

31984L0319

L 167/34

EUROOPA ÜHENDUSTE TEATAJA

27.6.1984

KOMISJONI DIREKTIIV,
7. juuni 1984,
millega muudetakse lisasid direktiivis 77/96/EMÜ keeritsusside (*Trichinella spiralis*) kontrolli kohta värskel kodusealiha impordil kolmandatest riikidest

(84/319/EMÜ)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Majandusühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 21. detsembri 1976. aasta direktiivi 77/96/EMÜ keeritsusside (*Trichinella spiralis*) kontrolli kohta värskel kodusealiha impordil kolmandatest riikidest, ⁽¹⁾ viimati muudetud direktiiviga 83/91/EMÜ, ⁽²⁾ eriti selle artiklit 8,

ning arvestades, et:

hiljutised uuringud on võimaldanud välja arendada teatavad meetodid keeritsusside kindlakstegemiseks sealihases; nende meetodite usaldusväärsus tervisekaitse seisukohast on võrdväärne olemasolevate meetodite omaga; sellepärast tuleks direktiivi 77/96/EMÜ I lisasse teha asjakohased täiendused;

keeritsussikontrolli hõlbustamiseks tuleks lubada kolmandatel riikidel ja liikmesriikidel valida ettenähtud uuringumeetodite vahel;

tuleks teha teatavad tehnilised kohandused praegusel ajal kohaldatavatesse keeritsussikontrolli meetoditesse ning nende nõuete suhtes, millele keeritsusside kontrolliga tegelevad laborid peavad vastama;

käesolevas direktiivis sätestatud meetmed on alalise veterinaarkomitee arvamusega kooskõlas,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

Artikkel 1

Direktiivi 77/96/EMÜ muudetakse vastavalt lisas sätestatule.

Artikkel 2

Liikmesriigid jõustavad käesoleva direktiivi järgimiseks vajalikud õigusnormid hiljemalt 1. jaanuaril 1985. Liikmesriigid teatavad sellest viivitamata komisjonile.

Artikkel 3

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 7. juuni 1984

Komisjoni nimel

komisjoni liige

Poul DALSGER

⁽¹⁾ EÜT L 26, 31.1.1977, lk 67.

⁽²⁾ EÜT L 59, 5.3.1983, lk 34.

LISA

A. Lisa muudetakse järgmiselt:

1. II jaotise punktis a:

— kümnes taane asendatakse järgmisega:

“— sobiva valgusallikaga varustatud stereomikroskoop (suurendus 15-40 ×),”

— viimane taane asendatakse järgmisega:

“— tehisseedevedelik, mis on valmistatud järgmiselt:

10 g pepsiini (80 ü/g FIP: Fédération internationale de pharmacie), 5 ml HCl (vähemalt 37 %), segu mahtu suurendatakse kraanivett lisades ühe liitrini.”

2. III jaotis asendatakse järgmisega:

“III. KOONDPROOVIDE TEHISSEEDE MEETOD

a) **Seadmed, vahendid ja reaktiivid**

— nuga ja pintsett proovide võtmiseks,

— hakkmasin, mille perforatsioonide läbimõõt on 2-3 mm,

— 3-liitrine Erlenmeyeri kolb kummist või puuvillast korgiga,

— kooniline jaotuslehter mahutavusega 2 000 ml,

— tavaline statiiv, millel on ligikaudu 28 cm pikkune A-alus ja 80 cm pikkune vars,

— ligikaudu 10-11 cm läbimõõduga rõngas, mida saab kinnitada statiivi külge,

— lamedate mokaadega näpits (23 × 40 mm), mida saab topeltühendusega kinnitada statiivi külge,

— messingist või roostevabast terasest võrguga sõel (võrgusilma suurus 177), mille välisläbimõõt on 11 cm,

— lehter siseläbimõõduga vähemalt 12 cm,

— 100 milliliitrised klaasist mõõtesilindrid,

— sobiva valgusallikaga varustatud stereomikroskoop (suurendus 15-40 ×) või sobiva valgusallikaga varustatud trihhinelloskoop, millel on horisontaallaud kompressooriumi tarvis,

— trihhinelloskoobi kasutamise korral vastsete loendamisanum, mida võib kirjeldada järgmiselt: vastsete loendamisanum valmistatakse 3 mm paksustest akrüülplaatidest järgmisel viisil:

i) anuma põhja pindala on 180 × 40 mm, mis on märkimise teel ruutudeks jagatud,

ii) külgede suurus on 230 × 20 mm,

iii) otsa suurus on 40 × 20 mm. Põhi ja otsad tuleks paigutada külgede vahele, nii et moodustub anum, mille mõlemas otsas on väikesed sangad. Põhja ülemine pool tuleks tõsta 7-9 mm kõrgusele raami alumisest pinnast, mille moodustavad küljed ja otsad. Detailid tuleks kinnitada materjali jaoks sobiva liimiga,

— stereomikroskoobi kasutamise korral Petri tassid, mille läbimõõt on 9 cm ja mille põhja alapinnale on terava instrumendi abil märgitud 10 × 10 mm suurused ruudukujulised kontrollpiirkonnad,

— 10-liitrised konteinerid, mida kasutatakse positiivsete tulemuste korral seadmete ja vahendite desinvadeerimiseks näiteks formaliiniga töötlemise teel ning ülejäänud tehisseedevedeliku jaoks,

— kontsentreeritud (37 %) soolhape,

— pepsiin tugevusega 1 : 10 000 NF (US National Formulary)

ehk 1 : 12 500 BP (British Pharmacopoea)

ehk 2 000 FIP (Fédération internationale de pharmacie),

— alused, millest igaühele mahub 50 ligikaudu 2 grammist proovi,

— kaal täpsusega 0,1 g.

b) Proovide võtmine

1. Tervikrümpade korral tuleb võtta vähemalt 2 grammine proov diafragmasäärest lihase ja kõõluse ühinemiskohast. Kui diafragmasääred ei ole säilinud, tuleb võtta sama suur proov vahelihase roide- või rinnakuosast või keele- või mälurlihastest või kõhulihastest.
2. Lõigatud tükiliha korral tuleb võtta vähemalt 2 grammine väherasvane proov luukonnalihastest, võimaluse korral luude või kõõluste juurest.

c) Meetod

1. i) *Koondproovide täiskogum* (100 proovi korraga)

Sigadelt võetud igast 100 üksikproovist võetakse ligikaudu 1-grammine proov. Koondproov lastakse ühe korra läbi hakkmasina.

Peenestatud liha paigutatakse 3-liitrise Erlenmeyeri kolbi, lisades 7 g pepsiini, ligikaudu 2 liitrit kraanivett, mis on soojendatud temperatuurile umbes 40-41 °C, ning 25 ml kontsentreeritud soolhapet. Segu loksutatakse, et pepsiin lahustuks.

Lahuse pH-määr on umbes 1,5-2.

— Seedeks inkubeeritakse Erlenmeyeri kolbi ligikaudu neli tundi temperatuuril 40-41 °C. Inkubeerimise ajal loksutatakse kolbi korrapäraselt, vähemalt kaks korda tunnis.

— Seedunud lahus filtreeritakse läbi sõela koonilisse 2-liitrise jaotuslehttrisse ja jäetakse statiivi peale vähemalt üheks tunniks seisma.

— Lehtrist lastakse mõõtesilindrisse kokku ligikaudu 45 ml lahust ning see jagatakse kolme Petri tassi vahel, mille põhjale peaksid olema märgitud ruudud, igasse tassi 15 ml lahust.

— Igat Petri tassi uuritakse stereomikroskoobiga hoolikalt keeritsussivastsete suhtes.

— Kui kasutatakse vastsete loendamisanumaid, jagatakse kõnealused 45 ml kahe loendamisanuma vahel ja neid uuritakse trihhinellooskoobiga.

Keeritsussivastsete esinevad settes äratuntavate organismidena ning sageli võib leige vee korral täheldada spiraalsete organismide kokku- ja lahtikeerduvat liikumist.

— Tehisseedele allutatud materjali tuleb uurida niipea, kui see on valmis. Mitte mingil juhul ei tohi uurimist edasi lükata järgmisele päevale.

Kui tehisseedele allutatud materjal ei ole selginud või seda ei uurita 30 minuti jooksul pärast selle valmistamist, siis tuleb seda selitada järgmiselt. Lõplik proov mahuga 45 ml valatakse mõõtesilindrisse ja sellel lastakse 10 minutit seista. Selle aja möödudes imetakse välja 30 ml settepealset vedelikku ning allesjäänud 15 milliliitrit lisatakse nii palju kraanivett, et kokku tuleks 45 ml. Uue, 10 minutilise settimisaja möödudes imetakse välja 30 ml settepealset vedelikku ning allesjäänud 15 ml valatakse uurimiseks Petri tassi või vastsete loendamisanumasse. Mõõtesilindrit tuleks loputada 10 ml kraaniveega ning see loputusvesi tuleks uurimiseks lisada Petri tassis või vastsete loendamisanumas olevale proovile.

- ii) *Vähem kui 100 proovist koosnevad koondproovid*

Täiskogumis 100 proovi suurusse koondproovi võidakse lisada kuni 15 üksikproovi ning neid võidakse uurida koos nende proovidega. Kui uuritakse rohkem kui 15 ja vähem kui 100 proovi, peaks tehisseedevedeliku kogus olema proportsionaalselt väiksem.

2. Kui koondproovi uurimine annab positiivse või kahtlase tulemuse, tuleks igalt sealt vastavalt punktile b võtta veel 20 grammine proov. Need 20 grammised proovid viielt sealt tuleks koondada ning neid tuleks uurida eespool kirjeldatud meetodil. Sel teel uuritakse läbi proovid 20 viieserialiselt rühmalt. Kui viie sea koondproovist leitakse keeritsusse, tuleks selle rühma igalt sealt võtta veel 20 grammine proov ja igat proovi tuleks eraldi uurida eespool kirjeldatud meetodil.”

3. Lisatakse IV, V ja VI jaotis, mille tekst on järgmine:

“IV. MEHAANILISE ABIGA KOONDPROOVIDE TEHISSEEDE MEETOD/SETITUSMENETLUS

a) **Seadmed, vahendid ja reaktiivid**

- nuga või käärid proovide lõikamiseks,
- märkimise teel 50 ruuduks jagatud alused, millest igaühele mahub ligikaudu 2 g liha,
- Stomacheri aparaat (Stomacher Lab-blender 3 500 mudel Thermo),
- Stomacheri aparaadile sobivad plastikkotid,
- koonilised 2-liitrised jaotuslehtrid, eelistatavalt sellised, mis on varustatud teflonist turvakorkidega,
- rõngaste ja klambritega varustatud statiivid,
- roostevabast terasest võrguga sõelad, mille võrgutihedus on 177 mikronit ja mille välisläbimõõt on 11 cm,
- sõelade hoidmiseks lehtrid, mille siseläbimõõt on vähemalt 12 cm,
- 100 milliliitrised klaasist mõõtesilindrid,
- 25 milliliitrine dosaator,
- 3-liitrised keeduklaasid,
- lusikas või klaaspulk tehisseededevedeliku segamiseks mensuuris,
- plastiksüstal ja imemistoru,
- 6 g mõõtelusikas,
- termomeeter täpsusega $\pm 0,5$ °C ja mõõtevahemikuga 1-100 °C,
- vibraator, nt elektripardel, mille otsik on eemaldatud,
- ajarelee, mis lülitub sisse ja välja üheminutiliste intervallidega,
- sobiva valgusallikaga varustatud trihhinellooskoop horisontaallauaga või stereomikroskoop,
- trihhinellooskoobi kasutamise korral vastsete loendamisanum, mis on valmistatud 3 mm paksustest akrüülplaatidest järgmiselt:
 - i) anuma põhja pindala on 180×40 mm, mis on märkimise teel ruutudeks jagatud,
 - ii) külgede suurus on 230×20 mm,
 - iii) otsa suurus on 40×20 mm. Põhi ja otsad tuleks paigutada külgede vahele, nii et moodustub anum, mille mõlemas otsas on väikesed sangad. Põhja ülemine pool tuleks tõsta 7-9 mm kõrgusele raami alumisest pinnast, mille moodustavad küljed ja otsad. Detailid tuleks kinnitada materjali jaoks sobiva liimiga,
- stereomikroskoobi kasutamise korral Petri tassid, mille läbimõõt on 9 cm ja mille põhja alapinnale on terava instrumendi abil märgitud 10×10 mm suurused ruudukujulised kontrollpiirkonnad,
- soolhappe 17,5 % lahus,
- pepsiin tugevusega 1 : 10 000 NF (US National Formulary)
ehk 1 : 12 500 BP (British Pharmacopoea)
ehk 2 000 FIP (Fédération internationale de pharmacie),
- 10-liitrised konteinerid, mida kasutatakse positiivsete tulemuste korral seadmete ja vahendite desinveerimiseks näiteks formaliiniga töötlemise teel ning ülejäänud tehisseededevedeliku jaoks,
- kaal täpsusega 0,1 g.

b) Proovide võtmine

1. Tervikrümpade korral tuleb võtta vähemalt 2 grammine proov diafragmasäärest lihase ja kõõluse ühinemiskohast. Kui diafragmasääred ei ole säilinud, tuleb võtta sama suur proov vahelihase roide- või rinnakuosast või keele- või mälurlihastest või kõhulihastest.
2. Lõigatud tükiliha korral tuleb võtta vähemalt 2 grammine väherasvane proov luukonnalihastest, võimaluse korral luude või kõõluste juurest.

c) Meetod**1. Tehisseedemenetlus****i) Proovide täiskogum (100 proovi korraga)**

- Stomacher Lab-blender 3 500 tuleks varustada kahekordse plastikkotiga ning valida temperatuur 40-41 °C.
- Sisemisse plastikkotti valatakse 1,5 liitrit temperatuurini 32-35 °C soojendatud vett ning soojendatakse see temperatuurini 40-41 °C.
- Seejärel lisatakse kotis olevale veele 25 ml soolhappe 17,5 % lahust.
- Seejärel lisatakse 100 ligikaudu 1-grammist proovi (temperatuuriga 25-30 °C), mis on võetud igast üksikproovist vastavalt punktile b.
- Lõpuks lisatakse 6 g pepsiini. Sellest lisamisjärjestusest tuleb rangelt kinni pidada, et vältida pepsiini lagunemist.
- Seejärel töödeldakse plastikkoti sisu 25 minutit Stomacheri aparaadiga.
- Seejärel eemaldatakse plastikkott Stomacheri aparaadist ning tehisseededelik kurnatakse läbi sõela 3-liitrisesse keeduklaasi.
- Plastikkott loputatakse ligikaudu 100 ml veega, mida seejärel kasutatakse sõela loputamiseks ning mis lõpuks lisatakse keeduklaasis olevale filtraadile.

Täiskogumis 100 proovi suurusse koondproovi võidakse lisada kuni 15 üksikproovi ning neid võidakse uurida koos nende proovidega.

ii) Vähem kui 100 proovist koosnevad koondproovid

- Stomacher Lab-blender 3 500 tuleks varustada kahekordse plastikkotiga ning valida temperatuur 40-41 °C.
- Tehisseededeliku valmistamiseks segatakse umbes poolteist liitrit vett 25 ml soolhappe 17,5 % lahusega. Lisatakse 6 g pepsiini ja kogu vedelik segatakse temperatuuril 40-41 °C. Sellest lisamisjärjestusest tuleb rangelt kinni pidada, et vältida pepsiini lagunemist.
- Tehisseededelikust mõõdetakse välja maht, mis vastab 15 milliliitrile ühe grammi lihaproovi kohta (näiteks 30 proovi jaoks vajalik maht on 30 × 15 ml ehk 450 ml), ning valatakse see kahekordse plastikkoti sisemisse kotti koos ligikaudu 1-grammiste lihaproovidega (temperatuuriga 25-30 °C), mis on võetud igast üksikproovist vastavalt punktile b.
- Välimisse kotti valatakse vett, mille temperatuur on ligikaudu 41 °C nii, et vedeliku maht kahes kotis kokku on poolteist liitrit.
- Seejärel töödeldakse plastikkoti sisu 25 minutit Stomacheri aparaadiga.
- Seejärel eemaldatakse plastikkott Stomacheri aparaadist ning tehisseededelik kurnatakse läbi sõela 3-liitrisesse keeduklaasi.
- Plastikkott loputatakse ligikaudu 100 ml veega, mida seejärel kasutatakse sõela loputamiseks ning mis lõpuks lisatakse keeduklaasis olevale filtraadile.

2. Vastsete eraldamine setitamise teel

- Tehisseededelikule lisatakse jääd (300-400 g jäähelbeid, -laaste või purustatud jääd) nii, et vedeliku kogumaht suureneb umbes 2 liitrini. Seejärel segatakse tehisseededelikku, kuni jää on sulanud.
Väiksemate koondproovide korral (vt alapunkti 1 alapunkt ii) peaks jääkogus olema vastavalt väiksem.
- Jahutatud tehisseededelik valatakse 2-liitrisesse jaotuslehtrisse, mis on varustatud lisaklabri abil kinnitatud vibraatoriga.

- Setitamiseks allutatakse jaotuslehter 30 minuti jooksul vaheaegadega vibratsioonile, st üheminutilisele vibratsioonile järgneb üheminutiline paus.
- 30 minuti möödudes lastakse 60milliliitrine setteproov kiiresti 100 ml mahutavusega mõõtesilindrisse. (Pärast kasutamist loputatakse lehtrit puhastuslahusega.)
- 60 ml proovil lastakse vähemalt 10 minutit seista, seejärel tuleks settepealne vedelik eemaldada imemise teel, jättes alles 15 ml suuruse proovi, mida uuritakse vastsete suhtes.
- Imemiseks võib kasutada plastiktoruga varustatud ühekorrasüstalt.
Toru pikkus peaks olema selline, et kui süstla pea toetub mõõtesilindri servale, jääb mõõtesilindrisse 15 ml.
- Allesjäänud 15 ml valatakse vastsete loendamisanumasse või kahte Petri tassi ning seda uuritakse vastavalt trihhinellooskoobi või stereomikroskoobi abil.
- Tehisseedele allutatud materjali tuleb uurida niipea, kui see on valmis. Mitte mingil juhul ei tohi uurimist edasi lükata järgmisele päevale.

Kui tehisseedele allutatud materjal ei ole selginud või seda ei uurita 30 minuti jooksul pärast selle valmistamist, siis tuleb seda selitada järgmiselt. Lõplik proov mahuga 60 ml valatakse mõõtesilindrisse ja sellel lastakse 10 minutit seista. Selle aja möödudes imetakse välja 45 ml settepealset vedelikku ning allesjäänud 15 milliliitrile lisatakse nii palju kraanivett, et kokku tuleks 45 ml. Uue, 10 minutilise settimisaja möödudes imetakse välja 30 ml settepealset vedelikku ning allesjäänud 15 ml valatakse uurimiseks Petri tassi või vastsete loendamisanumasse. Mõõtesilindrit tuleks loputada 10 ml kraaniveega ning see loputusvesi tuleks uurimiseks lisada Petri tassis või vastsete loendamisanumas olevale proovile.

3. Kui koondproovi uurimine annab positiivse või kahtlase tulemuse, tuleks igalt sealt vastavalt punktile b võtta veel 20 grammine proov. Need 20 grammised proovid viielt sealt tuleks koondada ning neid tuleks uurida eespool kirjeldatud meetodil. Sel teel uuritakse läbi proovid 20 viieserialiselt rühmalt. Kui viie sea koondproovist leitakse keeritsusse, tuleks selle rühma igalt sealt võtta veel 20 grammine proov ja igat proovi tuleks eraldi uurida eespool kirjeldatud meetodil.

V. MEHAANILISE ABIGA KOONDPROOVIDE TEHISSEEDE MEETOD/FILTERERISTUSMENETLUS

a) Seadmed, vahendid ja reaktiivid

Samad, mis on näidatud IV meetodi punktis a.

Lisaks eespool viidatutele:

- 1-liitrine Gelmani lehter koos filtrihoidjaga (mille läbimõõt on 45 mm),
- filterkettad; filterketas koosneb järgmistest osadest:
ümarmargune roostevabast terasest võrk, mille võrguava suurus on 35 mikronit (ketta läbimõõt peaks olema 45 mm),
kaks rõngast, mis on valmistatud 1 mm paksusest kummist (ning mille välisläbimõõt peaks olema 45 mm ja siseläbimõõt 38 mm),
ümarmargune võrk asetatakse kahe kummirõnga vahele ning kinnitatakse nende külge nende kahe materjali jaoks sobiva kahekomponendilise liimiga,
- 3-liitrine Erlenmeyeri kolb, mis on varustatud kõrvaltoruga imemise tarbeks,
- filterpump,
- plastikkotid, mille mahutavus on vähemalt 80 ml,
- vahendid plastikkottide sulgemiseks,
- rennilaasensüüm tugevusega 1 : 150 000 Soxhleti ühikut grammi kohta.

b) Proovide võtmine

Vt IV meetodi punkt b.

c) **Meetod**1. *Tehisseedemenetlus*

- i) Proovide täiskogum (100 proovi korraga)
Vt IV meetodi punkti c alapunkti 1 alapunkt i.
- ii) Vähem kui 100 proovist koosnevad koondproovid
Vt IV meetodi punkti c alapunkti 1 alapunkt ii.

2. *Vastsete eraldamine filtreerimise teel*

- Tehisseedevelikule lisatakse jääd (300-400 g jäähelbeid, -laaste või purustatud jääd) nii, et vedeliku kogumaht suureneb umbes 2 liitri.
Väiksemate koondproovide korral peaks jääkogus olema vastavalt väiksem.
- Seejärel segatakse tehiseedevelikku, kuni jää on sulanud. Siis jäetakse jahutatud tehiseedevelik vähemalt kolmeks minutiks seisma, et vastsed saaksid keerduda.
- Filtrihoidjaga ja filterkettaga varustatud Gelmani lehter kinnitatakse Erlenmayeri kolbi külge, mis on ühendatud filterpumbaga.
- Tehiseedevelik valatakse Gelmani lehtrisse ja filtreeritakse. Filtreerimise lõpupoole võib tehiseedeveliku läbi filtri voolamisele kaasa aidata filterpumbaga imedes. Imemine peaks lõppema enne filtri kuivamist, st kui lehtris on järel 2-5 ml vedelikku.
- Kui kogu tehiseedevelik on filtreeritud, eemaldatakse filterkett ja asetatakse see 80 ml mahutavusega plastikkotti, kuhu lisatakse 15-20 ml rennilaasilahust. Rennilaasilahuse valmistamiseks lisatakse 100 ml kraaniveele 2 g rennilaasi.
- Plastikkott suletakse kahekordselt ning asetatakse Stomacheri aparati sisemise ja välimise koti vahele.
- Stomacheri aparadil lastakse kolm minutit töötada, näiteks kui sellega töödeldakse proovide täiskogumit või mittetäielikku kogumit.
- Kolme minuti möödudes eemaldatakse plastikkott koos filterketta ja rennilaasilahusega Stomacheri aparadist ja avatakse kääridega. Sees olnud vedelik valatakse vastsete loendamisanumasse või Petri tassi. Kotti loputatakse 5-10 ml veega, mis seejärel lisatakse vastsete loendamisanumasse uurimiseks trihhinellooskoobi abil või Petri tassi uurimiseks stereomikroskoobi abil.
- Tehisseedele allutatud materjali tuleb uurida niipea, kui see on valmis. Mitte mingil juhul ei tohi uurimist edasi lükata järgmisele päevale.

Märkus

Kasutada tohib ainult täiesti puhtaid filterkettaid. Määrduvad kettaid ei tohiks kunagi lasta kuivada.

Filterkettaid saab puhastada, jättes need ööseks rennilaasilahusesse. Enne kasutamist tuleks neid pesta värskes rennilaasilahuses, kasutades Stomacheri aparati.

- 3. Kui koondproovi uurimine annab positiivse või kahtlase tulemuse, tuleks igalt sealt vastavalt punktile b võtta veel 20 grammine proov. Need 20 grammised proovid viielt sealt tuleks koondada ning neid tuleks uurida eespool kirjeldatud meetodil. Sel teel uuritakse läbi proovid 20 viieserialiselt rühmalt. Kui viie sea koondproovist leitakse keeritsusse, tuleks selle rühma igalt sealt võtta veel 20 grammine proov ja igat proovi tuleks eraldi uurida eespool kirjeldatud meetodil.

VI. KOONDPROOVIDE UURIMINE TEHISSEDE MEETODIL MAGNETSEGISTI KASUTAMISEGA

a) **Seadmed, vahendid ja reaktiivid**

- nuga ja pintsetid proovide lõikamiseks,
- alused, mis on jagatud 50 ruuduks, millest igaühele mahub ligikaudu 2 g liha,
- Moulinette'i segur,
- ligikaudu 5 cm pikkused magnetsegistid, mis on varustatud termostaadi abil juhivate soojendusplaatidega ja millel on teflonkatttega segamispulgad,

- koonilised jaotuslehtid mahutavusega 2 liitrit,
- rõngaste ja klambritega varustatud statiivid,
- roosteabast terasest võrguga sõelad, mille võrgutihedus on 177 mikronit ja mille välisläbimõõt on 11 cm,
- sõelade hoidmiseks lehtid, mille siseläbimõõt on vähemalt 12 cm,
- 3-liitrine keeduklaas,
- mõõtesilindrid mahutavusega ligikaudu 50 ml või tsentrifuugiklaasid,
- sobiva valgusallikaga varustatud trihhineloskoop horisontaallauaga või stereomikroskoop,
- trihhineloskoobi kasutamise korral vastsete loendamisanum, mis on valmistatud 3 mm paksustest akrüülplaatidest järgmiselt:
 - i) anuma põhja pindala on 180×40 mm, mis on märkimise teel ruutudeks jagatud,
 - ii) külgede suurus on 230×20 mm,
 - iii) otsa suurus on 40×20 mm. Põhi ja otsad tuleks paigutada külgede vahele, nii et moodustub anum, mille mõlemas otsas on väikesed sangad. Põhja ülemine pool tuleks tõsta 7-9 mm kõrgusele raami alumisest pinnast, mille moodustavad küljed ja otsad. Detailid tuleks kinnitada materjali jaoks sobiva liimiga,
- stereomikroskoobi kasutamise korral Petri tassid, mille läbimõõt on 9 cm ja mille põhja alapinnale on terava instrumendi abil märgitud 10×10 mm suurused ruudukujulised kontrollpiirkonnad,
- alumiiniumfoolium,
- soolhappe 25 % lahus,
- pepsiin tugevusega 1 : 10 000 NF (US National Formulary)
 - ehk 1 : 12 500 BP (British Pharmacopoea)
 - ehk 2 000 FIP (Fédération internationale de pharmacie),
- kraanivesi, mis on soojendatud temperatuurile 46-48 °C,
- 10-liitrised konteinerid, mida kasutatakse positiivsete tulemuste korral seadmete ja vahendite desinveerimiseks näiteks formaliiniga töötlemise teel ning ülejäänud tehisseedvedeliku jaoks,
- kaal täpsusega 0,1 g.

b) **Proovide võtmine**

1. Tervikrumpade korral tuleb võtta vähemalt 2 grammine proov diafragmasäärest lihase ja kõõluse ühinemiskohast. Kui diafragmasääred ei ole säilinud, tuleb võtta sama suur proov vahelihase roide- või rinnakuosast või keele- või mälurlihastest või kõhulihastest.
2. Lõigatud tükiliha korral tuleb võtta vähemalt 2 grammine väherasvane proov luukonnalihastest, võimaluse korral luude või kõõluste juurest.

c) **Meetod**

1. i) *Proovide täiskogum* (100 proovi korraga)
 - Igast üksikproovist vastavalt punktile b võetud 100 ligikaudu 1-grammist proovi purustatakse Moulinette'i seguriga. Segur käivitatakse kolmel kuni neljal korral, iga kord ligikaudu üheks sekundiks.
 - Purustatud liha paigutatakse 3-liitrisse keeduklaasi ja piserdatakse 10 g pepsiiniga. Keeduklaasi valatakse 2 liitrit temperatuurini 46-48 °C soojendatud kraanivett koos 16 ml soolhappega.
 - Moulinette'i seguri hakketarvik kastetakse korduvalt keeduklaasis olevasse tehisseedvedelikku eemaldamaks liha, mis võib olla jäänud hakketarviku külge.
 - Segamispulk paigutatakse keeduklaasi ning keeduklaas kaetakse alumiiniumfooliumiga.

- Keeduklaas asetatakse magnetsegisti eelsoojendatud plaadile ning alustatakse segamisprotsessi. Enne segamisprotsessi alustamist tuleks magnetsegistit reguleerida selliselt, et see säilitaks kogu töö käigus püsiva temperatuuri 44-46 °C. Segamisprotsessi ajal peaks tehisseedevedelik pöörlema piisavalt kiiresti, et tekiks sügav pööris ilma pritsimiseta.
- Tehisseedevedelikku segatakse 30 minutit, mille möödudes lülitatakse segisti välja ning tehisseedevedelik valatakse läbi sõela setituslehtrisse.
- Tehisseedevedelikul lastakse lehtris 30 minutit seista.
- Pärast 30 minuti möödumist lastakse 40 ml suurune tehisseedevedeliku proov kiiresti mõõtesilindrisse või tsentrifuugiklaasi.
- Sellel 40 ml suurusel proovil lastakse 10 minutit seista ning seejärel eemaldatakse imemise teel 30 ml settepealset vedelikku, nii et alles jääb 10 ml.
- Allesjäänud 10 ml suurune setteproov valatakse vastsete loendamisanumasse või Petri tassi.
- Seejärel loputatakse silindrit või tsentrifuugiklaasi umbes 10 ml kraaniveega, mis tuleb lisada proovile vastsete loendamisanumas või Petri tassis. Seejärel uuritakse proovi vastavalt trihhinellooskoobiga või stereomikroskoobiga.
- Tehisseedele allutatud materjali tuleb uurida niipea, kui see on valmis. Mitte mingil juhul ei tohi uurimist edasi lükata järgmisele päevale.

Kui tehisseedele allutatud materjali ei uurita 30 minuti jooksul pärast selle valmistamist, siis tuleb seda selitada järgmiselt. Lõplik proov mahuga umbes 40 ml valatakse mõõtesilindrisse ja sellel lastakse seista 10 minutit, mille möödudes eemaldatakse 30 ml settepealset vedelikku, nii et alles jääb 10 ml. Seda kogust suurendatakse 40 milliliitriini, lisades kraanivett. Uue, 10 minutilise settimisaja möödudes imetakse välja 30 ml settepealset vedelikku, nii et alles jääb 10 ml uurimiseks Petri tassis või vastsete loendamisanumas. Mõõtesilindrit tuleks loputada 10 ml kraaniveega ning see loputusvesi tuleks uurimiseks lisada Petri tassis või vastsete loendamisanumas olevale proovile.

Kui uurimisel ilmneb, et sete ei ole selginud, tuleks proov valada mõõtesilindrisse ja suurendada selle kogust kraanivett lisades 40 milliliitriini ning seejärel järgida eespool kirjeldatud menetlust.

ii) *Vähem kui 100 proovist koosnevad koondproovid*

Täiskogumis 100 proovi suuruse koondproovi võidakse lisada kuni 15 1-grammist proovi ning neid võidakse uurida koos nende proovidega vastavalt punkti c alapunkti 1 alapunktile i. Rohkem kui 15 proovi tuleks uurida koondproovi täiskogumina. Kuni 50 proovist koosnevate koondproovide korral võidakse tehisseedevedeliku mahtu vähendada 1 liitriini.

2. Kui koondproovi uurimine annab positiivse või kahtlase tulemuse, tuleks igalt sealt vastavalt punktile b võtta veel 20 grammine proov. Need 20 grammised proovid viielt sealt tuleks koondada ning neid tuleks uurida eespool kirjeldatud meetodil. Sel teel uuritakse läbi proovid 20 viieseliselt rühmalt. Kui viie sea koondproovist leitakse keeritsusse, tuleks selle rühma igalt sealt võtta veel 20 grammine proov ja igat proovi tuleks eraldi uurida eespool kirjeldatud meetodil.”

B. II lisa I peatüki lõiget 1 muudetakse järgmiselt.

1. Punkti b tekst asendatakse järgmisega:

“b) piisavalt varustatud lukustatav uuringuruum, mida saab pimendada, kui uuringuid tehakse trihhinellooskoobi abil;”.

2. Punkt f jäetakse välja; punktid g, h, i, j, k, l, m ja n muudetakse vastavalt punktideks f, g, h, i, j, k, l ja m.

3. Uue punkti g tekst asendatakse järgmisega:

“g) uurimisvarustuse (nt proovianumate, kompressooriumide, nugade ja kääride) puhastamiseks ja desinfitseerimiseks pesuruum, kus on:

- vee- ja kõdunemiskindel põrandakate, mida on hõlbus puhastada ja desinfitseerida,
- siledad seinad, mis on vähemalt 2 m kõrguseni kaetud heleda pestava katte või värviga.

Seda sätet ei ole vaja kohaldada I lisa II, III, IV, V või VI jaotises osutatud meetodite kasutamisel, tingimusel et laborid on varustatud suure kraanikausiga, millel on sobivad torud.”
