

Norma Oficial Mexicana NOM-023-ZOO-1995, Identificación de Especie Animal en Músculo de Bovinos, Ovinos, Equinos, Porcinos y Aves, por La Prueba de Inmunodifusión en Gel.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, por conducto de la Dirección General Jurídica, con fundamento en los artículos 1º, 3º, 4º fracción III, 12, 13, 21, 22, 31 y 32 de la Ley Federal de Sanidad Animal; 38 fracción II, 40, 41, 43 y 47 fracción IV de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 35 fracción IV de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 10 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, y

CONSIDERANDO

Que es atribución de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural establecer las características y especificaciones zoonosológicas que deben reunir los productos de origen animal.

Que la determinación de identificación de especie animal en músculo de bovinos, ovinos, equinos, porcinos y aves, se establece con el fin de asegurar a los consumidores que el suministro de alimento corresponda al identificado en la prueba, ya que el consumo de los alimentos de otra especie animal diferente a la deseada, implica diversos riesgos para la salud del consumidor.

Que entre los beneficios que reporta el hecho de aplicar esta prueba que permite la identificación de especie, da mayor confianza al comercio internacional de alimentos, de adquirir realmente lo solicitado, tanto en lo importado como en lo exportado y por lo cual, la determinación de especie se establece con el fin de asegurar a los ciudadanos el suministro de alimento deseado.

Que para conseguir los propósitos enunciados, he tenido a bien expedir la Norma Oficial Mexicana NOM-023-ZOO-1995 IDENTIFICACION DE ESPECIE ANIMAL EN MUSCULO DE BOVINOS, OVINOS, EQUINOS, PORCINOS, Y AVES, POR LA PRUEBA DE INMUNODIFUSION EN GEL.

INDICE

- 1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION**
- 2. REFERENCIAS**
- 3. DEFINICIONES**
- 4. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS**
- 5. FUNDAMENTO**
- 6. MATERIAL Y EQUIPO**
- 7. REACTIVOS Y SOLUCIONES**
- 8. PROCEDIMIENTO**
- 9. RESULTADOS**
- 10. SANCIONES**
- 11. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES**
- 12. BIBLIOGRAFIA**

13. DISPOSICIONES TRANSITORIAS

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

1.1. Objetivo y campo de aplicación.

Esta Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto, establecer el método de prueba, para la identificación de especie en productos cárnicos de origen animal (bovinos, ovinos, equinos, porcinos y aves). La técnica se utiliza también en caprinos y caninos; siendo aplicable a los laboratorios de análisis de residuos tóxicos en tejidos alimenticios primarios de origen animal, aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

1.2. La vigilancia de esta Norma corresponde a la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, así como a los gobiernos de los estados en el ámbito de su respectiva competencia y circunscripciones territoriales, de conformidad con los acuerdos de coordinación respectivos.

1.3. La aplicación de las disposiciones previstas en esta Norma, compete a la Dirección General de Salud Animal así como a las Delegaciones estatales de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, en el ámbito de su respectiva competencia y circunscripciones territoriales.

2. REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de esta Norma debe consultarse las siguientes normas oficiales mexicanas:

NOM-003-ZOO-1994, Criterios para la Operación de Laboratorios de Pruebas Aprobados en Materia Zoonosanitaria.

NOM-004-ZOO-1994, Control de Residuos Tóxicos en Carne, Grasa, Hígado y Riñón de Bovinos, Equinos, Porcinos y Ovinos.

NOM-008-SCFI-1993, Norma Oficial Mexicana Sistema General de Unidades de Medida.

3. DEFINICIONES

3.1. **Anticuerpos:** Son inmunoglobulinas formadas en respuesta a la introducción de sustancias que, una vez dentro del organismo, son reconocidas por éste como exógenas. Su propiedad característica es que se combinan en condiciones fisiológicas, con la sustancia que indujo su formación.

3.2. **Antígeno:** Sustancia que puede inducir una respuesta inmunitaria.

3.3. **Precipitación:** Es una reacción de identificación que conserva unidas las moléculas solubles de antígeno por acción de los anticuerpos; lo cual produce un precipitado visible, que contiene tanto el antígeno como el anticuerpo.

4. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

g	gramo
G.R.	grado reactivo
l	litro
min	minuto
ml	mililitro
mm	milímetro
N	normal
°C	grados Celsius o centígrados

5. FUNDAMENTO

Esta técnica est basada en el principio de que el antígeno y el anticuerpo, se difunden a través de un medio semisólido y forman complejos inmunitarios estables, que aparecen como líneas o bandas de precipitación en el sitio donde se alcanzan las proporciones óptimas de ambos reactivos. La reacción se lleva a cabo en una cámara húmeda. Las líneas de precipitación son analizadas visualmente con luz indirecta.

6.MATERIAL Y EQUIPO

6.1. Material y equipo

- Aplicadores de madera
- Cajas de Petri de 100 x 150 mm.
- Cuchillo o escapelo con bisturí.
- Embudos de tallo corto.
- Lana de vidrio o gasa.
- Matraces Erlenmeyer de 125 y 250 ml.
- Matraces volumétricos de 100 y 1000 ml.
- Papel filtro Whatman No. 40 ϕ 42.
- Pipetas de descarga r pida de 5 y 10 ml divididas en 0.1 ml.
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5 y 10 ml.
- Pipetas Pasteur.
- Portaobjetos de 26 x 76 mm.
- Sacabocados No. 1 y 2.
- Tubos de ensayo con tapón de rosca de 15 ml.
- Vasos de precipitado de 100 ml.

Todo el material debe lavarse y enjuagarse con agua destilada.

6.2. Aparatos

- Autoclave.
- Balanza granataria de 2000 g con sensibilidad de 0.1 g.
- Cámara húmeda.
- Picadora.
- Parrilla eléctrica con agitación.

- pH metro o potenciómetro.

7. REACTIVOS Y SOLUCIONES

7.1. Reactivos

- Agar Noble o Ion Agar No. 2
- Antiseros comerciales específicos del 6 al 10% de proteína para carne de bovino, equino, porcino y ovino. Para su uso, se deben seguir las indicaciones del proveedor.
- Antígenos de control para la prueba o extracto de especie animal conocido.
- Cloruro de sodio G.R.
- Fosfato monobásico de potasio G.R.
- Hidróxido de sodio G.R.
- Solución de cloruro de benzalconio al 0.13%
- Agua destilada.

7.2. Soluciones

- Solución salina al 0.85 %.- Colocar 8.5 g de NaCl G.R. en un matraz volumétrico de 1000 ml; disolver y llevar a volumen con agua destilada.
- Hidróxido de sodio 1 N.- En un matraz volumétrico de 100 ml, pesar 4.0 g de NaOH G.R. disolver y aforar con agua destilada.
- Solución amortiguadora de fosfatos.- Disolver 34 g de fosfato monobásico de potasio en 500 ml de agua destilada; ajustar el pH a 7.2 con hidróxido de sodio 1 N. Se requieren aproximadamente 175 ml. Diluir a 1000 ml con agua destilada, esterilizar durante 20 min a 121°C y conservar en refrigeración hasta su uso.
- Solución salina con amortiguador pH 7.2.- A 1000 ml de solución salina al 0.85 %, adicionar 1.25 ml de solución amortiguadora de fosfatos; si es necesario, ajustar el pH a 7.2.
- Agar al 1 %.- Pesar 1.0 g de ion agar No. 2 o agar noble y adicionar 99 ml de solución salina con amortiguador; calentar con agitación hasta que el agar se funda, filtrar la solución caliente a través de lana de vidrio o gasa doblada en varias capas. Esterilizar en autoclave durante 20 min a 121°C; enfriar a 50°C y agregar 1 ml de la solución de cloruro de benzalconio al 0.13%. Mantener en refrigeración y fundir en baño de agua hirviendo al momento de usarlo.

8. PROCEDIMIENTO

8.1. Preparación de la muestra.

Los extractos de tejidos provenientes de especie animal conocida y desconocida usados como antígenos, se deben preparar por separado de la siguiente manera:

- Tomar una muestra a partir de tejido magro o con el menor contenido de grasa y picar finamente.
- Pesar 10 g de la muestra en un vaso de precipitado de 100 ml, adicionar 30 ml de solución salina y mezclar.
- Agitar el contenido durante 15 min y dejar reposar una hora.

- Filtrar a través de papel filtro Whatman No. 40 ϕ 42.
- Colectar el líquido filtrado en un tubo de ensayo con tapón de rosca y usarlo inmediatamente.

8.2. La preparación de las laminillas, debe efectuarse como sigue:

- Colocar los portaobjetos limpios, desengrasados y secos sobre una superficie horizontal, permitiendo que los extremos queden libres.
- Agregar lenta y cuidadosamente a cada uno, 4 ml de agar fundido al 1%, evitando la formación de burbujas. Dejar solidificar a temperatura ambiente. La capa de agar debe tener un grosor uniforme a todo lo largo de la laminilla.
- En una tarjeta diseñar un molde o guía, con la ubicación y distancia de las perforaciones.
- Colocar el portaobjetos sobre la guía y con un sacabocados practicar las perforaciones al gel y quitar el agar residual con una pipeta Pasteur conectada a una fuente de vacío.

8.3. Inoculación de las placas, debe efectuarse de la siguiente manera:

- Con una pipeta Pasteur, llenar los pozos formados con el antígeno en el centro y los antisueros alrededor o viceversa, según sea el caso, teniendo cuidado de no derramar ni mezclar los antisueros o los antígenos, así como de identificar correctamente los pozos.
- Improvisar una cámara húmeda, usando una caja Petri cuya tapa se recubre con un disco de papel filtro húmedo.
- Colocar los portaobjetos en el interior de la cámara sobre aplicadores de madera, para evitar el contacto con la superficie.
- Incubar las laminillas a temperatura ambiente durante 24 horas. Observar la formación de líneas de precipitación.
- Leer las placas sobre un fondo oscuro. Las bandas aparecerán de color blanco. Si no se han desarrollado completamente, llenar nuevamente los pozos y continuar la incubación a temperatura de refrigeración de 18 a 24 horas.

9. RESULTADOS

9.1. En la interpretación de resultados, se debe determinar la especie animal a que corresponde la muestra.

9.2. Informe de resultados

Reportar los antisueros probados y el resultado positivo o negativo, según corresponda.

10. SANCIONES

El incumplimiento a las disposiciones contenidas en la presente Norma, será sancionado conforme a lo establecido en la Ley Federal de Sanidad Animal y la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

11. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

Esta Norma Oficial Mexicana no es equivalente con ninguna norma internacional.

12. BIBLIOGRAFIA

Cordal, M.E., Petracca, A. y Moro, A. A. Preparación de reactivos para la detección de proteínas de diferentes especies animales por inmunodifusión. Revista Argentina de Microbiología. Vol. 17. No. 4. 1985.

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 5a. Edición. México. 1988.

Fundenberg, H. H., Stites, P. D., Caldwell, L. J. y Wells, V. J. Manual de Inmunología Clínica. México 1978.

Procedimientos para la identificación de especie en tejidos animales. Manual de procedimientos para el control de residuos tóxicos en productos de origen animal. Centro Nacional de Parasitología Animal. SARH. 1990.

Tizard, I. Inmunología Veterinaria. 3a. Edición. Nueva Editorial Interamericana, S. A. de C. V. México 1989.

13. DISPOSICIONES TRANSITORIAS

Esta Norma entra en vigor al día siguiente de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.