

31984L0319

L 167/34

DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH

27.6.1984

DYREKTYWA KOMISJI**z dnia 7 czerwca 1984 r.****zmieniająca załączniki do dyrektywy Rady 77/96/EWG z dnia 21 grudnia 1976 r. w sprawie badań świeżego mięsa wieprzowego na obecność włosieni (*trichinella spiralis*) przed przywozem z państw trzecich**

(84/319/EWG)

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Europejską Wspólnotę Gospodarczą,

uwzględniając dyrektywę Rady 77/96/EWG z dnia 21 grudnia 1976 r. w sprawie badań świeżego mięsa wieprzowego na obecność włosieni (*trichinella spiralis*) przed przywozem z państw trzecich⁽¹⁾, ostatnio zmienioną dyrektywą 83/91/EWG⁽²⁾, w szczególności jej art. 8,

a także mając na uwadze, co następuje:

ostatnie badania umożliwiły opracowanie pewnych metod wykrywania włosieni w mięsie wieprzowym; wiarygodność tych metod z punktu widzenia ochrony zdrowia jest równoważna metodom stosowanym dotychczas; w związku z tym do załącznika I do dyrektywy 77/96/EWG należy wprowadzić właściwe uzupełnienia;

w celu ułatwienia przeprowadzania badań na obecność włosieni państwom trzecim oraz Państwom Członkowskim należy umożliwić dokonanie wyboru między przewidzianymi metodami badań;

należy przeprowadzić niektóre dostosowania techniczne obecnie stosowanych metod badań na obecność włosieni oraz w zakresie warunków, jakie muszą zostać spełnione przez laboratoria zajmujące się wykrywaniem włosieni;

środki ustanowione w niniejszej dyrektywie są zgodne z opinią Stałego Komitetu Weterynaryjnego,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DYREKTYWĘ:

Artykuł 1

W dyrektywie 77/96/EWG wprowadza się zmiany określone w Załączniku.

Artykuł 2

Państwa Członkowskie wprowadzą w życie przepisy ustawowe, wykonawcze i administracyjne niezbędne do wykonania niniejszej dyrektywy nie później niż do dnia 1 stycznia 1985 r. i niezwłocznie powiadomią o tym Komisję.

Artykuł 3

Niniejsza dyrektywa skierowana jest do Państw Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 7 czerwca 1984 r.

W imieniu Komisji

Poul DALSAGER

Członek Komisji

⁽¹⁾ Dz.U. L 26 z 31.1.1977, str. 67.⁽²⁾ Dz.U. L 59 z 5.3.1983, str. 34.

ZAŁĄCZNIK

A. W załączniku I wprowadza się następujące zmiany:

1. W punkcie II lit. a):

— tiret dziesiąte otrzymuje brzmienie:

„— stereomikroskop (powiększenie 15-40 x) z odpowiednim źródłem światła,”

— tiret ostatnie otrzymuje brzmienie:

„— płyn trawiący sporządzony w następujący sposób:

10 g pepsyny (80 u/g FIP: Międzynarodowa Federacja Farmacji), 5 ml HCl (przynajmniej 37 %) dopełnione do objętości litra wodą.”

2. Punkt III otrzymuje brzmienie:

„III. METODA SZTUCZNEGO WYTRAWIANIA PRÓBEK ZBIORCZYCH

a) **Sprzęt i odczynniki**

- nóż i pinceta do pobierania próbek,
- rozdrabniacz mięsa z otworami o średnicy 2–3 mm,
- kolba Erlenmeyera o pojemności 3 litrów z korkiem gumowym lub bawełniano-węglanym,
- rozdzielacz stożkowy oddzielający o pojemności 2 000 ml,
- zwykły statyw o podstawie A, o około 28 cm długości z 80 cm korpusem,
- pierścień o średnicy około 10–11 cm przymocowany do statywu,
- uchwyt z płaskimi zaciskami (23 × 40 mm), przymocowany do statywu z podwójną złączką,
- sito (o oczkach 177 mikronów), o zewnętrznej średnicy 11 cm z siatką mosiężną lub ze stali nierdzewnej,
- lejek z wewnętrzną średnicą nie mniejszą niż 12 cm,
- kalibrowane 100 ml szklane cylindry,
- stereomikroskop (powiększenie 15-40 x) z odpowiednim źródłem światła lub trychinoskop ze stołem poziomym dla kompresora z odpowiednim źródłem światła,
- w przypadku stosowania trychinoskopu: rynienka do liczenia larw, którą można opisać w następujący sposób:

rynienka do liczenia larw wykonana z akrylowych płytek o grubości 3 mm w sposób następujący:

 - i) dno rynienki, podzielone na czworokątne pola, o wymiarach 180 x 40 mm;
 - ii) boki o wymiarach 230 × 20 mm;
 - iii) szczyty o wymiarach 40 × 20 mm. Dno i szczyty rynienki umieszcza się między jej bokami, tworząc w ten sposób dwa uchwyty na końcach. Dno basenu podwyższa się 7–9 mm od podstawy ramy utworzonej przez boki i szczyty. Części basenu zespała się klejem odpowiednim dla tworzywa,
- w przypadku używania stereomikroskopu kilka płytek Petriego o średnicy 9 cm, podzielonych od spodu na pola 10 × 10 mm przy użyciu wskazanego instrumentu,
- kilka zbiorników 10-litrowych do użytku podczas stosowania dekontaminacji, takiej jak obróbka formalinowa, do sprzętu, i do pozostałego płynu wytrawiającego w wypadku wyniku pozytywnego,
- kwas solny o stężeniu 37 %,
- pepsyna o mocy: 1 : 10 000 NF (Narodowy Receptariusz USA)
odpowiadającej 1 : 12 500 BP (Farmakopea Brytyjska)
lub 2 000 FIP (Międzynarodowa Federacja Farmacji),
- tace odpowiednie do zgromadzenia 50 dwugramowych próbek,
- waga o dokładności do 0,1 g.

b) Pobieranie próbek

1. W przypadku całych tusz pobiera się próbę o wadze około 2 g z odnog przepony w przejściu w część ścięgniętą. W przypadku braku odnog przepony pobiera się próbkę tego samego rozmiaru z części żebrowej lub mostkowej przepony, z mięśni okołozęzkowych lub zuchwowych lub z mięśni brzusznych.
2. W przypadku kawałków mięsa pobiera się próbkę o wadze około 2 g z mięśni szkieletowych, o możliwie najmniejszej zawartości tłuszczu, w miarę możliwości z miejsca w pobliżu kości lub ścięgien.

c) Metoda

1. i) *Tworzenie próby zbiorczej* (jednoczesne badanie 100 próbek)

Pobiera się próbkę o wadze około 1 g z każdej z pojedynczych próbek pobranych z mięsa 100 świń. Próba zbiorcza jest następnie jednorazowo umieszczana w rozdrabniaczu mięsa.

Rozdrobnione mięso umieszcza się w trzylitrowej kolbie Erlenmeyera razem z 7 g pepsyny, 2 litrami wody podgrzanej do temperatury około 40–41 °C i 25 ml stężonego kwasu solnego. Mieszaną wstrząsa się w celu rozpuszczenia pepsyny.

pH roztworu powinno wynosić 1,5–2,0.

— Dla ułatwienia wytrawienia kolbę Erlenmeyera umieszcza się w cieplarni w temperaturze 40–41 °C na około 4 godziny. W tym czasie kolbę regularnie wstrząsa się co najmniej 2 razy na godzinę.

— Roztwór po wytrawieniu przefiltrowuje się przez sito do rozdzielacza o pojemności 2 litrów i pozostawia na stojaku przynajmniej przez 1 godzinę.

— Uzyskany płyn o objętości całkowitej około 45 ml przelewa się do kalibrowanego cylindra, a następnie rozdziela się na trzy płytki Petriego, po 15 ml na każdą płytkę, której dno jest podzielone na kwadraciki.

— Każdą płytkę Petriego bada się starannie pod stereomikroskopem na obecność larw włośni.

— Przy stosowaniu rynienek do liczenia larw uzyskany płyn o objętości 45 ml należy rozdzielić na dwie rynienki do liczenia larw i bada się go pod trychinoskopem.

Larwy pojawiają się jako identyfikowalne organizmy w osadzie oraz często, gdy woda jest letnia, można zaobserwować zwijające i rozwijające ruchy »spirali«.

— Płyn bada się niezwłocznie po jego uzyskaniu. W żadnym przypadku badania nie można odkładać na dzień następny.

Jeżeli płyn jest mętny lub nie został zbadany w czasie 30 minut od jego uzyskania, oczyszcza się go w następujący sposób. Ostateczną próbkę o objętości 45 ml przelewa się do kalibrowanego cylindra i pozostawia na 10 minut. Po upływie tego czasu 30 ml supernatatu odejmuje się za pomocą metody zasysania, a pozostałe 15 ml uzupełnia się do 45 ml wodą. Po upływie kolejnych 10 minut ponownie 30 ml supernatatu usuwa się poprzez zasysanie, a pozostałe 15 ml przelewa się na płytkę Petriego lub na rynienkę do liczenia larw w celu zbadania. Kalibrowany cylinder opłukuje się 10 ml wody, a następnie przelewa się ją na płytkę Petriego lub na rynienkę do liczenia larw w celu zbadania.

- ii) *Próby zbiorcze z mniej niż 100 próbek*

Jeżeli jest mniej niż 15 pojedynczych próbek, mogą być one dodane do całkowitej próby zbiorczej 100 próbek i badane razem z tymi próbkami. Jeżeli badaniu poddaje się więcej niż 15, a mniej niż 100 próbek, objętość płynu wytrawiającego zmniejsza się proporcjonalnie.

2. W przypadku pozytywnego lub wątpliwego wyniku badania próby zbiorczej od każdej świni pobiera się dalsze 20 g próbek, zgodnie z lit. b). 20 g próbek z pięciu świń łączy się i bada zgodnie z opisaną powyżej metodą. W ten sposób zostaną przebadane próby z 20 grup trzody chlewnej, po 5 świń każda. W przypadku wykrycia włosieni w próbie zbiorczej od 5 świń dalsze 20 g próbek pobiera się od pojedynczych sztuk z grupy, przy czym każda z nich jest oddzielnie przebadana z zastosowaniem metody opisanej powyżej.”

3. Dodaje się punkty IV, V i VI w brzmieniu:

„IV. METODA MECHANICZNIE WSPOMAGANEGO WYTRAWIANIA PRÓBY ZBIORCZEJ/TECHNIKA SEDYMENTACJI

a) **Sprzęt i odczynniki**

- nóż i nożyczki do pobierania próbek,
- tace z ponumerowanymi polami na 50 prób, z których każde może pomieścić próbki o średniej wadze 2 g każda,
- mieszarka Stomacher Lab 3 500 thermomodel,
- plastikowe torebki do mieszarki Stomacher,
- stożkowe rozdzielacze o pojemności 2 litrów, w miarę możliwości zaopatrzone w teflonowe zatyczki bezpieczeństwa,
- statywy, pierścienie i zaciski,
- sito o otworach 177 mikronów, średnicy zewnętrznej 11 cm i siatce ze stali nierdzewnej,
- lejki o wewnętrznej średnicy nie mniejszej niż 12 cm, do stabilizacji siti,
- 100 ml szklane, kalibrowane cylindry,
- 25 ml rozdzielacz,
- zlewki o pojemności 3 litrów,
- łyżka lub szklany pręt do mieszania roztworu w zlewce,
- plastikowa strzykawka i wężyk do odsysania,
- miarka o pojemności 6 g,
- termometr o dokładności $\pm 0,5$ °C i o zakresie 1–100 °C,
- wibrator, np. elektryczny potrząsacz z odejmowaną głowicą,
- minutnik włączający się i wyłączający się w przedziałach jednoczynowych,
- trychinoskop z poziomym pulpitem lub stereomikroskop z odpowiednim źródłem światła,
- rynienka do liczenia larw (w przypadku zastosowania trychinoskopu): rynienka do liczenia larw wykonana jest z akrylowych płytek o grubości 3 mm w sposób następujący:
 - i) dno rynienki, podzielone na pola, o wymiarach 180 x 40 mm;
 - ii) boki o wymiarach 230 x 20 mm;
 - iii) szczyty o wymiarach 40 x 20 mm. Dno i szczyty rynienki umieszcza się między jej bokami, tworząc w ten sposób dwa uchwyty na końcach. Dno rynienki podwyższa się 7–9 mm od podstawy ramy utworzonej przez boki i szczyty. Części rynienki zespała się klejem odpowiednim dla tworzywa,
- w przypadku używania stereomikroskopu kilka płytek Petriego o średnicy 9 cm, podzielonych od spodu na pola 10 x 10 mm przy zastosowaniu wskazanego instrumentu,
- 17,5-procentowy roztwór kwasu solnego,
- pepsyna o mocy 1:10 000 NF (Narodowy Receptariusz USA)
odpowiadającej 1:12 500 BP (Farmakopea Brytyjska)
lub 2 000 FIP (Międzynarodowa Federacja Farmacji),
- kilka 10-litrowych zbiorników używanych podczas dekontaminacji, takiej jak obróbka formaliną, sprzętu oraz dla pozostałego płynu wytrawiającego w przypadku pozytywnych wyników,
- waga o dokładności do 0,1 g.

b) Pobieranie próbek

1. W przypadku całych tusz pobiera się próbkę o wadze około 2 g z filaru przepony w przejściu do części ścięgniastej. W przypadku braku filarów przepony pobiera się taką samą próbkę z części żebrowej lub mostkowej przepony, z mięśni zuchwowych lub z mięśni brzusznych.
2. W przypadku kawałków mięsa pobiera się próbkę o małej zawartości tłuszczu i o wadze około 2 g z mięśni szkieletowych oraz, w miarę możliwości, z miejsca w pobliżu kości lub ścięgien.

c) Metoda**1. Sposób wytrawiania****i) Całkowita próba zbiorcza (jednoczesne badanie 100 próbek)**

- Mieszarka Stomacher 3 500 powinna być zaopatrzona w podwójną plastikową torebkę i urządzenie do utrzymania temperatury 40–41 °C.
- Półtora litra wody podgrzanej do temperatury 32–35 °C przelewa się do wewnętrznej torebki plastikowej i następnie wodę podgrzewa się do temperatury 40–41 °C.
- Następnie do wody w stomacherze dodaje się 25 ml 17,5-procentowego kwasu solnego.
- Następnie dodaje się 100 próbek o wadze około 1 g każda (o temperaturze 25–30 °C), pobranych z każdej indywidualnej próbki zgodnie z lit. b)
- Na końcu należy dodać 6 g pepsyny. Należy ściśle przestrzegać wskazanego porządku dodawania w celu zapobieżenia rozkładowi pepsyny.
- Stomacher wytrząsa zawartość torebki przez 25 minut.
- Następnie torebkę wyjmuje się ze stomachera, a płyn wytrawiający filtruje się przez sito do 3-litrowej zlewki.
- Plastikową torebkę przepłukuje się około 100 ml wody, którą następnie przelewa się przez sito do filtratu w zlewce.

Jeżeli jest mniej niż 15 pojedynczych prób, mogą być one dodane do całkowitej próby zbiorczej składającej się ze 100 próbek i badane razem z tymi próbkami.

ii) Próba zbiorcza złożona z mniej niż 100 próbek

- Mieszarka Stomacher 3 500 powinna być zaopatrzona w podwójną plastikową torebkę i urządzenie do utrzymania temperatury 40–41 °C.
- Płyn wytrawiający sporządza się przez wymieszanie około półtora litra wody i 25 ml 17,5-procentowego kwasu solnego i 6 g pepsyny, przy zachowaniu temperatury 40–41 °C. Należy ściśle przestrzegać wskazanego porządku dodawania w celu zapobieżenia rozkładowi pepsyny.
- Z płynu wytrawiającego odmierza się 15 ml na 1 g próbki (np. dla 30 próbek wymagana objętość wynosi 30 x 15 ml = 450 ml) i tę ilość płynu przenosi do dwóch wewnętrznych plastikowych torebek wraz z próbkami mięsa po około 1 g (o temperaturze 25–30 °C), pobranymi z każdej z indywidualnych próbek zgodnie z lit. b).
- Wodę o temperaturze około 41 °C przelewa się do zewnętrznej torebki, tak aby całkowita objętość w obu torebkach wynosiła półtora litra.
- Stomacher wytrząsa zawartość torebki przez 25 minut.
- Następnie torebkę wyjmuje się ze stomachera, a płyn wytrawiający filtruje się przez sito do 3-litrowej zlewki.
- Plastikową torebkę przepłukuje się w 100 ml wody, którą następnie przelewa się przez sito do filtratu w zlewce.

2. Oddzielanie larw metodą sedymentacji

- Lód (o wadze 300–400 g w płatkach, huskach lub pokruszony) dodaje się do płynu wytrawiającego, doprowadzając jego objętość do około 2 litrów. Następnie płyn ten miesza się do chwili rozpuszczenia lodu.
W przypadku mniejszych próbek zbiorczych (patrz ii)) ilość lodu odpowiednio zmniejsza się.
- Wychłodzony płyn wytrawiający przenosi się do dwulitrowego rozdzielacza wyposażonego w wibrator z dodatkowym zaciskiem.

- Sedymentacja powinna trwać 30 minut, przy czym wirowanie odbywa się w sposób przerywany, tj. 1 minuta wirowania, po czym następuje 1 minuta przerwy.
 - Po 30 minutach wirowania 60 ml sedymentu przenosi się bezzwłocznie do 100 ml kalibrowanego cylindra (po użyciu rozdzielacz zostaje przemyty roztworem czyszczącym).
 - 60 ml próbki odstawia się na co najmniej 10 minut, a następnie supernatant odsysa się, pozostawiając 15 ml do badania na obecność larw.
 - Do odsysania można zastosować strzykawkę jednorazowego użytku połączoną z plastikowym przewodem.
Długość przewodu powinna być taka, aby w kalibrowanym cylindrze pozostawało 15 ml, gdy stopka strzykawki spoczywa na krawędzi cylindra.
 - Pozostałe 15 ml przelewa się do rynienki do liczenia larw lub dwu płytek Petriego i bada się odpowiednio pod trychinoskopem lub stereomikroskopem.
 - Płyn wytrawiający bada się niezwłocznie. W żadnym przypadku badania nie można odkładać na dzień następny.
Jeżeli płyny są mętne lub nie zostały zbadane w czasie 30 minut od ich sporządzenia, oczyszcza się je w następujący sposób. Próbkę końcową o objętości 60 ml przelewa się do kalibrowanego cylindra i pozostawia na 10 minut. Po upływie tego czasu odsysa się 45 ml supernatantu, a pozostałe 15 ml uzupełnia się wodą do objętości 45 ml. Po upływie następnych 10 minut odsysa się 30 ml supernatantu, a pozostałe 15 ml przelewa się na płytkę Petriego lub rynienkę do liczenia larw w celu zbadania. Kalibrowany cylinder przepłukuje się 10 ml wody, którą następnie przelewa się na płytkę Petriego lub rynienkę do liczenia larw w celu zbadania.
3. W przypadku pozytywnego lub wątpliwego wyniku badania próby zbiorczej od każdej świni pobiera się dalsze 20 g próbki, zgodnie z lit. b). 20 g próbek z pięciu świń należy połączyć i zbadać za pomocą metody opisanej powyżej. W ten sposób zostaną przebadane próby z 20 grup trzody chlewnej, po 5 świń każda. W przypadku wykrycia włosieni w próbie zbiorczej od 5 świń od pojedynczych sztuk z grupy pobiera się 20 g próbki i każdą poddaje się badaniu z zastosowaniem metody opisanej powyżej.
- V. METODA MECHANICZNIE WSPOMAGANEGO WYTRAWIANIA PRÓBKII ZBIORCZEJ/TECHNIKA IZOLACJI FILTROWEJ

a) **Sprzęt i odczynniki**

Wymienione w metodzie IV lit. a).

Oprócz tego, dodatkowe wyposażenie:

- litrowy rozdzielacz (Gelmana), wyposażony w uchwyt filtru (średnica 45 mm),
- płytki filtrów; płytki filtrów składają się z:
 - okrągłej siatki ze stali nierdzewnej, z oczkami o średnicy 35 mikronów (średnica płytki 45 mm),
 - dwóch gumowych pierścieni grubości 1 mm (średnica zewnętrzna powinna wynosić 45 mm, a wewnętrzna 38 mm),
 - okrągłej siatki umocowanej między dwoma gumowymi pierścieniami oraz umocowanej do nich dwuskładnikowym klejem odpowiednim dla tych materiałów,
- kolba Erlenmeyera o pojemności 3 litrów, zaopatrzona w boczny wężyk do odsysania,
- pompa filtrująca,
- plastikowe torebki o pojemności co najmniej 80 ml,
- sprzęt do zgrzewania torebek plastikowych,
- renniny o mocy 1:1 500 000 jednostek Soxleta na 1 g.

b) **Pobieranie próbek**

Patrz metoda IV lit. b).

c) Metoda**1. Sposób wytrawiania**

- i) Całkowite próby zbiorcze (obejmujące 100 próbek jednocześnie)

Patrz metoda IV lit. c) pkt 1 i).

- ii) Próba zbiorcza złożona z mniej niż 100 próbek

Patrz metoda IV lit. c) pkt 1 ii).

2. Oddzielanie larw przez filtrowanie

- Lód (o wadze 300–400 g w płatkach, łuskach lub pokruszony) dodaje się do płynu wytrawiającego, doprowadzając jego objętość do około 2 litrów.

W przypadku mniejszej próby zbiorczej ilość lodu odpowiednio zmniejsza się.

- Płyn wytrawiający miesza się do czasu rozpuszczenia lodu. Następnie płyn ten pozostawia się co najmniej na trzy minuty, aby larwy mogły się zwinąć.

- Rozdzielacz Gelmana, zaopatrzony w uchwyt i płytkę filtrującą, umieszcza się w kolbie Erlenmeyera połączonej z pompą filtrującą.

- Płyn wytrawiający przelewa się do rozdzielacza Gelmana, a następnie filtruje. Pod koniec filtrowania przechodzenie płynu wytrawiającego przez filtr może być wspomagane zasysaniem z pompy filtrującej. Zasysanie należy przerwać, zanim filtr stanie się suchy, tj. kiedy w rozdzielaczu pozostanie 2–5 ml płynu.

- Po zakończeniu filtrowania płynu wytrawiającego dysk filtru wyjmuje się i umieszcza w torebce plastikowej o pojemności 80 ml razem z 15–20 ml roztworu renniny. Roztwór renniny sporządza się przez dodanie 2 g renniny do 100 ml wody.

- Torebkę plastikową zgrzewa się dwukrotnie i umieszcza w stomacherze, między wewnętrzną i zewnętrzną torebką.

- Stomacher pozostawia się na 3 minuty, niezależnie od tego, czy pracuje na pełnej, czy niepełnej próbie zbiorczej.

- Po 3 minutach torebkę plastikową z dyskiem filtru i roztworem renniny wyjmuje się ze stomachera i otwiera nożyczkami. Płyn przelewa się do rynienki do liczenia larw lub na płytkę Petriego. Torebkę natomiast przepłukuje się 5–10 ml wody, którą przelewa się do rynienki do badania pod trychinoskopem lub na płytkę Petriego do badania pod stereomikroskopem.

- Płyn powinien być badany bezzwłocznie. W żadnym przypadku badania nie można odkładać na dzień następny.

Uwaga

Płytki filtrów nie mogą być używane, jeśli nie są zupełnie czyste. Nie należy nigdy dopuścić do wysuszenia nieoczyszczonych filtrów.

Płytki filtrów czyści się przez pozostawienie ich w roztworze renniny na noc. Przed użyciem myje się je w świeżym roztworze renniny z użyciem stomachera.

3. W przypadku pozytywnego lub wątpliwego wyniku badania próby zbiorczej od każdej świni pobiera się dalsze 20 g, zgodnie z lit. b). 20 g próbek z pięciu świń należy połączyć i zbadać za pomocą metody opisanej powyżej. W ten sposób zostaną przebadane próby z 20 grup trzody chlewnej, po pięć świń każda. W przypadku wykrycia włośni w próbie zbiorczej od 5 świń od pojedynczych sztuk z grupy pobiera się 20 g próbki i każdą z nich poddaje się badaniu zgodnie z metodą opisaną powyżej.

VI. METODA WYTRAWIANIA PRÓBY ZBIORCZEJ Z ZASTOSOWANIEM METODY MAGNETYCZNEGO MIESZANIA**a) Sprzęt i odczynniki**

- nóż i pinceta do pobierania próbek,
- tace z oznaczonymi 50 polami, z których każde może pomieścić próbki o wadze około 2 g mięsa każda,
- rozdrabniacz Moulinette,
- mieszadła magnetyczne, z płytką o temperaturze regulowanej termostatem i pokrytymi teflonem prętami mieszającymi, o długości około 5 cm,

- rozdzielacze stożkowe o pojemności 2 litrów,
- statywy, pierścienie, uchwyty,
- sito o siatce ze stali nierdzewnej, z oczkami 177 mikronów o średnicy zewnętrznej 11 cm,
- lejki o średnicy wewnętrznej nie mniejszej niż 12 cm, do umieszczenia sit,
- zlewka o pojemności 3 litrów,
- kalibrowane cylindry o pojemności około 50 ml lub cylindry wirówkowe,
- trychinoskop z poziomym pulpitem lub stereomikroskop z odpowiednim źródłem światła,
- rynienka do liczenia larw (w przypadku zastosowania trychinoskopu): rynienka do liczenia larw wykonana jest z akrylowych płytek o grubości 3 mm w sposób następujący:
 - i) dno rynienki, podzielone na pola, o wymiarach 180 × 40 mm;
 - ii) boki o wymiarach 230 × 20 mm;
 - iii) szczyty o wymiarach 40 × 20 mm. Dno i szczyty rynienki umieszcza się między jej bokami, tworząc w ten sposób dwa uchwyty na końcach. Dno rynienki podwyższa się 7–9 mm od podstawy ramy utworzonej przez boki i szczyty. Części rynienki zespala się klejem odpowiednim dla tworzywa,
- kilka płytek Petriego o średnicy 9 cm (w przypadku zastosowania stereomikroskopu) podzielonych od spodu na pola 10 × 10 mm przy użyciu wskazanego instrumentu,
- folia aluminiowa,
- kwas solny 25-procentowy,
- pepsyna o mocy: 1 : 10 000 NF (Narodowy Receptariusz USA)
odpowiadającej 1 : 12 500 BP (Farmakopea Brytyjska)
lub 2 000 FIP (Międzynarodowa Federacja Farmacji),
- woda podgrzana do temperatury 46–48 °C,
- kilka 10-litrowych zbiorników używanych podczas dekontaminacji, takiej jak obróbka formaliną, sprzętu oraz dla pozostałego płynu wytrawiającego w przypadku pozytywnych wyników,
- waga z dokładnością do 0,1 g.

b) Pobieranie próbek

1. W przypadku całych tusz pobiera się próbę o wadze około 2 g z filaru przepony w przejściu do części ścięgnistej. W przypadku braku filarów przepony pobiera się taką samą próbkę z części żebrowej lub mostkowej przepony, z mięśni zuchwowych lub z mięśni brzusznych.
2. W przypadku kawałków mięsa pobiera się próbkę o wadze około 2 g z mięśni szkieletowych, o małej zawartości tłuszczu oraz, w miarę możliwości, z miejsca w pobliżu kości lub ścięgien.

c) Metoda

1. i) *Tworzenie próby zbiorczej* (po 100 próbek jednocześnie)
 - 100 próbek, o średniej wadze 1 g każda, pobranych z pojedynczych próbek zgodnie z lit. b), rozdrabnianych jest w rozdrabniaczu Moulinette. Rozdrabniacz używany jest od trzech do czterech razy, przez około sekundę za każdym razem.
 - Rozdrobnione mięso przenoszone jest do 3-litrowej zlewki i traktowane 10 g pepsyny. 2 litry wody podgrzanej do 46–48 °C przelewa się do zlewki razem z 16 ml kwasu solnego.
 - Wkładkę mieszającą rozdrabniacza za każdym razem wkłada się do zlewki z płynem wytrawiającym w celu oddzielenia przyklejonych skrawków mięsa.
 - Pręcik mieszający umieszcza się w zlewce, którą przykrywa się folią aluminiową.

- Zlewkę umieszcza się na podgrzanej płytce grzewczej mieszdła magnetycznego i zaczyna się proces mieszania. Przed rozpoczęciem mieszania mieszdło należy wyregulować, tak aby utrzymywało stałą temperaturę 44–46 °C podczas całego procesu mieszania. Podczas procesu mieszania płyn powinien wirować z dostatecznie dużą prędkością, aby uzyskać głęboki wir bez rozpryskiwania.
- Płyn wytrawiający mieszany jest 30 minut, po czym mieszdło wyłącza się, a płyn przelewa się przez sito do rozdzielacza sedymentacyjnego.
- Płyn w rozdzielaczu odstawia się na 30 minut.
- Po 30 minutach płyn z osadem w ilości 40 ml szybko przelewa się do kalibrowanego cylindra lub cylindra wirówki.
- Próbę 40 ml pozostawia się na 10 minut, a następnie odsysa się 30 ml supernatantu, pozostawiając objętość wynoszącą 10 ml.
- Pozostałe 10 ml osadu przelewa się do rynienki lub płytki Petriego.
- Następnie cylinder przepłukuje się 10 ml wody, którą dodaje się do rynienki do liczenia larw lub płytki Petriego. Próbkę bada się odpowiednio pod trychinoskopem lub stereomikroskopem.
- Badanie należy wykonywać bezzwłocznie. W żadnym przypadku badania nie można odkładać na dzień następny.

Jeżeli płyny nie zostały zbadane w czasie 30 minut od ich sporządzenia, należy oczyścić je w następujący sposób. Końcową próbkę o objętości 40 ml przelewa się do kalibrowanego cylindra i pozostawia na 10 minut. Po upływie tego czasu 30 ml supernatantu odsysa się, a pozostałe 10 ml uzupełnia się wodą do 40 ml. Po upływie kolejnych 10 minut ponownie odsysa się 30 ml supernatantu, a pozostałe 10 ml przelewa się na płytkę Petriego lub na rynienkę do liczenia larw w celu zbadania. Kalibrowany cylinder przepłukuje się 10 ml wody, którą następnie przelewa się na płytkę Petriego lub na rynienkę do liczenia larw w celu zbadania.

Jeżeli osad w czasie badania jest mętny, próbę przelewa się do kalibrowanego cylindra i uzupełniona wodą do objętości 40 ml, po czym należy powtórzyć powyższą procedurę.

ii) *Próba zbiorcza składająca się z mniej niż 100 próbek*

W razie potrzeby nie więcej niż 15 próbek 1-gramowych można dodać do całkowitej próby zbiorczej złożonej ze 100 próbek i poddać badaniu razem z tymi próbkami zgodnie z lit. c) pkt 1 i). Więcej niż 15 próbek bada się jako oddzielną próbę zbiorczą. Dla prób złożonych z nie więcej niż 50 próbek objętość płynu wytrawiającego redukuje się do 1 litra.

2. W przypadku pozytywnego lub wątpliwego wyniku badania próby zbiorczej od każdej świni pobiera się dalsze 20 g próbki, zgodnie z lit. b). 20 g próbek z pięciu świń należy połączyć i poddać badaniu za pomocą metody opisanej powyżej. W ten sposób zostaną przebadane próbki z 20 grup trzody chlewnej, po 5 świń każda. W przypadku wykrycia włosieni w próbie zbiorczej od 5 świń od pojedynczych sztuk z grupy pobiera się dalsze 20 g próbki i każdą z nich poddaje się oddzielnemu badaniu z zastosowaniem metody opisanej powyżej.”.

B. W załączniku II rozdział I ust. 1 wprowadza się następujące zmiany:

1. Litera b) otrzymuje brzmienie:

„b) zamknięte pomieszczenie badawcze, odpowiednio wyposażone, które można zaciemnić podczas badania wykonywanego przy użyciu trychinoskopu;”.

2. Skreśla się pkt f); pkt g), h), i), j), k), l), m) oraz n) otrzymują odpowiednio oznaczenie f), g), h), i), j), k), l) oraz m).

3. Nowy pkt g) otrzymuje brzmienie:

„g) umywalnia przeznaczona do czyszczenia i dezynfekowania sprzętu do badań (np. pojemników na próbki, kompresorów, noży oraz nożyc) z:

- wodoszczelnym pokryciem podłogi, które jest odporne na gnicie oraz łatwe do czyszczenia i dezynfekcji,
- gładkimi ścianami, które są wyłożone zmywalnym jasnym pokryciem lub farbą, do wysokości przynajmniej 2 m.

Niniejszy przepis nie musi być stosowany, pod warunkiem że laboratoria stosujące metody wymienione w załączniku I pkt II, III, IV, V, VI są wyposażone w duży, odpowiednio skanalizowany zlew.”.
