



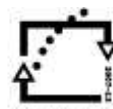
evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/1-1
Název inovace	STANOVENÍ <i>TRICHINELLA</i> SPP. VE VZORCÍCH MASA JATEČNÝCH ZVÍŘAT
Inovace předmětu	V1MA2 – Hygiena produkce masa II.
Registrační číslo projektu	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
Název projektu	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Název příjemce podpory	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Termín realizace inovace	LS 2012

1. Možnosti stanovení trichinel
2. Odběr vzorků pro referenční metodu
3. Návod na stanovení *Trichinella* spp. referenční metodou
4. Legislativní podklady pro vyšetřování trichinel



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/1-1
Projekt	CZ.1.07/2.2.00/15.0063 Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Výukový materiál	Možnosti stanovení trichinel

Trichinella – všichni hlísti příslušející do rodu *Trichinella*; oblí červi s přímým životním cyklem bez exogenní fáze, ale se dvěma generacemi probíhajícími u stejného hostitele

Referenční metoda stanovení

➤ **Metoda vyšetření hromadných vzorků trávící metodou s použitím magnetické míchačky**

Metoda pracuje na principu natrávení larev trichinel z vyšetřované svaloviny a jejich uvolnění do trávící tekutiny. Po následné sedimentaci lze živé, pohybující se trichinely pozorovat při 15-20 násobném zvětšení. Citlivost této metody je ~ 3 larvy na gram vyšetřované tkáně.

Ekvivalentními metodami k metodě referenční jsou:

- **Metoda trávení hromadného vzorku pomocí mechanického zařízení a sedimentační techniky**
- **Metoda trávení směsného vzorku pomocí mechanického zařízení a techniky izolace na filtru**
- **Automatická metoda trávení pro hromadné vzorky do 35 g**

Další možnosti vyšetření na přítomnost *Trichinella* spp.

- **Trichinoskopické vyšetření** – použitelné pouze pro maso divokých prasat určených pro konečného spotřebitele (prodej malých množství) nebo osobní spotřebu lovce!!!
- **Sérologické vyšetření** – využívá komerčně vyráběné a dodávané ELISA testy, možné je i využití pro plošné testování, detekuje (pomocí antigenů) přítomnost specifických protilátek. Nevýhodou vyšetření je omezená detekční schopnost v časných fázích infekce, kdy není organismem produkováno dostatečné množství protilátek. Protilátky zůstávají u prasat minimálně 6 měsíců po infekci, u koní klesají až na nulu za pár měsíců po infekci, ačkoli ve svalovině mohou přetrvávat infekce schopné larvy. Pokles koncentrací protilátek u divokých zvířat není znám.
- **PCR testy** – vhodné spíše pro druhové určení nebo určení genotypu trichinel, než pro plošné rutinní testování
- **Imunologické metody** – imunohistochemické metody, western blot, imunofluorescenční metody – nejsou komerčně dostupné a je tudíž nemožné je využít pro plošné testování



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/1-1
Projekt	CZ.1.07/2.2.00/15.0063 Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Výukový materiál	Odběr vzorků pro referenční metodu

Vzorky na vyšetření se odebírají z jatečně upravených těl po prohlídce *post mortem*. U divokých prasat zajišťuje odběr vzorků lovec.

Referenční metoda - domácí prasata

- Domácí prasata: **1 g**
- Chovné prasnice a kanci: 2 g

Místo: brániční pilíř

Pokud brániční pilíř chybí, odebírá se:

- Domácí prasata: 2 g
- Chovné prasnice a kanci: 4 g

Místo: svalovina žeberní části bránice u hrudní kosti, žvýkací svaly, svalovina jazyka, břišní svalovina

Referenční metoda – divoká prasata

- 10 g

Místo: svalovina z přední nohy, bránice, žvýkacích svalů

Referenční metoda - koně

- 10 g

Místo: svalovina jazyka, žvýkací svaly

Základní skupina vzorků, která se vyšetřuje, váží **100 g**.

Množství vzorků lze zvýšit až na 115 g při zachování základního množství trávící tekutiny.

Skupiny o váze 15-50 g lze vyšetřovat s použitím **polovičního množství** trávící tekutiny.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/1-1
Projekt	CZ.1.07/2.2.00/15.0063 Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Výukový materiál	Návod na stanovení <i>Trichinella</i> spp. referenční metodou

Vzorkem pro vyšetření je **50 g** svaloviny bráničních pilířů odebraných od domácích prasat. Směsné vzorky svaloviny jsou připraveny již namleté. Množství všech substancí je upraveno pro potřeby laboratorního cvičení na polovinu.

1. Do kádinky o objemu 2-3 l napusťte 1 litr vodovodní vody o teplotě 46-48 °C
2. Odměřte 8 ml kyseliny chlorovodíkové (25 %) a přidejte do vody
3. Přidejte odvážené množství pepsinu (5 g)
4. Vložte připravený vzorek
5. Směs důkladně promíchejte skleněnou tyčinkou tak, aby se svalovina rovnoměrně rozptýlila
6. Vložte magnetickou míchačku, kádinku postavte na předehřátou magnetickou ploténku a zahajte míchání
7. Kádinku přikryjte alobalem a nastavte úroveň míchání tak, aby se tvořil hluboký vír, ovšem tekutina nesmí vystřikovat ven
8. Vzniklou směs nechte trávit do vymizení částecek masa, což trvá zhruba 30 minut. Dobu potřebnou k trávení lze prodloužit max. na 60 minut
9. Vyjměte míchací tyčinku
10. Přelijte natrávenou tekutinu přes sítko do sedimentační nálevky
11. Ponechte stát v klidu 30 minut
12. Odpusťte rychle 40 ml vzorku do skleněného odměrné válce
13. Ponechte stát v klidu 10 minut
14. Odsajte (plastovou pipetou) nebo odlejte horních 30 ml (na tekutý odpad použijte kádinku, ve které jste prováděli trávení)
15. Zbývajících 10 ml vzorku rozdělte do dvou Petriho misek a pozorujte pod stereomikroskopem při 15-20 násobném zvětšení

Larvy trichinel jsou zhruba 1 mm dlouhé a 0,03 mm široké, jsou stočené nebo naopak rovné, živé larvy vykazují čilý pohyb, neživé larvy mají tvar písmene C.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/1-1
Projekt	CZ.1.07/2.2.00/15.0063 Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Výukový materiál	Legislativní podklady pro vyšetřování trichinel

- **Nařízení komise (ES) č. 2075/2005**, kterým se stanoví zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase
 - obsahuje všechny potřebné informace pro praktické provádění plošného povinného monitoringu včetně možností devitalizace, dohledání pozitivních kusů, alternativní metody vyšetřování, nakládání s pozitivními kusy apod.
- **Zákon č. 166/1999 Sb. O veterinární péči**, ve znění 308/2011 Sb.
 - obsahuje informace o povinném vyšetřování ulovené volně žijící zvěře
- **Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009**, o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a o zrušení nařízení (ES) č. 1774/2002 (nařízení o vedlejších produktech živočišného původu)
 - upravuje nakládání s pozitivními kusy = VŽP
- **Nařízení komise (EU) č. 142/2011**, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a provádí směrnice Rady 97/78/ES, pokud jde o určité vzorky a předměty osvobozené od veterinárních kontrol na hranici podle uvedené směrnice
 - upravuje nakládání s pozitivními kusy = VŽP