

ii) 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, un litro y medio de agua y 25 ml de ácido clorhídrico de 17,5 %. Agregar 6 g de pepsina y mezclar todo a una temperatura de 40-41 °C. Respetar escrupulosamente el orden de las operaciones para evitar la descomposición de la pepsina.
- Determinar un volumen de líquido de digestión correspondiente a 15 ml por g de muestra (así, para 30 muestras, habrá que extraer $30 \times 15 \text{ ml} = 450 \text{ ml}$) y traspassarlo a la pequeña bolsa de plástico interior, al mismo tiempo que las muestras de carne de aproximadamente 1 g (a 25-30 °C) tomadas de cada una de las muestras individuales, de acuerdo con el procedimiento contemplado en la letra b).
- Verter el agua a aproximadamente 41 °C, en la pequeña bolsa exterior hasta obtener un volumen total de un litro y medio en las dos pequeñas bolsas.
- Triturar en el Stomacher durante 25 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 l.
- Lavar la pequeña bolsa de plástico con 100 ml 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 por sedimentación

- Agregar al líquido de digestión 300-400 g de hielo en laminillas, o de hielo triturado para obtener un volumen de 2 l, aproximadamente. Agitar hasta que el hielo se funda. En el caso de grupos más pequeños [ver letra ii)], la cantidad de hielo deberá reducirse proporcionalmente.
- Traspassar el líquido de digestión enfriado a un embudo de separación de 2 l provisto de un vibrador que se habrá fijado mediante una pinza suplementaria.

- Para la sedimentación, dejar el líquido en el embudo de separación durante 30 minutos, alternando un minuto de vibración y un minuto de pausa.
 - Después de los 30 minutos, introducir rápidamente 60 ml de sedimento en una probeta graduada de 100 ml. (Después de su utilización, enjuagar el embudo con una solución detergente).
 - Dejar reposar la muestra de, por lo menos, 60 ml, quitar, por aspiración, el líquido sobrenadante hasta dejar en la probeta un volumen de 15 ml 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 ml del líquido cuando el cuello de la jeringa se encuentre al nivel del borde del cilindro.
 - Introducir los 15 ml 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 stén 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 30 minutos siguiente a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera: verter la muestra final de 60 ml en una probeta graduada y dejar sedimentar durante 10 minutos. Después de dicho tiempo, quitar, por aspiración, 45 ml del líquido sobrenadante y agregar agua de grifo a los 15 ml restantes hasta obtener un volumen total de 45 ml. Después de un nuevo período de reposo de 10 minutos, quitar, por aspiración, 30 ml del líquido sobrenadante, verter los 15 ml 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 ml de agua de grifo; 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 g, de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en la anterior letra b). Las muestras de 20 g procedentes de 5 cerdos se deberán reunir y examinar de acuerdo con el método arriba descrito. De esta forma se examinarán las muestras de 20 grupos de 5 cerdos. Si se descubrieran las triquinas en un grupo de muestras de 5 cerdos, se deberán tomar las muestras de 20 g de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se deberán examinar de acuerdo con el método arriba 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 un litro con soporte para filtro (diámetro del soporte: 45 mm).
- Discos filtrantes compuestos de:
 - una rejilla redonda de acero inoxidable, finura de la malla de 35 μ , diámetro del disco: 45 mm;
 - dos anillos de goma de 1 mm de espesor; diámetro exterior: 45 mm; diámetro interior: 38 mm.
 La rejilla se deberá colocar entre los anillos y se fijará con una cola de dos componentes que se adapte a los dos materiales.
- Un matraz Erlenmeyer de 3 l provisto de un tubo lateral para aspiración.
- Una bomba de filtración.
- Bolsas pequeñas de plástico de una capacidad mínima de 80 ml.
- Un saco de sosa
- «Rennilase» 1 : 150 000 unidades Soxlet por g

b) Toma de muestras

Ver letra b) del método IV.

c) **Método**1. *Procedimiento de digestión*

- i) Grupos completos de muestras (100 a la vez)
Ver letra i) del punto 1 de la letra c) del título IV.
- ii) Grupos de menos de 100 muestras
Ver letra ii) del punto 1 de la letra c) del título IV.

2. *Aislamiento de las larvas por filtración*

- Agregar al líquido de digestión 300-400 g de hielo en laminillas o de hielo triturado para obtener un volumen de, aproximadamente, 2 l. 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 3 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 ml 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 ml agregando de 15 a 20 ml de solución de «rennilase». Para obtener la solución de «rennilase» se introducirán 2 g de «rennilase» en 100 ml 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 3 minutos, por ejemplo; entretanto, el aparato se utilizará para el análisis de un grupo completo o incompleto de muestras.
- Después de 3 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 ml 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 desde el momento en que estén dispuestos. En ningún caso se podrá postergar el examen para el día siguiente.

Nota

No utilizar nunca discos filtrantes que no estén perfectamente limpios. No secar nunca discos filtrantes si no están limpios.

Para limpiar los discos, es preciso dejarlos en una solución de «rennilase» durante la noche. 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 g de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en la anterior letra b). Se deberán reunir las muestras de 20 g procedentes de 5 cerdos y examinarlas de acuerdo con el método anterior. De ésta forma, se examinarán las muestras de 20 grupos de 5 cerdos. Si se descubrieran las triquinas en un grupo de muestras de 5 cerdos, se deberán tomar las muestras de 20 g de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se examinarán de acuerdo con el método arriba 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 g, aproximadamente.
- Un molinillo.
- Un agitador magnético provisto de una placa térmica de temperatura controlada y una barra magnética (recurbierta de Teflón) de 5 cm, aproximadamente.

- Embudos de separación cónicos de una capacidad de 2 l.
- Soportes con anillos y fijaciones.
- Tamices, finura de la malla 177 μ , de un diámetro exterior de 11 cm, provistos de una rejilla de acero inoxidable.
- Embudos de un diámetro interior mínimo de 12 cm, destinados a recibir el tamiz.
- Un vaso de precipitados de 3 l.
- Probetas graduadas de una capacidad aproximada de 50 ml, o tubos de centrifugación.
- Un triquinoscopio de una table 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 mm y deberá presentar las siguientes características:

- i) fondo de la cubeta: 180 \times 40 mm, dividido en cuadrados,
- ii) placas laterales: 230 \times 20 mm,
- iii) placas frontales: 40 \times 20 mm.

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 mm más elevada con relación a la base del cuadrado formado por las placas laterales y frontales.

Fijar las placas con una cola adecuada al material.

- Varias placas de Petri, en caso de utilización de un estereomicroscopio, cuyo fondo se ha dividido en cuadrados de 10 \times 10 mm, mediante un instrumento puntiagudo.
- Una hoja de aluminio.
- Acido clorhídrico de 25 %.
- 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).
- Agua de grifo calentada a una temperatura de 46-48 °C.
- Varios cubos de 10 l que se utilizarán en el momento de 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 g.

b) Toma de muestras

1. Cuando las canales están enteras, tomar una muestra, de aproximadamente 2 g, en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa; si no hubiere pilar del diafragma, 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 g, 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. i) *Grupos completos de muestras* (100 a la vez)
 - Triturar en el molinillo 100 muestras, de aproximadamente 1 g, 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 l y espolvorearla con 10 g de pepsina. Introducir en el vaso de precipitados 2 l de agua de grifo calentada a una temperatura de 46-48 °C y agregar 16 ml 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 que permita la formación de un profundo remolino central sin provocar salpicaduras.
- Agitar el líquido de digestión durante 30 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 30 minutos.
- Después de 30 minutos, traspasar rápidamente una muestra de 40 ml del líquido de digestión a la probeta graduada, o al tubo de centrifugación.
- Dejar reposar la muestra de 40 ml durante 10 minutos y luego aspirar 30 ml de líquido sobrenadante dejando, así, un volumen de 10 ml.
- La muestra de 10 ml del sedimento restante se verterá en una cubeta para el cómputo de larvas, o en una placa de Petri.
- Ejuagar la probeta graduada o el tubo de centrifugación con aproximadamente 10 ml 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 al 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 30 minutos siguiente a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera: verter la muestra final, de aproximadamente 40 ml, en una probeta graduada y dejar sedimentar durante 10 minutos. Después de dicho tiempo, quitar 30 ml del líquido sobrenadante con el fin de obtener un volumen de 10 ml. Dicho volumen se llevará a 40 ml con agua de grifo. Después de un nuevo período de reposo de 10 minutos, quitar, por aspiración, 30 ml del líquido sobrenadante para obtener un volumen 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 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 ml. Luego, se aplicará el método arriba mencionado.

ii) *Grupos de menos de 100 muestras.*

Eventualmente, se podrán agregar 15 muestras, de 1 g 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). Se deberán examinar más de 15 muestras 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 l.

2. En caso de resultado positivo o dudoso del examen de una muestra colectiva, se deberá tomar una muestra de 20 g de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en la anterior letra b). Las muestras de 20 g procedentes de 5 cerdos se deberán reunir y examinar de acuerdo con el método arriba descrito. De esta forma se examinarán las muestras de 20 grupos de 5 cerdos. Si se detectan las triquinas en un grupo de muestras de 5 cerdos, se deberán tomar las muestras de 20 g de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se deberán examinar de acuerdo con el método arriba descrito.

B. El apartado 1 del Capítulo 1 del Anexo II se modificará de la siguiente manera:

1. La letra b) se sustituirá por el siguiente texto:

«b) de un local de examen suficientemente equipado, cerrado con llave, ocultable, en el caso de utilización de un triquinoscopio».

2. Se suprimirá la letra f); las letras g), h), i), j), k), l), m) y n) se transformarán, respectivamente, en f), g), h), i), j), k), l) y m).

3. La nueva letra g) se sustituirá por el siguiente texto:

«g) de un aseo para la limpieza y desinfección del material de examen (po ejemplo, recipientes de muestras, compresores, cuchillos y tijeras) provisto:

- de un revestimiento de suelo impermeable e inalterable, fácil de limpiar y desinfectar,
- de paredes lisas revocadas hasta una altura mínima de 2 m, con un revestimiento o una pintura lavable y clara.

Dicha disposición no será obligatoria en caso de aplicación de los métodos contemplados en los títulos II, III, IV, V, VI del Anexo I, siempre que los laboratorios dispongan de un gran sumidero conectado con las canalizaciones».