

A BIZOTTSÁG IRÁNYELVE**(1984. június 7.)****a harmadik országból behozott friss sertéshús trichinellavizsgálatáról szóló 77/96/EGK tanácsi irányelv mellékleteinek módosításáról**

(84/319/EGK)

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA,

tekintettel az Európai Gazdasági Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel a legutóbb a 83/91/EGK irányelvvel ⁽¹⁾ módosított, a harmadik országból behozott friss sertéshús trichinellavizsgálatáról szóló, 1976. december 21-i 77/96/EGK tanácsi irányelvre ⁽²⁾ és különösen annak 8. cikkére,

mivel a legutóbbi kutatások lehetővé tették bizonyos módszerek kidolgozását a trichina sertéshúsban történő kimutatására; mivel e módszerek megbízhatósága egészségvédelmi szempontból azonos értékű a létező módszerekével; mivel ezért megfelelő kiegészítésekkel kell ellátni a 77/96/EGK irányelv I. mellékletét;

mivel a trichina-vizsgálattal járó munka megkönnyítése céljából a harmadik országok és a tagállamok számára lehetővé kell tenni, hogy válasszanak az előírt vizsgálati módszerek közül;

mivel bizonyos technikai kiigazításokat kell végezni a jelenleg alkalmazott trichinavizsgálati módszereken, valamint azoknak a feltételeknek a vonatkozásában, amelyeknek a trichina kimutatásával foglalkozó laboratóriumoknak eleget kell tenniük;

mivel az ezen irányelvben megállapított intézkedések összhangban állnak az Állat-egészségügyi Állandó Bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT AZ IRÁNYELVET:

1. cikk

A 77/96/EGK irányelv a mellékletben megállapított módon módosul.

2. cikk

A tagállamok hatályba léptetik azokat a törvényi, rendeleti és közigazgatási rendelkezéseket, amelyek szükségesek ahhoz, hogy ennek az irányelvnek legkésőbb 1985. január 1-jéig megfeleljenek. Erről haladéktalanul tájékoztatják a Bizottságot.

3. cikk

Ennek az irányelvnek a tagállamok a címzettjei.

Kelt Brüsszelben, 1984. június 7-én.

a Bizottság részéről

Poul DALSAGER

a Bizottság tagja

⁽¹⁾ HL L 59., 1983.3.5., 34. o.

⁽²⁾ HL L 26., 1977.1.31., 67. o.

MELLÉKLET

A. Az I. melléklet a következők szerint módosul:

1. A II. pont (a) alpontjában:

- a 10. francia bekezdés helyébe a következő szöveg lép:
„– egy sztereomikroszkóp (15–40-szeres nagyítás) megfelelő fényforrással,”
- a 10. francia bekezdés helyébe a következő szöveg lép:
„– emésztőfolyadék a következő összetétellel:
10 g pepszin (80 u/g FIP: Fédération internationale de pharmacie), 5 ml HCl (legalább 37 %-os) csapvízzel 1 literre kiegészítve.”

2. A III. pont helyébe a következő szöveg lép:

„III. AZ EGYÜTTES MINTÁK MESTERSÉGES EMÉSZTÉSÉN ALAPULÓ MÓDSZER

a) **Felszerelés és reagensek**

- kés és csipesz mintagyűjtésre,
- húsdaráló 2-3 mm átmérőjű lyukakkal,
- egy 3 literes Erlenmeyer lombik gumi- vagy vattadugóval,
- egy 2 000 ml-es űrtartalmú kúpos választótölcsér,
- egy közönséges A-alapú állvány, körülbelül 28 cm hosszú, egy 80 cm-es tartóoszloppal,
- egy körülbelül 10-11 cm-es átmérőjű gyűrű, amely rögzíthető az állványhoz,
- egy bilincs lapos satupofával (23 × 40 mm), amely kettős kapoccsal rögzíthető az állványhoz,
- egy (177 mikronos lyukbősségű) szűrő, 11 cm-es külső átmérővel, réz vagy rozsdamentes acél szitaszövettel,
- egy tölsér legalább 12 cm-es belső átmérővel,
- 100 ml-es üveg mérőhengerek,
- egy sztereomikroszkóp (15–40-szeres nagyítású) megfelelő fényforrással, vagy egy trichinoszkóp vízszintes asztallappal a kompresszor számára, megfelelő fényforrással,
- a trichinoszkóp használata: egy lárvaszámláló medencét használnak, amely a következőképpen írható le:
3 mm vastag akrillemezekből álló lárvaszámláló medence, a következők szerint:
 - i. a medence alja 180 × 40 mm-es, négyzetekre beosztva;
 - ii. az oldalak 230 × 20 mm-esek;
 - iii. a vége 40 × 20 mm-es. Az alját és a végeit be kell illeszteni az oldalak közé, így képezve egy medencét végein két kis fogantyúval. Az alja felfelé néző oldalát 7-9 mm-re ki kell emelni az oldalak és a végek alkotta keretből. Az alkotórészeket az anyagnak megfelelő ragasztószerezettel kell egymáshoz rögzíteni,
- néhány 9 cm átmérőjű Petri-csésze (a sztereomikroszkóp használatához), amelyeket az aljukon 10 × 10 mm-es négyzetekből álló vizsgálati területekre osztottak egy hegyes eszközzel,
- néhány 10 literes tárolóedény, amelyeket a szennyezés eltávolításakor, például a készülék formalinos kezelésekor, valamint pozitív eredmények esetén a fennmaradó emésztőfolyadék tárolására használnak,
- tömény (37 %-os) sósav,
- pepszin koncentrációja 1:10 000 NF (US National Formulary)
amely megfelel 1:12 500 BP-nek (British Pharmacopoea),
és 2 000 FIP -nek (Fédération Internationale de Pharmacie),
- néhány tálca, amelyeken elfér 50 darab, egyenként kb. 2 g-os minta,
- egy 0,1 g pontosságú mérleg.

b) Mintagyűjtés

1. Egész testek esetén egy körülbelül 2 g-os mintát kell venni a rekeszoszlopból az inas részbe átmenő részből. A rekeszoszlopok hiánya esetén egy ugyanekkora mintát kell venni a rekeszizom bordai vagy szegycsonti részéből, a rágóizomból vagy a hasizmokból.
2. Húsdarabok esetén legalább 2 g, kevés zsírt tartalmazó vázizom-mintát kell venni, ahol lehetséges, csontok vagy inak mellől.

c) Módszer**1. i. Teljes egyesített minták (100 minta egyszerre)**

Körülbelül 1 g mintát vesznek a sertésekből kinyert 100 egyedi minta mindegyikéből. Az egyesített mintát egyszer átdarálják.

A ledarált húst behelyezik egy 3 literes Erlenmeyer-lombikba 7 g pepszinnel, körülbelül 2 liter kb. 40-41 °C-ra melegített csapvízzel és 25 ml koncentrált sósavval együtt. A keveréket felrázzák, hogy a pepszin feloldódjon.

Az oldat pH-ja körülbelül 1,5-2.

- Az emésztéshez az Erlenmeyer-lombikot 40-41 °C-on körülbelül négy órán át inkubálják. A lombikot az inkubáció alatt rendszeresen felrázzák, legalább óránként kétszer.
- Az emésztett oldatot egy szűrőn átszűrik egy 2 literes kúpos választótölcsérbe, és hagyják állni legalább egy óráig.
- Összesen körülbelül 45 ml-nyi mennyiséget kell beönteni egy mérőhengerbe, és ezt kell elosztani a három Petri-csészébe, amelyeknek az alján 1 cm-es négyzetek vannak kijelölve, 15 ml-t töltve minden egyes csészébe.
- Mindegyik Petri-csészét alaposan átvizsgálják a sztereomikroszkóp alatt trichina-lárvák után.
- Amennyiben lárvaszámláló medencét használnak, a 45 ml-t elosztják két lárvaszámláló medence között és megvizsgálják a trichinoszkóp alatt.

A lárvák felismerhető organizmusok formájában jelennek meg az üledékben, és gyakran, amikor a víz kézmeleg, meg lehet figyelni a »spirális alakzatok« forgó és kitekeredő mozgását.

- Az emésztett anyagokat elkészültük után azonnal meg kell vizsgálni. Semmilyen körülmények között nem szabad a vizsgálatot másnapra halasztani.

Ha az emésztett anyagok nem eléggé tiszták, vagy az elkészítésüket követő 30 percen belül nem vizsgálják azokat, a következőképpen kell megtisztítani azokat. Az utolsó 45 ml-es mintát beöntik egy mérőhengerbe és 10 percig hagyják ülepedni. Ahogy letelt ez az idő, a felülúszó folyadék 30 ml-ét leszívják és a maradék 15 ml-t csapvízzel kiegészítik 45 ml-re. Újabb 10 perces ülepitési idő után a felülúszó folyadék 30 ml-ét leszívják és a maradék 15 ml-t vizsgálat céljából kiöntik egy Petri-csészébe vagy lárvaszámláló medencébe. A mérőhengert 10 ml csapvízzel ki kell mosni, és az így kapott folyadékot hozzá kell adni a Petri-csészében vagy a lárvaszámláló medencében lévő vizsgálandó mintához.

ii. A kevesebb, mint 100 mintából készült egyesített minták

Legfeljebb 15 egyedi mintát lehet hozzáadni egy 100 mintából álló egyesített mintához és együtt vizsgálni ezekkel a mintákkal. Ha több, mint 15 és kevesebb, mint 100 minta kerül vizsgálatra, az emésztőfolyadék mennyiségét arányosan csökkenteni kell.

2. Az együttes minták vizsgálatakor kapott pozitív vagy kétes eredmény esetén minden egyes sertésből egy újabb 20 g-os mintát kell venni a fenti b) pontnak megfelelően. Az öt sertésből származó egyenként 20 g-os mintákat egyesíteni kell és a fent leírt módszer szerint meg kell vizsgálni. Ily módon 20, egyenként 5 sertésből álló csoport mintái kerülnek vizsgálatra. Ha az öt sertésből származó egyesített mintában kimutatják a trichinákat, további 20 g-os mintákat kell begyűjteni a csoport egyes sertéseiből, és mindegyiket külön meg kell vizsgálni a fent ismertetett módszer szerint."

3. A szöveg a következő IV., V. és VI. pontokkal egészül ki:

„IV. AZ EGYESÍTETT MINTÁK MECHANIKAILAG TÁMOGATOTT EMÉSZTÉSES MÓDSZERE/ÜLEPÍTÉSES TECHNIKA

a) **Felszerelés és reagensek**

- kés vagy olló a minták darabolására,
- tálcák, amelyeken 50 négyzet van kijelölve a kb. 2 g-os húsminták elhelyezésére,
- egy Stomacher Lab keverőgép, 3 500 Thermo modell,
- műanyag zacskók a Stomacher Lab keverőgéphez,
- 2 liter űrtartalmú kúpos választőtölcsérek, lehetőség szerint teflon biztonsági záródugóval,
- állványok, gyűrűk és bilincsek,
- szűrők 177 mikronos lyukbősséggel, 11 cm-es külső átmérővel, rozsdamentes acél szitaszövettel,
- legalább 12 cm-es belső átmérőjű tölcsérek, amelyek megtartják a szűrőket,
- 100 ml-es üveg mérőhengerek,
- egy 25 ml-es adagolóautomata,
- 3 literes űrtartalmú főzőpoharak,
- kanál vagy üvegbot az emésztőfolyadék keverésére a főzőpohárban,
- egy műanyag fecskendő és cső a leszívásra,
- egy 6 g kimérésére alkalmas mérőkanál,
- az 1-100 °C hőmérséklettartományban $\pm 0,5$ °C-os pontossággal működő hőmérő,
- egy rázókészülék, pl. egy villanyborotva fej nélkül,
- egy relé, amely percenként kapcsol ki és be,
- egy trichinoszkóp vízszintes asztallappal vagy egy sztereomikroszkóp megfelelő fényforrással,
- lárvaszámláló medence (a trichinoszkóp használatához): 3 mm vastag akrillemezekből álló lárvaszámláló medence, a következők szerint:
 - i. a medence alja 180 × 40 mm-es, négyzetekre beosztva;
 - ii. az oldalak 230 × 20 mm-esek;
 - iii. a vége 40 × 20 mm-es. Az alját és a végeit be kell illeszteni az oldalak közé, így képezve egy medencét, végein két kis fogantyúval. Az alja felfelé néző oldalát 7-9 mm-re ki kell emelni az oldalak és a végek alkotta keretből. Az alkotórészeket az anyagnak megfelelő ragasztószerral kell egymáshoz rögzíteni,
- néhány 9 cm átmérőjű Petri-csésze (a sztereomikroszkóp használatához), amelyeket az aljukon 10 × 10 mm-es négyzetekből álló vizsgálati területekre osztottak egy hegyes eszközzel,
- 17,5 %-os sósavoldat,
- pepszin koncentrációja 1:10 000 NF (US National Formulary)
amely megfelel 1:12 500 BP-nek (British Pharmacopoea),
és 2 000 FIP -nek (Fédération Internationale de Pharmacie),
- néhány 10 literes tárolóedény, amelyeket a szennyezés eltávolításakor, például a készülék formalinos kezelésekor, valamint pozitív eredmények esetén a fennmaradó emésztőfolyadék tárolására használnak,
- egy 0,1 g pontosságú mérleg.

b) Mintagyűjtés

1. Egész testek esetén egy körülbelül 2 g-os mintát kell venni a rekeszoszlopból az inas részbe átmenő részből. A rekeszoszlopok hiánya esetén egy ugyanekkora mintát kell venni a rekeszizom bordai vagy szegycsonti részéből, a rágóizomból vagy a hasizmokból.
2. Húsdarabok esetén legalább 2 g, kevés zsírt tartalmazó vázizom-mintát kell venni, amennyiben lehetséges, csontok vagy inak mellől.

c) Módszer**1. Emésztési eljárás****i. Teljes egyesített minták (100 minta egyszerre)**

- A Stomacher Lab 3 500-as keverőgépet kétrétegű műanyag zacskóval kell felszerelni és a hőmérséklet-szabályzót 40-41 °C-ra kell beállítani.
- Másfél liter, kb. 32-35 °C-ra előmelegített vizet öntenek a belső műanyag zacskóba, majd a vizet 40-41 °C-ra felmelegítik.
- 25 ml 17,5 %-os sósavat adnak ezután a Stomacherben lévő vízhez.
- 100 darab, a b) pontnak megfelelően az egyedi mintákból vett, egyenként körülbelül 1 g tömegű mintát (25-30 °C-on) kell a gépbe helyezni.
- Végül 6 g pepszint adnak hozzá. A hozzáadási sorrendet szigorúan be kell tartani, hogy elkerülhető legyen a pepszin lebomlása.
- Ezután a Stomacherrel 25 percen át szétzúzzák a zacskó tartalmát.
- A műanyag zacskót kivesszük a Stomacherből, majd az emésztőfolyadékot egy szűrőn keresztül átszűrjük egy 3 literes főzőpohárba.
- A műanyag zacskót körülbelül 100 ml vízzel kimossák, amellyel azután leöblítik a szűrőt, és végül hozzáadják a főzőpohárban lévő szűrlethez.

Legfeljebb 15 egyedi mintát lehet hozzáadni egy 100 mintából álló egyesített mintához és együtt vizsgálni ezekkel a mintákkal;

ii. A kevesebb, mint 100 mintából készült egyesített minták

- A Stomacher Lab 3 500-as keverőgépet kétrétegű műanyag zacskóval kell felszerelni és a hőmérséklet-szabályzót 40-41 °C-ra kell beállítani.
- Az emésztőfolyadékot kb. másfél liter víz és 25 ml 17,5 %-os sósav összekeverésével készítik. Ezután 6 g pepszint adnak hozzá és az egészet 40-41 °C-on elkeverni. Ezt a beadási sorrendet szigorúan be kell tartani, hogy elkerülhető legyen a pepszin lebomlása.
- Az emésztőfolyadékból lemérnek annyiszor 15 ml-t, ahány gramm a minta tömege (pl. 30 mintához szükséges mennyiség 30 × 15 ml, azaz 450 ml), és beleöntik a belső műanyag zacskóba az összes egyedi mintából a b) pont szerint kinyert körülbelül 1 g-os mintákkal együtt (25-30 °C-on).
- Annyi, körülbelül 41 °C-os vizet öntenek a külső zacskóba, hogy a két zacskóban lévő összes víz együttes térfogata másfél liter legyen.
- Ezután a Stomacherrel 25 percen át szétzúzzák a zacskó tartalmát.
- A műanyag zacskót kivesszük a Stomacherből, majd az emésztőfolyadékot egy szűrőn keresztül átszűrjük egy 3 literes főzőpohárba.
- A műanyag zacskót körülbelül 100 ml vízzel kimossák, amellyel azután leöblítik a szűrőt, és végül hozzáadják a főzőpohárban lévő szűrlethez.

2. A lárvák kinyerése ülepítéssel

- Jeget (300-400 g-os jégpelyhet, lemezes vagy tört jeget) adnak az emésztőfolyadékhoz, hogy térfogata legfeljebb kb. 2 liter legyen. Az emésztőfolyadékot azután addig keverik, amíg a jég el nem olvad.

Kisebb egyesített minták esetén (lásd 1. pont ii. alpontja), a jég mennyiségét arányosan kell csökkenteni.

- A lehűtött emésztőfolyadékot beleöntik egy 2 literes választótölcsérbe, amely egy külön rögzítő elemmel felerősített rázókészülékkel van felszerelve.

- Ülepítés 30 percig, amíg az ülepítő tölcser megszakításokkal vibrál, pl. egy egyperces rezgést követően egy percig nem mozog.
- Az üledék 60 ml-es mintáját 30 perc eltelte után gyorsan kiöntik egy 100 ml-es mérőhengerbe. (A lombikot használat után mosószeres oldattal kiöblítik).
- A 60 ml-es mintát legalább 10 percig hagyják állni, ezután a felülúszó anyagot leszívják, a lárvák jelenlétének vizsgálatára visszahagyva egy 15 ml-es mennyiséget.
- A leszíváshoz egy műanyag csővel ellátott eldobható fecskendő lehet használni.
A cső olyan hosszú legyen, hogy amikor a fecskendő karimái a henger peremén fekszenek, 15 ml maradjon a mérőhengerben.
- A fennmaradó 15 ml-t átöntik a lárvaszámláló medencébe vagy két Petri-csészébe, és megvizsgálják trichinoszkóp vagy sztereomikroszkóp alatt.
- Az emésztett anyagokat elkészültük után azonnal meg kell vizsgálni. Semmilyen körülmények között nem szabad a vizsgálatot másnapra halasztani.

Ha az emésztett anyagok nem eléggé tiszták, vagy az elkészítésüket követő 30 percen belül nem vizsgálják azokat, a következőképpen kell megtisztítani azokat. Az utolsó 60 ml-es mintát beöntik egy mérőhengerbe és 10 percig hagyják ülepedni. Ahogy letelt ez az idő, a felülúszó folyadék 30 ml-ét leszívják és a maradék 15 ml-t csapvízzel kiegészítik 45 ml-re. Újabb 10 perces ülepítési idő után a felülúszó folyadék 30 ml-ét leszívják és a maradék 15 ml-t vizsgálat céljából kiöntik egy Petri-csészébe vagy lárvaszámláló medencébe. A mérőhengert 10 ml csapvízzel ki kell mosni, és az így kapott folyadékot hozzá kell adni a Petri-csészében vagy a lárvaszámláló medencében lévő vizsgálandó mintához.

3. Az együttes minták vizsgálatakor kapott pozitív vagy kétes eredmény esetén minden egyes sertésből egy újabb 20 g-os mintát kell venni a fenti b) pontnak megfelelően. Az öt sertésből származó egyenként 20 g-os mintákat egyesíteni kell és a fent leírt módszer szerint meg kell vizsgálni. Ily módon 20, egyenként 5 sertésből álló csoport mintái kerülnek vizsgálatra. Ha az öt sertésből származó egyesített mintában kimutatják a trichinákat, további 20 g-os mintákat kell begyűjteni a csoport egyes sertéseiből, és mindegyiket külön meg kell vizsgálni a fent ismertetett módszer szerint.

V. AZ EGYESÍTETT MINTÁK MECHANIKAILAG TÁMOGATOTT EMÉSZTÉSES MÓDSZERE/»SZŰRÉSES IZOLÁCIÓS« TECHNIKA

a) Felszerelés és reagensek

A IV. módszer a) pontjában ismertetettek.

A fentiekén kívül szükséges kiegészítő eszközök:

- 1 literes Gelman-lombik, szűrőtartóval kiegészítve (az átmérő 45 mm),
- szűrőkorongok; a szűrőkorongok a következőkből állnak:
egy kör alakú rozsdamentes acélháló 35 mikronos lyukbősséggel (a korong átmérője 45 mm),
két, 1 mm vastag gumiból készült gumigyűrű (a külső átmérő 45 mm, a belső átmérő 38 mm),
a kör alakú acélháló a két gumigyűrű közé van elhelyezve és a kétféle anyag kötésére alkalmas kétkomponensű ragasztóval rögzítve,
- egy 3 literes űrtartalmú Erlenmeyer-lombik, az oldalán szívócsővel,
- egy szűrőkosaras szivattyú,
- legalább 80 ml űrtartalmú műanyag zacskók,
- a műanyag zacskók hegesztésére alkalmas berendezés,
- renniláz, amelynek koncentrációja grammonként 1:150 000 soxhlet egység.

b) Mintagyűjtés

Lásd a IV. módszer b) pontjában ismertetett módszernél.

c) **Módszer**1. *Emésztési eljárás*

- i. Teljes egyesített minták (100 minta egyszerre)
Lásd a IV. módszer c) pontjának 1.i) alpontja alatt ismertetett módszernél.
- ii. A kevesebb, mint 100 mintából készült egyesített minták
Lásd a IV. módszer c) pontjának 1.ii) alpontja alatt ismertetett módszert.

2. *A lárvák kinyerése szűréssel*

- Jeget (300-400 g-os jégpelyhet, lemezes vagy tört jeget) adnak az emésztőfolyadékhoz, hogy térfogata legfeljebb kb. 2 liter legyen.
Kisebb egyesített minták esetén a jég mennyiségét arányosan kell csökkenteni.
- Az emésztőfolyadékot azután addig keverik, amíg a jég el nem olvad. A lehűtött emésztőfolyadékot ezután legalább három percig hagyják állni, hogy a lárvák kitekeredhessenek.
- A szűrőtartóval és szűrőkoronggal ellátott Gelman-lombikot az Erlenmeyer-lombikra helyezik, amely egy szűrőkosaras szivattyúhoz van kötve.
- Az emésztőfolyadékot átöntik a Gelman-lombikba és leszűrik. A szűrés vége felé az emésztőfolyadék szűrőn keresztüli átáramlása szűrőkosaras szivattyúval végzett szívással meggyorsítható. Mielőtt a szűrő kiszárad – azaz amikor 2-5 ml folyadék marad a tölcserben –, a szívást abba kell hagyni.
- Amikor az összes emésztőfolyadékot leszűrték, a szűrőkorongot eltávolítják, és 15-20 ml renniláz oldattal együtt behelyezik egy 80 ml űrtartalmú műanyag zacskóba. A rennilázoldatot úgy készítik, hogy 2 g rennilázt adnak 100 ml csapvízhez.
- A műanyag zacskót két rétegben lehegesztik, és a belső és a külső zacskó közé helyezik a Stomacherbe.
- A Stomachert azután hagyják, hogy három percig zúzza a tartalmát, pl. amikor teljes vagy nem teljes egyesített mintát dolgoz fel.
- A szűrőkorongot és a rennilázoldatot tartalmazó műanyag zacskót három perc elteltével kivesszük a Stomacherből, és felnyitják ollóval. A folyékony tartalmat átöntik egy lárvaszámláló medencébe vagy egy Petri-csészébe. A zacskót kimossák 5-10 ml vízzel, amelyet azután trichinoszkópos vizsgálatra át kell önteni a lárvaszámláló medencébe vagy sztereomikroszkópos vizsgálatra egy Petri-csészébe.
- Az emésztett anyagokat elkészültük után azonnal meg kell vizsgálni. Semmilyen körülmények között nem szabad a vizsgálatot másnapra halasztani.

Megjegyzés

A szűrőkorongokat csak akkor lehet felhasználni, ha teljesen tiszták. A nem tiszta korongokat soha nem szabad hagyni kiszáradni.

A szűrőkorongokat úgy lehet megtisztítani, hogy egy éjszakára rennilázoldatban hagyják ázni. Használat előtt a Stomacherben át kell azokat mosni friss rennilázoldattal.

3. Az együttes minták vizsgálatokor kapott pozitív vagy kétes eredmény esetén minden egyes sertésből egy újabb 20 g-os mintát kell venni a fenti b) pontnak megfelelően. Az öt sertésből származó egyenként 20 g-os mintákat egyesíteni kell és a fent leírt módszer szerint meg kell vizsgálni. Ily módon 20, egyenként 5 sertésből álló csoport mintái kerülnek vizsgálatra. Ha az öt sertésből származó egyesített mintában kimutatják a trichinákat, további 20 g-os mintákat kell begyűjteni a csoport egyes sertéseiből, és mindegyiket külön meg kell vizsgálni a fent ismertetett módszer szerint.

VI. MÁGNESES KEVERÉSI MÓDSZER EGYESÍTETT MINTÁK EMÉSZTÉSÉRE

a) **Felszerelés és reagensek**

- kés és csipesz mintagyűjtésre,
- tálcák, amelyeken 50 négyzet van kijelölve a kb. 2 g-os húsminták elhelyezésére,
- egy Moulinette keverőgép,
- mágneses keverők szabályozott hőmérsékletű főzőlappal és teflonbevonatú, körülbelül 5 cm hosszú keverőrudakkal

- 2 liter űrtartalmú kúpos választótölcsérek,
- állványok, gyűrűk és bilincsek,
- szűrők 177 mikronos lyukbősséggel, 11 cm-es külső átmérővel, rozsdamentes acél szítaszövevel,
- legalább 12 cm-es belső átmérőjű tölcsérek, amelyek megtartják a szűrőket,
- 3 liter űrtartalmú főzőpohár,
- körülbelül 50 ml-es űrtartalmú mérőhengerek vagy centrifugakémcsovok,
- egy trichinoszkóp vízszintes asztallappal vagy egy sztereomikroszkóp megfelelő fényforrással,
- lárvaszámláló medence (a trichinoszkóp használatához): 3 mm vastag akrillemezekből álló lárvaszámláló medence, a következők szerint:
 - i. a medence alja 180 × 40 mm-es, négyzetekre beosztva;
 - ii. az oldalak 230 × 20 mm-esek;
 - iii. a vége 40 × 20 mm-es. Az alját és a végeit be kell illeszteni az oldalak közé, így képezve egy medencét, végein két kis fogantyúval. Az alja felfelé néző oldalát 7-9 mm-re ki kell emelni az oldalak és a végek alkotta keretből. Az alkotórészeket az anyagnak megfelelő ragasztószerrel kell egymáshoz rögzíteni,
- néhány 9 cm átmérőjű Petri-csésze (a sztereomikroszkóp használatához), amelyeket az aljukon 10 × 10 mm-es négyzetekből álló vizsgálati területekre osztottak egy hegyes eszközzel,
- alufólia,
- 25 %-os sósav,
- pepszin koncentrációja 1:10 000 NF (US National Formulary)
amely megfelel 1:12 500 BP-nek (British Pharmacopoea),
és 2 000 FIP -nek (Fédération Internationale de Pharmacie),
- 46-48 °C-osra melegített csapvíz,
- néhány 10 literes tárolóedény, amelyeket a szennyezés eltávolításakor, például a készülék formális kezeléskor, valamint pozitív eredmények esetén a fennmaradó emésztőfolyadék tárolására használnak,
- egy 0,1 g pontosságú mérleg,

b) Mintagyűjtés

1. Egész testek esetén egy körülbelül 2 g-os mintát kell venni a rekeszoszlopból az inas részbe átmenő részből. A rekeszoszlopok hiánya esetén egy ugyanekkora mintát kell venni a rekeszizom bordái vagy szegycsonti részéből, a rágóizomból vagy a hasizmokból.
2. Húsdarabok esetén legalább 2 g, kevés zsírt tartalmazó vázizommintát kell venni, amennyiben lehetséges, csontok vagy inak mellől.

c) Módszer

1. i. *Teljes egyesített minták* (100 minta egyszerre)
 - Az összes egyedi mintából a b) pont szerint vett 100 darab, egyenként körülbelül 1 g-os mintát fel kell aprítani a Moulinette keverőgépben. A keverőgépet háromszor-négyszer kell beindítani, körülbelül egy másodpercre minden alkalommal.
 - Az aprított húst behelyezik egy 3 literes főzőpohárba, és lepermetezik 10 g pepszinnel. 2 liter 46-48 °C-ra előmelegített csapvizet öntenek a főzőpohárba, 16 ml sósavval együtt.
 - A Moulinette keverőgép daráló fémbetéjét többször bemártják a főzőpohárban lévő emésztőfolyadékba, hogy az összes még odatapadt húsdarabot el lehessen távolítani róla.
 - A keverőrudakat behelyezik a főzőpohárba, a főzőpoharat pedig befedik alufóliával.

- A főzőpoharat a mágneses keverőgép előmelegített főzőlapjára helyezik, és beindítják a keverőgépet. Mielőtt azonban elkezdenénk a keverési műveletet, a mágneses keverőgépet úgy kell beállítani, hogy az a művelet teljes ideje alatt 44-46 °C-os állandó hőmérsékletet tartson fenn. A keverési művelet alatt az emésztőfolyadéknek megfelelően nagy sebességgel kell forognia, hogy mély örvény alakulhasson ki anélkül, hogy a folyadék szétloccsanna
- Az emésztőfolyadékot 30 percig keverik, a végén kikapcsolják a keverőgépet, és az emésztőfolyadékot a szűrőn keresztül átöntik az ülepítőlombikba.
- Az emésztőfolyadékot 30 percig hagyják állni a lombikban.
- A 30 perc eltelte után az emésztőfolyadék egy 40 ml-es mintáját gyorsan beöntik egy mérőhengerbe vagy a centrifugakémcsőbe.
- Ezt a 40 ml-es mintát 10 percig hagyják állni, majd a felülúszó 30 ml-t leszívják, visszahagyva egy 10 ml-es mennyiséget.
- Az üledék fennmaradó 10 ml-es mintáját beöntik egy lárvaszámláló medencébe vagy egy Petri-csészébe.
- Ezután a hengert vagy centrifugakémcsövet kiöblítik kb. 10 ml csapvízzel, amelyet azután hozzáadnak a lárvaszámláló medencében vagy a Petri-csészében található mintához. Ezt követően a mintát trichinoszkóp vagy sztereomikroszkóp alatt megvizsgálják.
- Az emésztett anyagokat elkészültük után azonnal meg kell vizsgálni. Semmilyen körülmények között nem szabad a vizsgálatot másnapra halasztani.

Ha az emésztett anyagokat az elkészítésüket követő 30 percen belül nem vizsgálják meg, a következőképpen kell megtisztítani azokat. Az utolsó, kb. 40 ml-es mintát beöntik egy mérőhengerbe és 10 percig állni hagyják, majd a felülúszó folyadék 30 ml-ét leszívják, 10 ml-t visszahagyva. Ezt a mennyiséget 40 ml-re kiegészítik csapvízzel. Újabb 10 perces ülepítési idő után azután leszívják a felülúszó folyadék 30 ml-ét és a maradék 15 ml-t vizsgálat céljából kiöntik egy Petri-csészébe vagy lárvaszámláló medencébe. A mérőhengert 10 ml csapvízzel ki kell mosni, és az így kapott folyadékot hozzá kell adni a Petri-csészében vagy a lárvaszámláló medencében lévő vizsgálandó mintához.

Ha az üledék a vizsgálatra nem elég tiszta, a mintát be kell önteni egy mérőhengerbe és csapvízzel ki kell egészíteni 40 ml-re, majd a fent ismertetett eljárást kell követni.

ii. *A kevesebb, mint 100 mintából készült egyesített minták*

Ha szükséges, legfeljebb 15 darab, egyenként 1 g-os mintát lehet hozzáadni egy 100 mintából álló egyesített mintához, és együtt vizsgálni ezekkel a mintákkal a c) pont 1.i) alpontjának értelmében. Teljes egyesített minta formájában több mint 15 mintát kell megvizsgálni. A legfeljebb 50 mintából készült egyesített minták esetében az emésztőfolyadék mennyiségét 1 literre lehet csökkenteni.

2. Az együttes minták vizsgálatakor kapott pozitív vagy kétes eredmény esetén minden egyes sertésből egy újabb 20 g-os mintát kell venni a fenti b) pontnak megfelelően. Az öt sertésből származó egyenként 20 g-os mintákat egyesíteni kell és a fent leírt módszer szerint meg kell vizsgálni. Ily módon 20, egyenként 5 sertésből álló csoport mintái kerülnek vizsgálatra. Ha az öt sertésből származó egyesített mintában kimutatják a trichinákat, további 20 g-os mintákat kell begyűjteni a csoport egyes sertéseiből, és mindegyiket külön meg kell vizsgálni a fent ismertetett módszer szerint."

B. A II. melléklet I. fejezetének (1) bekezdése a következőképpen módosul:

1. A b) pont szövegének helyébe a következő szöveg lép:

„b) egy megfelelően felszerelt zárható vizsgálati helyiség, amely besötétíthető a trichinoszkópos vizsgálat ideje alatt;”

2. Az f) pontot törölni kell; a g), h), i), j), k), l), m) és n) pontokból a sorrendnek megfelelően f), g), h), i), j), k), l) és m) pontok lesznek.

3. Az új g) pont szövege helyébe a következő szöveg lép:

„g) egy mosogatóhelyiség a vizsgálati eszközök (pl. mintatároló-edények, kompresszorok, kések és ollók) tisztítására és fertőtlenítésére, a következőkkel:

- vízálló padlóburkolattal, amely nem korhad, könnyű tisztítani és fertőtleníteni,
- sima falakkal, amelyek legalább 2 m-es magasságig be vannak vonva mosható, világos színű burkolattal vagy festéssel.

Ezt a rendelkezést nem kell alkalmazni, ha az I. melléklet II., III., IV., V., VI. pontjai alatt tárgyalt módszereket használják, feltéve, hogy a laboratóriumok nagyméretű, megfelelően kialakított lefolyóval vannak ellátva.”
