

Comisión Internacional de Triquinelosis
(International Commission on Trichinellosis: ICT)

***Métodos recomendados para el control de
Trichinella en animales domésticos y salvajes
destinados al consumo humano***

Comité de estándares de la ICT para establecer normas de control

Este documento brinda un conjunto uniforme de recomendaciones para el control de *Trichinella* en todos los niveles (granjas, mataderos y carnes procesadas). Estas recomendaciones están basadas en la más actualizada información científica disponible y representan la postura oficial de la Comisión Internacional de Triquinelosis (ICT, por sus siglas en inglés), con respecto a los métodos de control aceptables. Estas recomendaciones fueron publicadas por primera vez en el año 2000 por un Comité de la ICT conformado por los siguientes miembros: A.S. Bessonov (Rusia), K. Cuperlovic (Serbia), A. A. Gajadhar (Canadá), H.R. Gamble (EUA), F. van Knapen (Holanda), K. Noeckler (Alemania), H. Schenone (Chile) y X. Zhu (China). En 2006 una versión con información científica actualizada preparada por P. Boireau (Francia), F. Bruschi (Italia), H.R. Gamble (EUA), A.A. Gajadhar (Canadá) y K. Noecker (Alemania) fue aprobada por el Comité Ejecutivo de la ICT.

Traducción al idioma Español: -Stella M. Venturiello
-Lilian Yépez-Mulia

Dr. Lilián Yépez-Mulia
UIMEIP-Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI,
Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City, CP 06720, Mexico.
E-mail: lilianyeppez@yahoo.com
phone: 525556276940 Fax: 525556276949

Prof. Dr. Stella M. Venturiello
Laboratorio de Inmunoparasitología. Cátedra de Inmunología
Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. IDEHU-CONICET
Junín 956. 1113 Buenos Aires. Argentina
E-mail: sventuri@ffyb.uba.ar
phone: 54 11 49 64 82 59/60 Fax: 54 11 49 64 0024

Parte 1 –Inspección de animales individuales en los mataderos

Los métodos de inspección en los mataderos están diseñados para “prevenir la triquinelosis clínica en humanos” pero no para prevenir la infección por completo. Los métodos normalmente utilizados (actuales) que emplean la digestión de grupos muestras utilizando un mínimo de 1 gramo por muestra (para analizar productos derivados del cerdo) son generalmente suficientes para detectar la infección que causaría la triquinelosis clínica en los seres humanos. Para aquellos productos que se consumen sin cocción previa o con algún tratamiento para inactivar la *Trichinella*, se recomienda una inspección más intensiva para prevenir la enfermedad en los humanos. La triquinoscopía es un examen que falla en la detección de especies de *Trichinella* no encapsuladas que infectan a los animales domésticos y salvajes. Éste y otros métodos similares de compresión, no son recomendados para el examen de rutina en alimentos destinados para el consumo humano, preparados con carnes provenientes de animales domésticos y de caza.

1.1. Inspección de cerdos en los mataderos

Para el examen de rutina de canales de cerdo empleando la digestión artificial de grupos de muestras, se recomienda 1 gramo como mínimo de tejido muscular y preferentemente 5 gramos para la prevención de la enfermedad en humanos. En el Apéndice I de este documento se presenta una descripción del método simple de agitación para la digestión artificial de grupos de muestras. Otras descripciones de este método, se encuentran en: OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines (Article 2.2.9) y en European Union Commission Regulation No. 2075/2005 (Capítulo 1 del Apéndice 1). Cualquiera de los métodos descritos para la evaluación de la digestión artificial de grupos de varias muestras, debe realizarse en combinación con el sistema de control de calidad descrita en las partes 1.5 y 1.6 de este documento.

Aunque algunas variantes mínimas del método de digestión artificial pudieran no afectar a los resultados, hay varios "puntos críticos de control" que deben ser monitoreados para asegurar la integridad del proceso de evaluación y la confiabilidad de los resultados. Estos puntos de control críticos son los siguientes:

1. Se debe mantener un sistema de verificación de la recolección e identificación de muestras. El proceso debe asegurar que las muestras de 1 gramo o mayores pertenezcan al número adecuado de cerdos y que las muestras estén claramente identificadas con el cerdo del cual provienen.
2. La solución de digestión deberá ser consistente en calidad y prepararse de tal modo que no afecte la actividad de la pepsina. El paso más crítico en la preparación de la solución de digestión es la adición de ácido clorhídrico al agua antes de añadir la pepsina. Este paso protegerá a la pepsina de la degradación por el contacto directo con el ácido clorhídrico concentrado. Otros factores en la preparación y uso del líquido de digestión (origen y calidad de la pepsina, almacenamiento de la pepsina, la cantidad de pepsina y ácido clorhídrico utilizados y la proporción de tejido en la solución de digestión) deberán estar conformadas según las pautas publicadas.

3. La temperatura mantenida durante el proceso de digestión no debe exceder de $45 \pm 2^\circ \text{C}$. Temperaturas mayores darán como resultado la inactivación de la pepsina, digestión incompleta, destrucción de la larva y bajos porcentajes de recuperación.
4. Una vez finalizada la digestión, se deberán descartar los restos del tejido muscular sin digerir (como evidencia del material retenido en el tamiz). La digestión debe ser completa para asegurar la integridad de la prueba. Para evitar la digestión incompleta se recomienda aumentar el tiempo de digestión y, si esto no fuera útil, se debe verificar la calidad de la pepsina.
5. Los procedimientos y los tiempos de sedimentación deberán ajustarse para maximizar la recuperación de las larvas. Los métodos actuales que emplean tiempos de sedimentación de 30 minutos son suficientes. Si se disminuyen los tiempos recomendados, se obtendrán porcentajes menores de recuperación y muy probablemente, resultados falso-negativos. La recuperación de la sedimentación obtenida por medio de los embudos de separación debe incluir la apertura completa de la llave de paso para evitar la retención de larvas.
6. El sedimento de las muestras digeridas debe aclararse lo suficientemente bien como para permitir la visualización de las larvas. La medida tradicional de aclaración es la habilidad para leer las impresiones a través del fondo de la placa de Petri donde se deposita el sedimento. La digestión artificial que no se aclara en la forma correcta, impide ver las larvas.
7. La óptica del microscopio debe ser capaz de obtener aumentos de 15 a 40 X. Asimismo, se requiere realizar un mantenimiento frecuente del microscopio para asegurar la calidad del sistema óptico.
8. Las canales no deben ser retiradas del matadero hasta que la digestión artificial haya dado un resultado negativo para la larva de *Trichinella*. Este sistema es necesario para asegurarse que las canales positivas no sean distribuidas para el consumo humano.
9. Los registros deben ser conservados para asegurar una adecuada identificación de las muestras y de las canales analizadas.

1.2. Inspección de caballos en los mataderos

Debido a la costumbre de consumir carne de caballo sin una adecuada cocción y dado los antecedentes de triquinosis humana como resultado del consumo de carne de caballo, se indican requisitos adicionales en el examen para la detección de infección por *Trichinella* en las canales de caballos.

La ICT recomienda que en el caso de la detección de *Trichinella* en carne de caballo empleando el método de digestión artificial de grupos de muestras, se utilice por muestra un mínimo de 5 gramos del tejido de la lengua o masetero del caballo. Cuando la carne de caballo es destinada para su consumo crudo, es preferible analizar una muestra de 10 gramos. El diafragma (crus muscle o *Crura diaphragmatica*) es un sitio alternativo de muestreo si no se dispone de lengua o masetero. El ejemplo provisto en el Apéndice I para la detección de *Trichinella* por digestión artificial de las muestras puede emplearse en la inspección de caballos ajustando el tamaño de la muestra.

Los puntos críticos de control, descritos para la evaluación de canales de cerdo, deben recibir una atención similar en el análisis de carne de caballo. Se debe prestar especial atención en la clarificación de la digestión y la interferencia de fibras musculares intactas o desechos de la carne, especialmente si se utiliza la lengua en la digestión. Debido a los antecedentes de asociación de la carne de caballo a brotes epidémicos de triquinosis en humanos, es recomendable que todos los países exportadores de carne de caballo para consumo humano, utilicen las medidas de control de calidad en los programas de inspección interna de sus mataderos.

1.3. Inspección de carne de animales de caza en mataderos

La carne de varias especies de animales de caza es fuente de la infección por *Trichinella* en humanos. La ICT recomienda que todas las carnes de animales de caza importantes (carnívoros y omnívoros) destinadas a consumo humano sean examinadas para detectar la infección por *Trichinella*, utilizando la metodología ya aceptada.

Los requisitos especiales para la evaluación de muestras de carne de animales de caza son los siguientes:

- Las muestras utilizadas para analizar la carne de jabalí deben incluir los músculos del antebrazo o del diafragma.
- Las muestras utilizadas para analizar la carne de oso deben incluir músculos del diafragma o del masetero o de la lengua.
- Las muestras utilizadas para analizar la carne de morsa deben incluir la lengua.
- Las muestras utilizadas para analizar la carne de cocodrilo deben incluir maseteros, aletas y músculo intercostal.

Para analizar las especies descritas más arriba, se deberá analizar por digestión artificial un mínimo de 10 gramos de tejido muscular. Si los músculos recomendados no pudieran ser analizados debido a la manipulación de los cuerpos muertos de los animales, otros cortes alternativos o partes del cuerpo deberán ser analizados empleando mayores cantidades de tejido para obtener un análisis más completo y seguro.

Los métodos de análisis por digestión de carne de animales de caza deben seguir los métodos descritos para el análisis de carne de cerdo (ver Apéndice I). El proceso principal de control en el análisis por digestión artificial de carne de animales de caza es la digestibilidad. Debido a la dificultad para digerir artificialmente ciertas carnes de animales de caza, deberán llevarse a cabo métodos de análisis que aseguren que se obtenga la digestión completa de las muestras analizadas. Por otro lado, se deben realizar los ajustes adecuados en el procedimiento de evaluación (ver Parte 1.1).

1.4. Acciones recomendadas cuando se obtienen resultados positivos en los análisis

Cuando se obtienen muestras positivas en la evaluación de mataderos se recomienda lo siguiente:

1. Mantener los procedimientos establecidos que pueden permitir que las canales positivas sean identificados con certeza. La verificación debe ser realizada empleando una cantidad mayor de tejido para la digestión. Los parásitos recuperados de cerdos domésticos, caballos, o animales de caza deben ser enviados a un centro nacional de referencia o al Centro Internacional de Referencia para la triquinosis, Roma, Italia¹ para la identificación de la especie.
2. Las canales positivas deben ser desechadas por medio de un procedimiento oficialmente permitido reconocido para matar *Trichinella*.
3. Para los cerdos positivos, se deberá emplear un plan detallado (Procedimiento de Operaciones Estándares) que permita: localizar la granja de origen de los animales positivos; llevar a cabo estudios epidemiológicos más intensivos y vigilancia serológica; realizar operaciones de limpieza de la manada e implementar cambios para evitar una infección posterior y verificar por un cierto tiempo que la infección ya no exista. Para los caballos positivos, se recomienda que se detecte la procedencia del animal y que se lleven a cabo estudios epidemiológicos en el área de origen.
4. El número de casos ocurridos debe ser informado a la Organización Mundial de la Salud del Animal/Oficina Internacional de Epizootias (OIE)

1.5. Sistemas de Aseguramiento de la Calidad para la detección por digestión artificial

La ICT recomienda que todos los laboratorios que realicen la inspección de carne de cerdo, de otros ganados o de carne de animales de caza para determinar la presencia de *Trichinella*, mantengan un sistema de calidad adecuado en la ejecución de la misma.

Las medidas de control de la calidad son necesarias para asegurar que los procesos de evaluación funcionen adecuadamente y para obtener resultados confiables. Para ello, es necesario proveer al personal técnico con muestras de pro-eficiencia desde las cuales se puedan recuperar las larvas musculares.

Las muestras de pro-eficiencia deben administrarse con regularidad (2-4 veces por año) y estar bajo la supervisión de una autoridad externa, tal como un laboratorio nacional de referencia. Las muestras utilizadas en los controles de calidad deben ser adecuadas para los métodos de análisis empleados (por ejemplo, 1 gramo de muestra para el método de digestión artificial de muestras de carne de cerdo). El análisis de pro-eficiencia evalúa la integridad del sistema de inspección y también la habilidad del personal técnico para visualizar correctamente la larva de *Trichinella*. Un ejemplo de sistema de control de calidad para el método de digestión se encuentra en el Apéndice II.

¹ International Trichinellosis Reference Centre, Laboratory of Parasitology, Istituto Superiore di Sanita, viale Regina Elena 299, 00161 Rome, Italy; Tel:39 06 4990 2304; Fax: 39 06 4938 7065; pozio@iss.it)

1.6. Validación de los sistemas de análisis

La ICT recomienda que todos los métodos de análisis en los mataderos, incluyendo modificaciones internacionalmente aceptadas en la actualidad, deben ser validados por procedimientos estándar y los resultados de los estudios de validación deben estar disponibles y deben ser utilizados como las medidas de la aceptación de tales métodos con el propósito de comercialización y seguridad en los alimentos.

Los nuevos métodos deben ser evaluados como mínimo por tres (3) laboratorios con experiencia en los métodos de análisis. La validación deberá incluir el desarrollo de nuevos métodos sobre un panel de muestras donde se incluyan una serie de muestras positivas y negativas. El panel de muestras deberá ser preparado de acuerdo a lo descrito por Forbes *et al.* (1998)² o por Vallee *et al.* (2007)³. Cualquier análisis que tenga el propósito de proteger a los consumidores de una enfermedad resultante de la infección por *Trichinella* deberá detectar muestras que contengan un nivel tan bajo como 1 larva por gramo en el tejido muscular en un intervalo de confianza de 95%.

1.7. Sistemas alternativos de análisis

Los métodos de análisis indirectos (serológicos) no son recomendados como un sustituto de análisis directos (digestión artificial de las muestras) en canales individuales en el matadero. Los cambios que se apliquen para mejorar los métodos de análisis indirectos deberían ser evaluados con la sensibilidad y especificidad de los métodos de digestión utilizados actualmente; el método de agitación magnética es considerado en la actualidad como “el patrón oro”.

El ensayo por PCR tampoco es aceptado como una alternativa del método de detección debido a la limitación del tamaño de las muestras. Una pequeña muestra de tejido de un cerdo positivo puede no contener larvas y por ello, el ensayo por PCR arrojaría resultados falso-negativos.

La ICT ha emitido directrices para el uso de métodos serológicos en estudios epidemiológicos, de vigilancia y en programas de certificación/verificación. Estas directrices están publicadas en la literatura científica (Gamble *et al.*, 2004)⁴ y están disponibles en el sitio web de la ICT (<http://www.med.unipi.it/ict/Recomm.htm>). El Manual de Métodos de Diagnóstico y Vacunas para Animales Terrestres de la OIE también contiene directrices para la preparación de reactivos y realización del ensayo ELISA para la detección de *Trichinella* en cerdos.

² Forbes, L.B., Rajic, A. and Gajadhar, A.A. 1998. Proficiency samples for quality assurance in *Trichinella* digestion tests. *Journal of Food Protection*, 61: 1396-1399.

³ Vallee, I., Mace, P., Scandrett, B, Gajadhar, A & Boireau, P. 2007. Use of proficiency samples to assess diagnostic laboratories in France performing a *Trichinella* digestion assay. *Journal of Food Protection*, 70: 1685-1690.

⁴ Gamble H.R., Pozio E., Bruschi R., Nockler K., Kapel C.M.O. & Gajadhar A.A. 2004. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on the use of serological tests for the detection of *Trichinella* infection in animals and man. *Parasite*, 11: 3-13.

Parte 2. Métodos de procesamiento para el control de la triquinelosis

Toda carne de animales que pudiera contener larvas de *Trichinella*, que no ha sido examinada por un método aceptado y que haya sido determinada negativa, deberá ser procesada con un método probado para la inactivación de la larva de *Trichinella*, antes de ser destinada al consumo humano. Esto se aplica tanto a las fuentes de carne comercial como para las que no lo son.

La ICT reconoce tres (3) métodos de tratamiento aceptables, que pueden ser utilizados para obtener carne segura, si es que no se ha probado que sea libre de infección por *Trichinella*. Estos métodos de tratamiento incluyen la cocción, el congelamiento (para algunas especies de larvas de *Trichinella*) y la irradiación.

2.1. Cocción para inactivar larvas de *Trichinella*

Cuando se dispone del equipamiento apropiado para alcanzar y monitorear con exactitud la combinación de tiempo y temperatura, las guías con las instrucciones para el cocimiento de la carne descriptas en el Código Federal de Regulaciones del Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica - Apéndice III (United States Department of Agriculture's Code of Federal Regulations - Appendix III), son aceptables para prevenir la triquinelosis en los humanos

En ausencia sistemas de controles de temperatura y tiempo así como de sistemas de monitoreo, los procesadores y consumidores de carnes deberán monitorear el color y la textura de la carne durante la cocción. Un cambio en el color de rosa a gris y un cambio en la textura, tal que las fibras musculares se separen fácilmente una de las otras, son indicadores de una cocción adecuada para eliminar alguna larva de *Trichinella* presente en la misma.

(Nota de advertencia: el procesamiento de la carne bajo condiciones poco controladas crea oportunidades de error. El cambio de color es solo un indicador general de seguridad).

2.2. Congelamiento para inactivar larvas de *Trichinella*

Cuando se dispone del equipamiento apropiado para alcanzar y monitorear con exactitud la combinación de tiempo y temperatura, las condiciones sobre los métodos de congelamiento para carnes destinadas a la comercialización están establecidas en el Código Federal de Regulaciones del Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica (9CFR318.10), en la Regulación N° 2075/2005 de la Comisión de la Unión Europea y el Apéndice IV de esta directiva, son aceptables para el tratamiento de carne de cerdo para prevenir la triquinelosis en humanos, debido a la sensibilidad al congelamiento de la *Trichinella spp.* En ausencia de sistemas de control adecuados de temperaturas y tiempos y de monitoreo, el congelamiento no elimina el riesgo de la *Trichinella* en la carne de cerdo, especialmente en áreas donde los cerdos están expuestos a especies silvestres tales como *T. britovi*.

Las especies de *Trichinella* presentes en las carnes de animales de caza (por ejemplo, oso, jabalí) y caballos, pueden ser resistentes al congelamiento utilizando la combinación de tiempo y temperaturas descriptas en el Apéndice IV. Por esta razón, el congelamiento no es un método aceptado para el control de la *Trichinella* en estos animales.

2.3. Irradiación para inactivar larvas de *Trichinella*

La ICT aprueba la irradiación, a niveles probados para inactivar las larvas de *Trichinella* (0,3kGy)⁵, como método aceptable para designar a la carne segura para el consumo humano en aquellos países en los cuales se permite la irradiación de alimentos. La irradiación se recomienda solamente para alimentos envasados y sellados solamente.

2.4. Cecinado para inactivar las larvas de *Trichinella*

Los procesos de curado y ahumado no son métodos recomendados para el control de la *Trichinella* en carnes de cerdo, caballo o de animales de caza. Aunque algunos análisis individuales de validación han demostrado que la combinación de sal, temperatura y tiempos de secado inactivan las larvas de *Trichinella*, los métodos de curación y ahumado difícilmente tienen un control confiable. La curación sólo podría ser utilizada después de extensos análisis de validación y con estrictos procesos de control. La ICT recomienda que para la preparación de productos curados o ahumados sólo se utilicen carnes inspeccionadas o certificadas libres de *Trichinella*.

2.5. Información al consumidor

En todas las áreas donde no se hayan implementado métodos adecuados para el control de la *Trichinella*, el consumidor debe estar informado en forma fehaciente por las autoridades de salud pública sobre este riesgo y sobre los métodos adecuados para la preparación de la carne. Los métodos aceptados para la preparación de carnes para consumo, que pueden reducir el riesgo para la salud pública son:

- Cocción a temperatura interna de 71°C (160° F)
- Congelado sólido (-15° C o menos) durante 20 días (cortes de hasta 15cm.de grosor) y congelado sólido (-15° C o menos) durante 30 días (cortes de hasta 69cm. de grosor)⁶

Los métodos de preparación de carnes que no se consideran seguros son:

- Cocción en microondas
- Curado, secado o ahumado

La información que reciben los cazadores para la preparación adecuada de la carne de animales de caza, deberá seguir los mismos lineamientos que se les da a los consumidores. Particularmente se deberá advertir acerca de la potencial presencia de *Trichinella* resistente al congelamiento en las carnes de animales de caza.

La ICT advierte estrictamente tomar precauciones extremas en el consumo de productos de carne cruda (cerdo, caballo, animales de caza), bajo cualquier circunstancia.

⁵ U.S. Code of Federal Regulations (1997). Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food, 21CFR Part 179.

⁶ En áreas donde la *Trichinella* resistente al congelamiento es endémica, deberá informarse a los consumidores que el congelamiento no está recomendado

Parte 3 – Control sobre la granja

La transmisión de *Trichinella* al ganado doméstico se limita a ciertos riesgos, entre los que se incluyen la alimentación con productos crudos de desperdicio o con cadáveres de animales y la exposición a roedores y fauna silvestre infectados. Los sistemas modernos de producción porcina reducen o eliminan los riesgos de infección por *Trichinella* en el cerdo y el análisis de los animales criados bajo estas condiciones, podría ser eliminado. Existen requisitos mínimos que debe reunir el ganado para ser considerado libre de *Trichinella*, basados en la agricultura. Estos requisitos se resumen a continuación:

3.1. Requisitos para la producción de cerdos libres de *Trichinella*

Barreras arquitectónicas y ambientales

- Los cerdos deben ser alojados en edificaciones construidas para prevenir el ingreso de roedores, otros mamíferos y aves carnívoras grandes.
- Las aberturas externas de la edificación, tales como las destinadas para la ventilación o cañerías deben ser cubiertas con mallas de alambre (de 1cm de abertura o menor).
- Las áreas dentro de los 100 metros que circundan los edificios que alojan a los cerdos, deben permanecer libres de desechos y refugios para roedores
- Debe mantenerse un perímetro de 2 metros de piedras o vegetación cortada a una altura menor a los 10cm, alrededor de los edificios que alojan a los cerdos.

Alimento y su almacenamiento

- El alimento debe ser almacenado en silos cerrados que no permitan la entrada de roedores.
- La compra del alimento debe ser realizada a un proveedor aprobado, el cual es producido empleando buenas prácticas de producción (por ejemplo, ver Regulación [CE] N° 183/2005 de la Unión Europea).
- Los desechos de comidas que contienen productos cárnicos deben ser cocinados de acuerdo con las leyes de desechos de alimentos y para inactivar las larvas de *Trichinella*

Control de roedores

- Un documentado programa de control de roedores debe ser llevado a cabo por un reconocido proveedor de servicios para el control de plagas (Anexo III)
- La no evidencia que indique la presencia de roedores (madrigueras, huellas, excrementos), debe ser observada por un reconocido proveedor de servicios de control de plagas.

Higiene de la granja

- Los animales muertos deben ser desechados dentro de un plazo de 24 horas y aplicando medidas sanitarias.
- No debe haber presencia de depósitos de basura dentro de un radio de 2Km de la granja.

Animales nuevos

- Animales nuevos que provengan de granjas libres de *Trichinella* , o cochinitos no destetados menores a 6 semanas de edad
- Los animales nuevos que provengan de granjas no certificadas libres de *Trichinella* , deben mantenerse en cuarentena y ser analizados serológicamente después de cuatro semanas para detectar la ausencia de anticuerpos contra *Trichinella* . El análisis serológico debe ser llevado a cabo teniendo en cuenta los métodos recomendados por la ICT, descritos en 1.7.

Identificación de animales

Los cerdos deben ser identificados de manera tal que se detecte el origen de los mismos.

3.1.2. Certificación de la producción de cerdos libres de *Trichinella*

Los programas que permiten la certificación de cerdos como libres de *Trichinella* , basados en las buenas prácticas de dirección que eliminan el riesgo de exposición al parásito, deben ser organizados administrativamente para permitir la documentación apropiada de manadas certificadas. Esta administración debe realizar las siguientes funciones:

- Desarrollar un sistema de documentación tal que, sobre el lugar de práctica de producción libre de *Trichinella*, se realicen auditorías que contemple n todos los puntos señalados en la Parte 3.1
- Emitir los certificados y mantener los registros de las granjas certificadas.
- Periódicamente conducir auditorías puntuales de productores certificados para asegurar la integridad del sistema.
- Conducir análisis serológicos periódicos de los cerdos originarios de granjas certificadas para verificar la ausencia de la infección y/o conducir periódicamente programas de monitoreo basados en el riesgo de la vida silvestre. Ejemplos de programas de certificación pueden ser encontrados en la Comisión de Regulación (CE) N° 2075/2005 de la Unión Europea y el Programa Nacional Estándares de Certificación de *Trichinella* del Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica (www.aphis.usda.gov/vs/trichinae/)

Los cerdos criados en granjas, que no reúnen las condiciones de producción libre de *Trichinella*, deben ser analizados individualmente en el matadero mediante el uso de métodos aprobados (Parte

1.1.).

3.2. Requisitos para la producción de caballos libres de *Trichinella*

Debido a la ausencia de conocimientos concernientes a la transmisión de *Trichinella* a caballos y a la crianza de éstos, no es posible garantizar la producción de caballos libres de infección. La ICT recomienda que se lleven a cabo estudios epidemiológicos en países donde los caballos son criados para el consumo humano, especialmente en las áreas donde la *Trichinella* es altamente endémica. Los mataderos de caballos cuya carne se destina para el consumo humano, deben realizar el análisis individual de las canales de acuerdo a los métodos descritos en Parte 1.2.

Parte 4. Libertad regional sobre la infección de *Trichinella* en cerdos

La ICT no aprueba programas propios de una región, estado o país (p. ej., OIE Código de Salud de Animales Terrestres, Artículo 2.2.9.3) para asegurar cerdos libres de *Trichinella*. La ICT considera que las granjas libres de *Trichinella* conforman la s bases para la derogación de la inspección individual de las canales para la detección de *Trichinella*.

Parte 5. Recomendaciones legislativas

La ICT recomienda que todos los países establezcan y refuercen activamente la legislación que hace ilegal distribuir carne contaminada con *Trichinella*, incluyendo la carne de cerdo, de caballo y de animales de caza. Se les deberá requerir a los distribuidores comerciales que realicen controles parasitológicos en estas especies cuando sean destinadas para el consumo humano.

Los cazadores deben ser instruidos y hacerse responsables por la seguridad de la carne de animales de caza que ellos distribuyan. Las carnes de animales de caza que sean transportadas a través de las fronteras, debería estar sujeta al control de aduanas para prevenir el transporte de carne infectada con *Trichinella*.

La ICT recomienda que la infección por *Trichinella* en alimentos provenientes de animales de cría y carnes de caza, sea informada por el país a las organizaciones de salud pública y veterinaria nacional/federal, la cual deberá informar a la OIE.

La ICT recomienda que la triquinelosis humana sea informada por el país a las organizaciones de salud pública federal/nacional.

La ICT recomienda que un sistema de identificación (marcado individual) o un registro de cerdos y caballos destinados como alimento de origen animal, sea requerido por país. Este sistema de identificación debe permitir el seguimiento de animales individuales hacia su punto de origen. La identificación facilitará investigaciones epidemiológicas y la implementación de acciones correctivas. Especial atención a la posibilidad de infección por *Trichinella*, se deberá prestar en el ganado y animales de caza transportados a través de la frontera.

Apéndices

Apéndice I – Métodos de digestión de grupos de muestras para la detección de *Trichinella*.

Apéndice II – Componentes del programa de control de calidad para el análisis de *Trichinella*.

Apéndice III – Métodos de cocción para la inactivación de *Trichinella spiralis* en carne de cerdo.

Apéndice IV – Métodos de congelamiento comercial para la inactivación de *Trichinella* en carne de cerdo.

Apéndice I – Método de digestión de grupos de muestras para la detección de *Trichinella*.

1. Introducción

La digestión del tejido muscular empleando una solución acidificada de pepsina, libera larvas vivas de *Trichinella* de los quistes musculares. Se han descrito varios métodos de digestión en la literatura científica (ver la bibliografía al final de este Apéndice). La siguiente sección describe los pasos de un protocolo general que puede ser utilizado para detectar en la carne, la infección por *Trichinella*. Cualquier método para la detección de *Trichinella* en carne debe ser validado antes de ser utilizado empleando muestras conocidas positivas y negativas y posteriormente, monitorear periódicamente su eficacia utilizando paneles de muestras (ver Apéndice II).

2. Recolección de muestras

Las muestras de músculos deben obtenerse de sitios de predilección para las especies que sean analizadas (Tabla 1). Si los sitios de predilección de *Trichinella* son desconocidos para las especies a ser analizadas, la lengua y el diafragma son las partes recomendadas.

Tabla 1. Elección de muestra de músculo de acuerdo a las especies analizadas.

| Espece de hospedador | Músculo principal de elección | Peso a ser analizado | Referencias |
|--------------------------------|--|----------------------|----------------------------|
| Cerdo | Diafragma, masetero, lengua | De 1g a 2g | Olsen <i>et al.</i> , 1964 |
| Caballo | Diafragma, masetero, lengua | Por lo menos 5g | Soule <i>et al.</i> , 1989 |
| Jabalí | Diafragma, masetero, lengua, intercostal | 5g | Kapel, 2001 |
| Carnívoros silvestres | Músculos de las patas | 10g | Kapel, 1993 |
| Oso | Diafragma, masetero, lengua | 10g | |
| Animales marinos (foca, morsa) | Diafragma, intercostal y músculos de aletas traseras | 10g | Kapel <i>et al.</i> , 2003 |
| Cocodrilo | Masetero, <i>pterygoid</i> , intercostal | 10g | Pozio <i>et al.</i> , 2004 |

El tamaño de las muestras debe seleccionarse con el objeto de encontrar la sensibilidad necesaria de la metodología; muestras individuales de 100 gramos pueden ser tomadas de un sólo animal, o se pueden obtener muestras de varios animales para hacer un grupo de hasta 100 gramos de tejido. La sensibilidad de la prueba ha sido informada de la manera siguiente: en una muestra de 1 gramo se detectarán infecciones con cargas parasitarias ≥ 3 larvas por gramo de tejido; en una muestra de 3 gramos se detectarán infecciones con cargas parasitarias $\geq 1,5$ larvas por gramo de tejido; en una muestra de 5 gramos se detectarán infecciones ≥ 1 larva por gramo de tejido. Para propósitos de salud

pública, se ha demostrado que el análisis de muestras de 1 gramo de tejido muscular de cerdo (diafragma o lengua) es suficiente para reducir la incidencia de triquinosis humana en varios países. Sin embargo, en los lugares donde la carne no se destina a la cocción completa o se tiene otro procesamiento posterior en el matadero, se recomienda realizar el análisis de cantidades mayores de carne.

3. Preparación de la muestra

Las muestras deben ser recortadas y quedar libres de grasa y tendones, ya que estos tejidos no son digeribles y no contienen larvas de *Trichinella*. Las muestras se homogenizan, se muelen o se maceran para facilitar la digestión; la homogenización es el método de elección.

Para la preparación de la muestra por homogenización, se mezclan hasta 100 gramos de tejido con un volumen igual de agua de la agua corriente y se la somete a varios cortes por tiempos pequeños (5-10 segundos) en una picadora/moledora Warin g o de marca similar (por ej., Retsch Grindomix GM200). La carne poco triturada (picada) puede resultar en una mala digestión, mientras que si se tritura (pica) mucho, pueden romperse las larvas que contiene el músculo. La carne debe triturarse hasta que no queden trozos visibles de ésta.

El uso de una moledora/picadora en la preparación de las muestras de carne es un método aceptable, siempre y cuando el tamaño del poro de la placa de molienda de la placa no exceda 3 mm en el diámetro.

4. Digestión artificial

Cada 100 gramos de tejido deberá ser digerido en un volumen total de 2 a 3 litros de una solución acidificada de pepsina utilizando un método ya validado. Se ha demostrado que el uso de una proporción de 1:30 de carne respecto a la solución de digestión, facilita una digestión rápida y completa.

Se debe tener cuidado al transferir por completo la muestra desde la picadora o del molino de carne a un vaso de precipitado de 3 a 4 litros. Se debe usar agua corriente precalentada ($45 \pm 2^\circ \text{C}$) acidificada (0,5 – 1,0% de HCl o 0,06N) para enjuagar completamente todas las partes de la picadora incluyendo las cuchillas mezcladoras o las placas del molino. Posteriormente se debe agregar agua corriente precalentada y acidificada para obtener un volumen de 2 ó 3 litros.

La pepsina (1:10.000, de acuerdo al Formulario Nacional de Estándares) debe ser agregada a la muestra de tejido previamente mezclada con agua corriente acidificada (0,5-1% peso/volumen). En el caso de la preparación de la muestra por homogenización, se debe agregar la cantidad total de pepsina a la muestra inicial homogenizada y mezclarla por un período de tiempo breve para lograr una dispersión uniforme. La mezcla de la muestra con la pepsina se lava en 3-4 litros de agua acidificada como se describe más arriba.

Para la digestión, la mezcla de la muestra con la pepsina acidificada se coloca en un vaso de precipitado de 3-4 litros conteniendo un volumen de 2-3 litros de agua acidificada, se cubre con un papel de

aluminio para evitar que salpique, y se agita vigorosamente empleando un agitador magnético (utilizando una barra de 8-10cm), o con un dispositivo de agitación alternativo, por un mínimo de 30 minutos (tiempos más prolongados pueden ser útiles para una digestión completa).

Durante el proceso de digestión la temperatura deberá mantenerse y ser monitoreada continuamente en $45 \pm 2^\circ \text{C}$, empleando un termómetro u otro dispositivo para registrar la temperatura. La temperatura se controla mejor si el proceso se lleva a cabo en una incubadora o en un cuarto con calor. Sin embargo, se puede sustituir éste por una placa calentadora con agitador o baño de agua si la temperatura puede ser controlada dentro de los límites establecidos. La digestión finaliza sólo cuando no se detectan trozos intactos de carne en la solución de digestión.

5. Recuperación de las larvas

Al finalizar el proceso de digestión, la mezcla del recipiente se vierte a través de un tamiz (180-355 μm de malla) dentro de una ampolla de separación de 2-4 litros con la ayuda de un embudo de plástico. El vaso de precipitado y el tamiz se deben enjuagar con un volumen adicional (mínimo 100 ml) de agua corriente tibia. No deben quedar cortes intactas de carne en el tamiz. De ser así, éstas deben regresarse a una solución de digestión nueva para un nuevo procesamiento.

El digerido se debe dejar sedimentar por 30 minutos en la ampolla/embudo de separación. Para la clarificación de la muestra, hay varias opciones para usar. En una de ellas, se drena un volumen de 40ml de líquido directamente de la ampolla/embudo a un tubo de centrifuga de 50ml. El contenido del tubo se deja en reposo por 10 minutos adicionales, después del cual se aspira todo el sobrenadante desde la superficie, excepto 10ml. Si estos 10ml remanentes quedan turbios, se deben agregar al sedimento 30ml adicionales de agua corriente tibia (37°C) y repetir el proceso de sedimentación/aspiración hasta que el sedimento quede claro. Para finalizar, los 10ml clarificados se usan para detectar la presencia de larvas de *Trichinella*.

Una alternativa para la clarificación de la muestra es llevar a cabo un segundo paso usando una ampolla/embudo de separación. En este procedimiento, aproximadamente 125ml del líquido del primer embudo de separación son drenados en un embudo de separación de 500ml y el volumen se ajusta a 500ml con agua de la llave a temperatura ambiente. Esta mezcla se deja reposar por otros 10 minutos adicionales y después de los cuales se recupera una muestra de 22-27ml para el recuento de larvas.

En ambos procedimientos, es crítico que el líquido se recupere de los ampollas/embudos de separación mediante la apertura total de la llave de paso. La apertura parcial puede resultar en la retención de parásitos en el embudo/ampolla de separación.

6. Determinación del número de larvas

Con el propósito de realizar el recuento de las larvas, el sedimento clarificado se vierte en una placa de Petri cuadrículada y se procede al recuento de larvas de *Trichinella* empleando un microscopio de disección (aumento 15-40X). El líquido debe ser lo suficientemente claro para permitir leer las huellas a través de él. En caso contrario, se requiere una clarificación y sedimentación adicionales.

Cuando se detectan larvas en la digestión de un determinado grupo de muestras, el procedimiento entero se debe repetir utilizando un lote más pequeño o muestras individuales incluidas para identificar al/los animal/es infectado/s.

7. Bibliografía

Commission Regulation (EC) No 2075/2005. *Official Journal of the European Union*, Vol. 338:60-82.

Gajadhar, A.A., Forbes, L.B. and Rajic, A. (1996) The double separatory funnel procedure for the detection of *Trichinella* larvae in pork. Official Protocol, Agriculture and Agri-Food Canada, Version 1.0, November 14, 1996, 18 pp.

Gamble, H.R. (1998) Trichinellosis. In, OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Chapter 3.5.3, pp. 477-480.

Kapel, C. 1993. Predilection sites of *Trichinella spiralis* muscle larvae in experimentally infected foxes (*Alopex lagopus*, *Vulpes vulpes*). *Biologija* (No. 1).

Kapel, C.M.O. 2001. Sylvatic and domestic *Trichinella spp*. In wild boars: Infectivity, muscle larvae distribution, and antibody response. *Journal of Parasitology* 87: 309-314.

Kapel, C.M.O., Measures, L., Moller, L.N., Forbes, L. & Gajadhar, A. 2003. Experimental *Trichinella* infection in seals. *International Journal of Parasitology* 33: 1463-1470.

Pozio, E., Owen, I.L., Marucci, G. & La Rosa, G. 2004. *Trichinella papuae* in saltwater crocodiles (*Crocodylus porosus*) of Papua New Guinea. *Emerging Infectious Diseases* 10: 1507-1509.

Soulé, C., Dupouy-Camet, J., Georges, P., Ancelle, T., Gillet, J.P. Vaissaire, J., Delvigne, A & Plateau, E. 1989. Experimental trichinellosis in horses: Biological and parasitological evaluation. *Veterinary Parasitology* 31: 19-36.

Veterinary Code of the USSR: Provisions, Guidelines, Instructions, Directions and Rules on Veterinary Matters, Tret'Yavok, A.D., ed., Volume II, Kolos (Publisher), Moscow, 1972.

Apéndice II. Componentes del programa de control de calidad para la detección de *Trichinella*.

1. Introducción

Mientras que la exactitud de un método de detección microbiano depende de la consistencia en la sensibilidad y la especificidad, la confiabilidad del método requiere del uso de un adecuado programa de aseguramiento de la calidad. Un programa de aseguramiento de la calidad proporciona la confianza de que el método empleado, siempre es realizado en condiciones definidas por analistas competentes y que los resultados son reproducibles y confiables de acuerdo con los niveles predeterminados de sensibilidad y especificidad. Un programa completo de aseguramiento de la calidad debería emplearse cuando se analizan los peligros por microorganismos para asegurar la salud pública y facilitar la equivalencia en el comercio internacional. Las normas ISO/IEC 17025 especifican los detalles que pueden utilizarse en el desarrollo de un programa de aseguramiento de la calidad en la detección de *Trichinella* (ver Gajadhar y Forbes, 2002)⁷. Las normas ISO/IEC 17025 fueron empleadas para desarrollar los siguientes lineamientos de un programa de aseguramiento de la calidad para los laboratorios que analizan muestras de carne para detectar la *Trichinella*.

2. Manual de control de calidad

Un sistema de aseguramiento de la calidad basado en las normas ISO/IEC 17025 o en estándares internacionales de calidad similares aceptados, es requerido para documentar que personal técnico adecuadamente capacitados y certificados estén llevando a cabo el método bajo condiciones controladas y en consecuencia se produzcan resultados confiables y consistentes.

El sistema de aseguramiento de la calidad debe describirse en un manual de aseguramiento de la calidad o en un documento similar, que brinde información sobre la estructura de su organización y describa las calificaciones del personal, requisitos para su entrenamiento, criterios para su certificación, mecanismos para verificar que se cumplen los protocolos escritos, características del mantenimiento de equipos, informes, mantenimiento de registros, manejo de desvíos, acciones correctivas, manejo de quejas, documentación y auditorías. Otros detalles apropiados para el manual de aseguramiento de la calidad (QA) en el análisis para detectar larvas de *Trichinella* incluyen procedimientos de toma de muestras en mataderos, identificación de muestras y de animales, procedimientos que deben seguirse para investigar el origen de las canales y criterios de aceptación o rechazo de la muestra.

3. Instalaciones de laboratorio adecuadas

Las instalaciones adecuadas de un laboratorio proveen un medio controlado para los análisis y aseguran la salud y la seguridad de las personas que trabajan en el mismo (BSL-2). Por lo menos debe tener una puerta que separe las áreas comunes del laboratorio el cual debe tener un espacio suficiente para mesas de trabajo, iluminación adecuada, agua corriente caliente y fría, una pileta adecuada para el material de vidrio usado en el procedimiento, superficies impermeables a los desinfectantes comunes, una campana para extracción de gases, ventilación adecuada, sistemas de calentamiento y enfriamiento que

⁷ Gajadhar, A.A. & Forbes L.B. 2002. An internationally recognized quality assurance system for diagnostic parasitology in animal health and food safety, with example data on trichinellosis. *Veterinary Parasitology* 103: 133-140.

permitan mantener una temperatura de trabajo cómoda, una ducha de emergencia y un botiquín de primeros auxilios, cuartos para el aseo del personal y un vestuario apropiado para el laboratorio (guantes, lentes de seguridad y batas de laboratorio).

4. Procedimientos de validación

La exactitud del método de detección debe estar definida a través de los datos obtenidos en pruebas beta. La sensibilidad y la especificidad del método deben ser conocidas y respaldadas por datos científicos y estadísticos sólidos obtenidos de muestras de animales conocidos infectados y no infectados. La comparación de nuevos métodos con métodos existentes que no han sido validados previamente de esta manera, no podrán aceptarse como válidos. La precisión adecuada del método (repetibilidad) debe estar claramente definida y luego demostrada científicamente.

5. Protocolo estandarizado

Un protocolo estandarizado, y con un entrenamiento adecuado, es necesario para asegurar la obtención de resultados precisos y reproducibles para cualquier laboratorio que lleve a cabo el método de detección. Un protocolo del método de validación debe estar redactado claramente y debe incluir una descripción detallada de todos los equipos, reactivos y procedimientos. El protocolo debe llevarse a cabo exactamente como está escrito y debe incluir los pasos de control críticos (PCC). Los PCC son definidos como aquellos procedimientos, equipamiento o reactivos, que pueden afectar de manera negativa los resultados del método de detección, si no se usan exactamente como se indica en el protocolo. Cualquier cambio que se le realice al protocolo estandarizado debe estar respaldado por análisis paralelos y con validez estadística para asegurar que los resultados no se ven afectados negativamente.

6. Entrenamiento y certificación del personal técnico

Un entrenamiento adecuado, junto con el protocolo estandarizado, es necesario para asegurar la obtención de resultados precisos y reproducibles por cualquier laboratorio que lleve a cabo el método de detección. Un programa de entrenamiento documentado para los analistas debe ser llevado a cabo. Este programa debe cumplir con todos los aspectos del método, incluyendo el procedimiento, los requisitos pre- y post-análisis, análisis del panel de calidad de muestras, responsabilidades, informes, biología del organismo, métodos de seguridad e impacto en la salud pública. Se debe brindar entrenamiento llevado a cabo por personas calificadas en un laboratorio con los medios adecuados (por ej., un laboratorio/centro nacional de referencia) y los analistas que llevan a cabo el entrenamiento deben demostrar su competencia mediante un examen escrito y realizar el análisis exitoso de muestras desconocidas durante el período de entrenamiento y nuevamente en su propio laboratorio.

7. Programa de muestreo para establecer la competencia de personal técnico/laboratorios certificados.

Para demostrar en forma continua la competencia, los analistas certificados deben mantener su certificación llevando a cabo el análisis de un lote de muestras desconocidas, preparadas por un laboratorio de referencia o mediante su participación en un programa de intercambio de muestras para

demostrar su competencia al menos 2 veces por año. Un protocolo estandarizado debe utilizarse para preparar y distribuir muestras.

El análisis paralelo de un sub-lote de cada muestra del lote de competencia es llevado a cabo por el laboratorio proveedor al mismo tiempo que los laboratorios participantes analizan sus muestras de competencia.

Las directrices para la evaluación de los resultados de los análisis de las muestras, se basan en el funcionamiento esperado de la metodología, respaldado científicamente por datos derivados de la utilización de muestras de competencia y por el método que está siendo evaluado.

Los analistas/laboratorios que evalúan con éxito las muestras para determinar su competencia ~~mantiene~~ su certificación.

El fracaso puede requerir del análisis de un segundo lote de muestras de competencia, de una nueva certificación, de re-entrenamiento o una combinación ambos y las reglas claramente definidas para tomar esta decisión necesitan ser establecidas y documentadas por adelantado. Este programa de muestreo para establecer la competencia puede ser adaptado en la implementación y/o validación de un nuevo método mediante un examen cerrado entre un grupo de laboratorios calificados.

Apéndice III. Métodos de cocción para la inactivación de *Trichinella spiralis* en carne de cerdo.

- (i) Todas las partes del tejido muscular del cerdo deben ser calentadas de acuerdo con una de las combinaciones de tiempo y de temperatura descriptos en la siguiente tabla:

| Temperatura interna mínima | | |
|----------------------------|--------------------|---------------|
| Grados Fahrenheit | Grados centígrados | Tiempo mínimo |
| 120 | 49,0 | 21 horas |
| 122 | 50,0 | 9,5 horas |
| 124 | 51,1 | 4,5 horas |
| 126 | 52,2 | 2 horas |
| 128 | 53,4 | 1 hora |
| 130 | 54,5 | 30 minutos |
| 132 | 55,6 | 15 minutos |
| 134 | 56,7 | 6 minutos |
| 136 | 57,8 | 3 minutos |
| 138 | 58,9 | 2 minutos |
| 140 | 60,0 | 1 minuto |
| 142 | 61,1 | 1 minuto |
| 144 | 62,2 | Instantáneo |

- (ii) El tiempo y la temperatura deben ser monitoreados con un instrumento de registro calibrado.
- (iii) El tiempo requerido para elevar la temperatura del producto, de 60°F a 120°F, no debe exceder de 2 horas a menos que el producto sea fermentado o curado.
- (iv) El tiempo y las temperaturas, de 138° F a 143° F no requieren ser monitoreado si el grosor mínimo del producto excede las 2 pulgadas (5,1cm) y la refrigeración del producto no se inicia dentro de los 5 minutos de haberse alcanzado la temperatura de 138° F (58,9° C).
- (v) El establecimiento debe llevar a cabo un procedimiento que asegure el calentamiento apropiado de todas las partes del producto. Es importante que cada pieza de embutidos, cada jamón, y los otros productos tratados por calentamiento en agua se mantengan completamente sumergidos durante todo el periodo de calentamiento, y que las piezas más grandes del lote, las partes más internas de los embutidos u otras piezas de gran tamaño, y piezas colocadas en la parte mas fría del gabinete o compartimiento o fuente de calentamiento, sean incluidas en las pruebas de temperatura

Apéndice IV. Métodos de congelamiento comercial para la inactivación de *Trichinella* en carne de cerdo⁸.

En cualquier momento de la preparación y después de un enfriamiento inicial a una temperatura no superior a los 40°F o durante el congelamiento inicial, todas las partes del tejido muscular del cerdo o productos que contienen tales tejidos quedarán sujetas a continuar el proceso de enfriamiento a una temperatura no mayor a la especificada en la Tabla 1. La duración de tal refrigeración a la temperatura especificada es dependiente del grosor de la carne o de las dimensiones internas del contenedor.

TABLA 1 - PERIODO DE CONGELAMIENTO REQUERIDO A TEMPERATURA INDICADA

| Temperatura ° F (° C) | Grupo 1 (Días) | Grupo 2 (Días) |
|-----------------------|----------------|----------------|
| 5 (-15,0) | 20 | 30 |
| -10 (-23,3) | 10 | 20 |
| -20 (-28,9) | 6 | 12 |

(i) El grupo 1 comprende productos preparados en cortes/piezas separados que no excedan las 6 pulgadas (15cm) en grosor, o acomodadas en bastidores separados cuyas extremos no excedan 6 pulgadas (15cm) de profundidad, o almacenadas en cajas que no excedan 6 pulgadas (15cm) de profundidad, o almacenadas en bloques sólidos congelados que no excedan 6 pulgadas (15cm) de grosor.

(ii) El grupo 2 comprende productos preparados en cortes/piezas, capas o dentro de contenedores, y cuyo grosor excede las 6 pulgadas (15cm) pero no llega a las 27 pulgadas (69cm), y productos en contenedores que no exceden las 27 pulgadas (69cm) incluyendo barriles, toneles y envases de cartón.

(iii) Los productos que son sometidos a refrigeración o los contenedores en los que éstos se almacenan, deben tener suficiente espacio en el congelador que los contiene de tal manera que aseguren la libre circulación de aire entre las porciones de carne, capas, bloques, cajas, barriles, toneles y recipientes mayores, para que la temperatura en todas las partes de la carne se reduzca rápidamente y no sea mayor de 5° F, -10° F o -20° F de acuerdo a cada caso.

⁸ El método de congelado comercial de los productos del cerdo no es apropiado para la inactivación de las especies de *Trichinella* tales como *T. nativa*, que es resistente al frío. Sin embargo, las especies resistentes al frío y los genotipos de la *Trichinella* tienen bajo nivel infeccioso en los cerdos domésticos y por lo tanto poseen un riesgo menor hacia los humanos (Poizio, E., Kapel, C.M.O., Gajadhar, A.A., Boireau, P., Dupouy -Camet, J. & Gamble, H.R. 2006. *Trichinella* in pork: current knowledge on the suitability of freezing as a public health measure. *Eurosurveillance*, 11: 277-278).

TABLA 2- PERIODOS ALTERNOS DE CONGELAMIENTO A TEMPERATURAS INDICADAS

| Temperatura mínima interna | | Tiempo mínimo |
|----------------------------|--------------------|---------------|
| Grados Fahrenheit | Grados Centígrados | |
| 0 | -17,8 | 106 horas |
| -5 | -20,6 | 82 horas |
| -10 | -23,3 | 63 horas |
| -15 | -26,1 | 48 horas |
| -20 | -28,9 | 35 horas |
| -25 | -31,7 | 22 minutos |
| -30 | -34,5 | 8 horas |
| -35 | -37,2 | ½ hora |

(iv) En lugar de los métodos descritos en la Tabla 1, el tratamiento puede consistir en un proceso comercial de criodesecación o congelamiento controlado en el centro de cada pieza de carne llevado a cabo a combinaciones de tiempo y temperatura especificadas en la Tabla 2.

(v) Las cámaras frigoríficas o compartimientos que contienen el producto que se somete a congelación, deben estar equipados con termómetros de precisión adecuados colocados en o sobre el nivel más alto en el cual el producto se somete al tratamiento y debe estar lejos de los sistemas refrigerantes.