



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

<b>Aktivita</b>	<b>KA 2350/1-1</b>
<b>Název inovace</b>	<b>STANOVENÍ <i>TRICHINELLA</i> SPP. VE VZORCÍCH MASA JATEČNÝCH ZVÍŘAT</b>
<b>Inovace předmětu</b>	V1MA1 – Hygiena produkce masa I.
<b>Registrační číslo projektu</b>	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
<b>Název projektu</b>	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
<b>Název příjemce podpory</b>	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
<b>Termín realizace inovace</b>	<b>ZS 2013</b>

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



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	<b>Možnosti stanovení trichinel</b>

**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.

### Metody přímé detekce parazita

- **Trichinoskopické vyšetření** – použitelné pouze pro maso divokých prasat určených pro konečného spotřebitele (prodej malých množství) nebo osobní spotřebu lovce!!!
- **PCR testy** – vhodné spíše pro druhové určení nebo určení genotypu trichinel, než pro plošné rutinní testování

### Metody nepřímé detekce (protilátky)

- **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.
- **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

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

Vzorky na vyšetření se odebírají z jatečně upravených těl po prohlídce *post mortem*. U divokých prasat určených pro konečného spotřebitele (osobní spotřeba lovce, prodej malých množství) zajišťuje odběr vzorků uživatel honitby. U ostatních druhů zvířat je odběr realizován v jatečném provozu (zvěřinovém závodě).

### 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, žvýkáci svaly, svalovina jazyka, břišní svalovina

### Referenční metoda – divoká prasata

- 10 g

Místo: svalovina z přední nohy, bránice, žvýkáci svalů

### Referenční metoda - koně

- 10 g

Místo: svalovina jazyka, žvýkáci svaly

### Referenční metoda - krokodýli

- 10 g

Místo: svalovina mezižeburní, žvýkáci svaly (vnější i vnitřní)

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.



evropský  
sociální  
fond v ČR



MSMT  
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

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. Vložte připravený vzorek a promíchejte skleněnou tyčinkou
3. Odměřte 8 ml kyseliny chlorovodíkové (25 %) a přidejte do vody se vzorkem
4. Přidejte odvážené množství pepsinu (5 g)
5. Směs znovu důkladně promíchejte skleněnou tyčinkou tak, aby se svalovina rovnoměrně rozptýlila
6. Vložte magnetickou míchačku, kádinku postavte na předeřhátou 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 částech 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 odlijte 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 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.



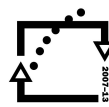
evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

- **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