**Protocolo para detecção de *Trichinella spirallis***

**Método da digestão artificial de amostras colectivas**

**Colheita de Amostras:**

Carcaças Inteiras de **Suínos**: Pilares do Diafragma 🡪 **1 grama**

**Grupos Completos de Amostras (100 Amostras 🡪 100 gramas):**

**Procedimento:**

* Aquecer **2,0 L** de água da torneira a **45ºC** num copo/tina (em banho-maria ou placa de aquecimento);

Adicionar **16 ± 0,5 ml** de **HCl 25%**;

* Colocar copo/tina na placa pré-aquecida com o agitador magnético, controlar a temperatura (45ºC);
* Adicionar **10 g ± 0,2 g** de **Pepsina**;

Notas:

- A solução Ácido-péptica deve ser consistente em qualidade e preparada de modo a não afectar a actividade da pepsina. Importante adicionar o HCl à água e só depois a Pepsina.

- A temperatura durante o processo de digestão não deve exceder os 45 ±2 ºC, pois temperaturas superiores podem inactivar a Pepsina.

* Triturar as 100 g de amostras (carne sem qualquer fáscia ou gordura);
* Transferir a carne triturada para o copo/tina com a solução Ácido-Peptídica já aquecida;
* Regular o agitador magnético na máxima agitação sem provocar salpicos;
* Tempo de digestão das partículas de carne: **30 minutos**, normalmente são necessários períodos de digestão mais longos, não devem ser superior a **60 minutos**;
* **Filtrar** a Amostra digerida para a ampola de decantação passando-a pela peneira com malha de 180 μm e respectivo funil (processo satisfatório se na peneira ficar retido ≤ 5% do peso inicial da Amostra);
* Deixar sedimentar a Amostra na ampola de decantação durante **30 minutos**;
* Transferir para uma proveta graduada **40 ml** do fluido digerido;
* Deixar repousar **10 minutos**;
* Retirar por aspiração com uma pipeta **30 ml** do sobrenadante e desprezar;
* Verter os **10 ml** de sedimento remanescente para a **Placa de Petri** quadriculada;
* Enxaguar a proveta graduada com mais 10 ml de água da torneira e acrescentar esse volume ao sedimento na Placa de Petri a observar;
* **Observação** ao estereomicroscópio com uma ampliação de 15 a 20X;

Notas:

- Em caso algum adiar a observação da Amostra final;

- Se a Amostra final não for observada de imediato deve proceder-se à sua clarificação.

- Se a Amostra não for límpida que permita uma boa observação do fundo da Placa de Petri, deve igualmente proceder-se à sua clarificação (deve permitir a leitura de letras de jornal através da Placa de Petri);

- Para grupos até 50 gramas a solução Ácido-péptica pode ser composta por 1 L de água, 8 ml de HCl (25%) e 5 gramas de Pepsina.