

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**

**Fakulta tropického zemědělství**



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta tropického  
zemědělství**

**Studium druhového zastoupení trichinel *T. spiralis***

**a *T. pseudospiralis* a možné cesty přenosu**

**v podmínkách Evropy**

**Bakalářská práce**

**Praha 2017**

**Vedoucí práce:**

**prof. MVDr. Daniela Lukešová, CSc.**

**Vypracoval:**

**Ladislav Tichý**

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Ladislav Tichý

Zemědělství tropů a subtropů

Název práce

**Studium druhového zastoupení trichinel *T. spiralis* a *T. pseudospiralis* a možné cesty přenosu v podmínkách Evropy**

Název anglicky

**Study of generic representation trichinella *T. spiralis* and *T. pseudospiralis* and possible ways of transport in European conditions**

---

### Cíle práce

Bakalářská práce bude v první části zaměřena na studium druhového zastoupení trichinel *T. spiralis* a *T. pseudospiralis*, dále na cykly parazita v přírodě, průběh a klinické příznaky trichinelózy člověka a zvířat, na prevenci a diagnostické metody.

V další části bude prováděn monitoring trichinel a sledování prevalence s využití databází (SVS ČR, EPIDAT, ECDC) v zemích EU v letech 2007-2015.

### Metodika

Z literárních vědeckých databází (Web of Knowledge, Scopus, Springer Link aj.) a monografií (Ebrary) budou získávány vědecké informace týkající se morfologické charakteristiky obou druhů hlístic rodu *Trichinella* a dále zdrojů a cest přenosu z volně žijících masožravců a všežravců (např. liška, prase divoké, jezevec) na člověka. V jednotlivých případových studiích bude sledován způsob přenosu trichinel a klinické příznaky této zoonózy člověka a zvířat (informace ze zdrojů ECDC, EPIDAT, SVS ČR) z let 2007-2015. U podezřelých kusů zvířat bude pomocí závazných metodických

postupů (dle Nařízení komise (ES) č. 2075/2005, kterým se stanoví zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase, v platném znění) sledována vitalita larev trichinel získaných ze svaloviny slovené zvěře, ve spolupráci se Státními veterinárními ústavami.

## Doporučený rozsah práce

35 – 55 stran

## Klíčová slova

trichinelóza, prevalence, diagnostické metody, epidemiologie, zoonóza

---

## Doporučené zdroje informací

CDC. 2012. Parasites – Trichinellosis (also known as Trichinosis) Available at <https://www.cdc.gov/parasites/trichinellosis/>

Dupouy-Camet J, Talabani H, Ancelle T. 2010. Trichinellosis. Parasitology Research 60: 159-164.

Messiaen P, Forier A, Vanderschueren S, Theunissen C, Nijs J, Van Esbroeck M, Bottieau E, De Schrijver K, Gyssens CI, Cartuyvels R, Dorny P, van der Hilst J, Blockmans D. 2014. Outbreak of trichinellosis related to rating imported wild boar meat. Euro Surveill 21(37): 30341.

Pozio E. 2016. Trichinella pseudospiralis an elusive nematode. Veterinary Parasitology 231: 97-101.

Van der Giessen J, Franssen F, Fonville M, Kortbeek T, Beckers P, Tolsma P, Stenvers O, Teunis P, Takumi K. 2013. How safe is the meat inspection based on artificial digestion of pooled samples for Trichinella in pork? A scenario from wildlife to a human patient in a non-endemic region of Europe. Veterinary Parasitology 194: 110-112.

---

## Předběžný termín obhajoby

2016/17 LS – FTZ

## Vedoucí práce

prof. MVDr. Daniela Lukešová, CSc.

## Garantující pracoviště

Katedra chovu zvířat a potravinářství v tropech

Elektronicky schváleno dne 5. 4. 2017

**Ing. Karolína Brandlová, Ph.D.**

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 12. 4. 2017

**doc. Ing. Jan Banout, Ph.D.**

Děkan

V Praze dne 20. 04. 2017

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci „Studium druhového zastoupení trichinel *T. spiralis* a *T. pseudospiralis* a možné cesty přenosu v podmínkách Evropy“ vypracoval samostatně, pod vedením vedoucího bakalářské práce. K práci byly jako zdroje použity vědecké a odborné články a další informační zdroje, které jsou citovány a uvedeny v seznamu. Dále prohlašuji, že jsem při vytváření práce neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18. 4. 2017

.....

Ladislav Tichý

## Poděkování

Rád bych poděkoval paní prof. MVDr. Daniele Lukešové, CSc. za odborné vedení a pomoc při zpracování bakalářské práce. Velký dík také patří Státní veterinární správě ČR za poskytnutí informací týkající se trichinelózy divokých zvířat v České republice. Také bych rád poděkoval České zemědělské univerzitě za možnost přístupu do databází odborných a vědeckých článků, na kterých byla bakalářská práce založena.

## Abstrakt

Bakalářská práce byla v první části zaměřena na studium druhového zastoupení trichinel *T. spiralis* a *T. pseudospiralis*, dále na cykly parazita v přírodě, průběh a klinické příznaky trichinelózy člověka zvířat, na prevenci a diagnostických metodách. V metodické části byla monitorována trichinelóza člověka a divokých prasat v podmínkách států Evropské unie v letech 2007 - 2015. V práci bylo zmonitorováno přes čtyři tisíce případů trichinelózy člověka za dostupných informací z databází ECDC a EPIDAT. Data byla následně analyzována a diskutována, přičemž byl kladen důraz na souvislosti počtu nakažených se zdroji zoonózy, cestami přenosu, vyspělostí země a kulturními zvyky dané země. V České republice bylo ve spolupráci se Státní veterinární správou ČR monitorováno a diskutováno 10 případů trichinelózy divoké zvěře v porovnání se sousedními státy České republiky.

**Klíčová Slova:** trichinelóza, prevalence, diagnostické metody, epidemiologie, zoonóza

## Abstract

The Bachelor thesis is in its first part focused on generic representation of *Trichinella* species *T.pseudospiralis* and *T.spiralis*, furthermore on cycles of the parasite in nature, process and clinical symptoms of trichinellosis occurring in both human and animals, preventive and diagnostic methods. In the methodical part was monitored Trichinellosis in human and wild boars in conditions of the EU states in years 2007 – 2015. In the thesis had been monitored more than four thousand cases of human Trichinellosis according to information from the databases ECDC and EPIDAT. Thereafter the data were analyzed and discussed. Great emphasis is placed on the context of the amount of infected and sources of zoonosis, ways of transmission, development of the countries and cultural customs. In the Czech Republic was in cooperation with SVS ČR monitored and discussed ten cases of Trichinellosis in wild animals compared with bordering states.

Keywords: trichinosis, prevalence, diagnostic methods, epidemiology, zoonoses

## Obsah

1 Úvod.....	1
2 Literární rešerše .....	2
2.1 Taxonomie ... ..	2
2.2 Morfologie ... ..	2
2.2.1 <i>T. spiralis</i> ... ..	2
2.2.2 <i>T. pseudospiralis</i> .....	4
2.3 Cykly parazita v prostředí .....	5
2.3.1 Přírodní cyklus.....	6
2.3.2 Synantropní cyklus .....	6
2.3.3 Domestikální cyklus .....	6
2.3.4 Arktický cyklus.....	7
2.4 Trichinelóza .. ..	7
2.5 Patobiologie . .....	9
2.6 Klinické příznaky trichinelózy člověka.....	10
2.7 Klinické příznaky trichinelózy zvířat.....	12
2.8 Prevence .....	13
2.9 Diagnostika trichinelózy.....	13
2.10 Terapie .....	18
2.11 Historie nákazy v Evropě.....	19
3 Cíl práce.....	22
4 Metodika.....	23
5 Výsledky .....	24
6 Diskuze .....	32
7 Závěr.....	42
8 Reference .....	43
9 Přílohy .....	49



## Seznam obrázků, tabulek a grafů

### Seznam obrázků:

Obrázek 1: Morfologie <i>T.spiralis</i> (Mohan 2014).....	2
Obrázek 2: <i>T. spiralis</i> , stadium opouzdřené larvy (Health Auckland, 2017).....	4
Obrázek 3: Larvální stadium <i>T.pseudospiralis</i> (CDC, 2000) .....	4
Obrázek 4: Možné typy cyklů trichinel (Jíra, 1998).....	5
Obrázek 5: Biologický cyklus parazita (Parasitic Diseases, 2005) .....	8
Obrázek 6: Zdravotní komplikace v oblasti očí ( Bordi et al., 2002) .....	11
Obrázek 7: Larva <i>Trichinella spiralis</i> v nativním preparátu (Koudela, 2001), Pozitivní nález larev trichinel na Petriho misce (Borji, 2012), Kompresorium pro vyšetřování svaloviny kompresní metodou (Koudela, 2001). .....	15

### Seznam tabulek:

Tabulka 1: Přehled trichinelózy člověka v letech 2007-2015 ve státech EU .....	26
Tabulka 2: Prevalence vybraných zemí EU v letech 2007-2015 .....	29
Tabulka 3: Přehled trichinelózy zvířat v ČR v letech 2007-2015.....	31

### Seznam grafů:

Graf 1: Celkový Počet nakažených lidí trichinelózou ve státech EU v letech 2007- 2015 .....	27
Graf 2: Počty nakažených lidí trichinelózou v jednotlivých státech Evropské unie za období 2007-2015 .....	28

## Seznam použitých zkratk:

ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemoci
CDC	Centre for Disease Control and Prevention Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí
PCR	Polymerase Chain Reaction Polymerázová řetězová reakce
Komise ES	Komise Evropských společenství
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
SZÚ	Státní zdravotní ústav
SVS ČR	Státní veterinární správa České republiky
FSAI	The Food Safety Authority of Ireland
NRL-T	National Reference Laboratory for Trichinella Národní referenční laboratoř pro rod Trichinella
EPIDAT	Epidemiologická databáze SZÚ Praha

## 1 Úvod

Svalovec stočený, neboli *Trichinella spiralis*, patří mezi zoonotické tkáňové helminty. V dospělosti cizopasí v trávicím traktu. Jeho výskyt je geopolitní, sporadický nebo ve skupinových epidemiích, vázaných na nevhodně tepelně upravené maso, případně na nedodržení správných hygienických postupů při manipulaci s masem infikovaným larvami endoparazita.

Nemoc se patrně již vyskytovala u člověka v prehistorických dobách, vlivem konzumace částečně tepelně upraveného, či syrového masa. Riziko nákazy později vzrůstalo po domestikaci prasete. Důkazem může být zákaz konzumace masa v islámských zemích, kde je vepřové maso označováno jako „nečisté“. V Evropě bývají přenašeči volně žijící masožravci/všežravci, např. lišky, prasata divoká, jezevci. Zástupci rodu *Trichinella* se prakticky průběžně objevovali na všech kontinentech, avšak jejich výskyt byl a je soustředěn převážně na severní polokouli. Ve střední Evropě a na našem území zaznamenáváme infekce druhu *T. spiralis* a *T. britovi* (parazituje zejména u prasat divokých), ojediněle *T. pseudospiralis* (parazituje zejména u dravých ptáků), které u svých hostitelů způsobují parazitickou nemoc - trichinelózu.

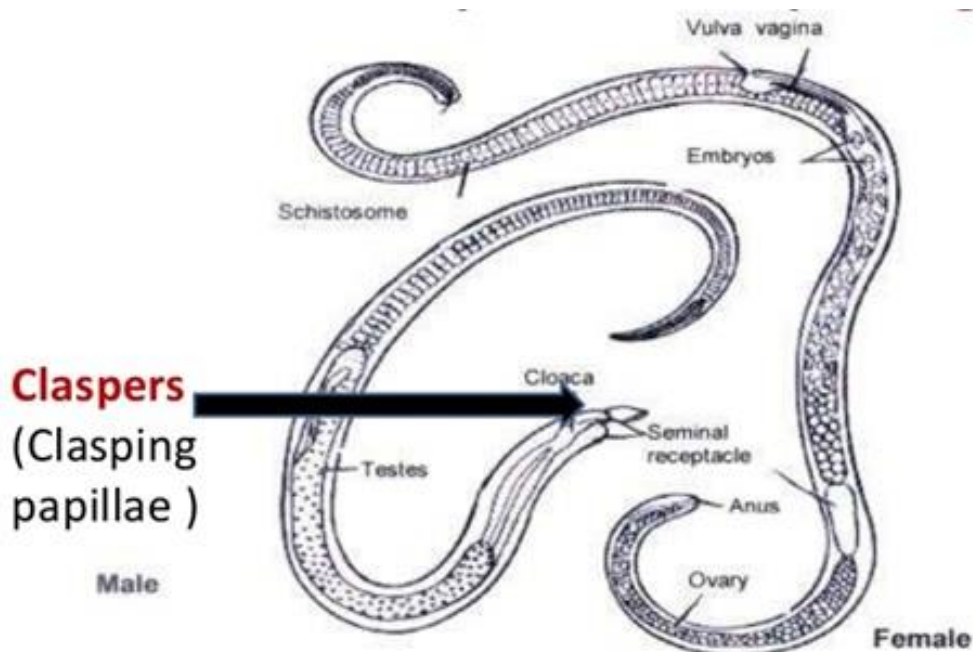
Po proniknutí larev do těla trávicím traktem začíná rychlé množení. Larvy začínají migrovat po těle až do příčně pruhované svaloviny – od toho tedy české označení svalovec. Jako příznaky nemoci se uvádějí horečné stavy, svalový třes, bolesti hlavy. V další fázi přichází na řadu zvracení, průjemy, nevolnost. Cílem parazita není hostitele usmrtit, avšak pro člověka a ostatní živočichy může být smrtící komplikací, spojenou s různými typy onemocnění (pneumonie, myokarditida, plicní embolie).

## 2.1 Taxonomie

Rod *Trichinella* (Čeleď: Trichinellidae, Řád: Trichocephalida, třída: Adenophorea, Kmen: Nematoda, říše: Animalis) (Kassai, 1988). *T. spiralis* a *T. pseudospiralis* patří do kmenu Nematoda (hlístice) prvoústých organismů, tvořící jednu z nejpočetnějších a téměř po celém světě rozšířenou skupinu živočichů. Způsob života je u hlístic povětšinou parazitický. U obratlovců je popsáno okolo 20 000 jedinců parazitujících na obratlovcích (škrkavka, roup, vlasovec, svalovec). Z rostlinných můžeme uvést například Hádátka. V současné době je popsáno 12 druhů a genotypů trichinel (Brushi, 2002).

## 2.2 Morfologie *Trichinella spiralis*

*Trichinella spiralis* je hlístice, která má v dospělých formách protáhlé, vlasovité tělo s kruhovým průřezem dosahující rozměrů u samců 1,4 – 1,6 mm a samic 3–4 mm. Můžeme tedy mluvit o značném pohlavním dimorfismu. (viz. Obrázek č.1)



Obrázek 1: Morfologie *T. spiralis* (Mohan, 2014)

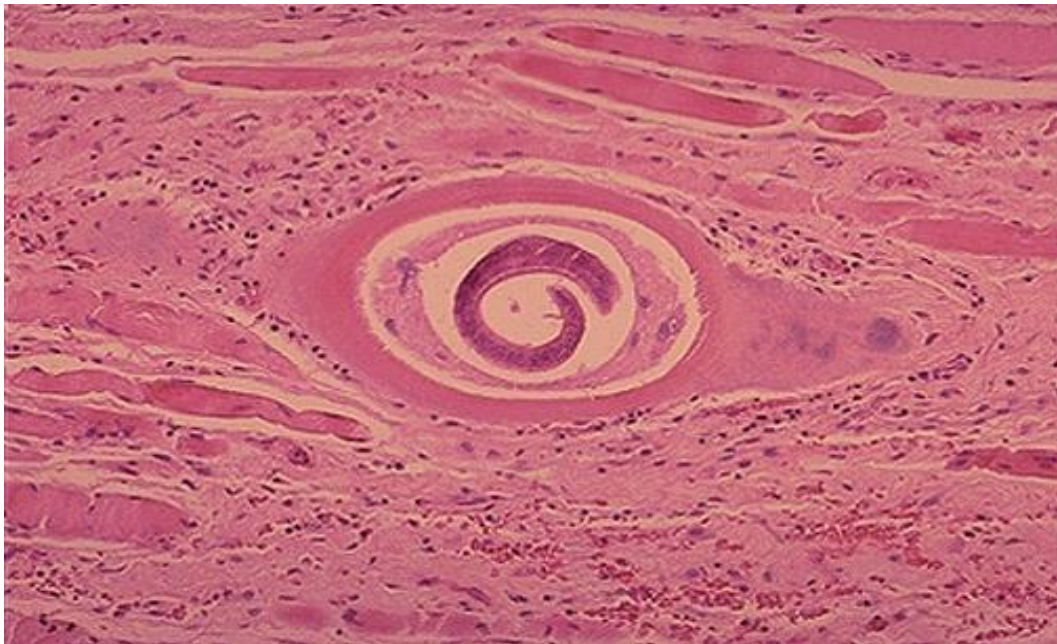
Pohyb je umožněn několikvrstevnou kutikulou, která se dále podílí na ochraně před okolním prostředím, oporné funkci, výměně látek s prostředním a interakci

s hostitelem. Kutikula má primární kroužkovité příčné rýhy, sekundární rýhy jsou orientovány podélně, které jsou přerušovány vývody hypodermálních žláz (Mehlhorn, 2016). Ústní dutina je vybavena vychlípitelným stilettem (bodcem).

Jícen má tvar kapiláry. Trávení je zajištěno pomocí trávicí trubice procházející pseudocoelem. Na jedné straně začíná ústním otvorem, který nasává potravu z hostitele. K vylučování slouží jednobuněčné trubice v postranních tělních dutinách (Feidas et al., 2014). Uvnitř distální části jícnu jsou lineárně uspořádané stichocity, které ústí do jícnu a produkují granulované částice s imunogenními vlastnostmi, které odpovídají exkrečním a sekrečním antigenům (Giessen et al., 2013).

Tyto látky sehrávají klíčovou roli při migraci hlístic tělem hostitele a významně se podílejí na regulaci procesů hostitelských buněk. U samců se vyskytují trubicovitá varlata, která sahají od zadního konce do středu těla, kde se stáčí zpět, pokračuje chámovodem se semenným váčkem a ústí do kloaky. U samic je trubicovitý vaječník umístěn v zadní části těla. Navazuje na vejcovod, v němž se nacházejí různé vývojové formy od vaječných buněk až po larvy měřící až 0,16 mm (Feidas et al., 2014). Dospělé formy svalovce jsou uzpůsobeny k životu v epitelu střevní sliznice. Samice se zakotvují ve zvětšených buňkách hostitele (vlivem antigenů produkovaných ze stichocitů).

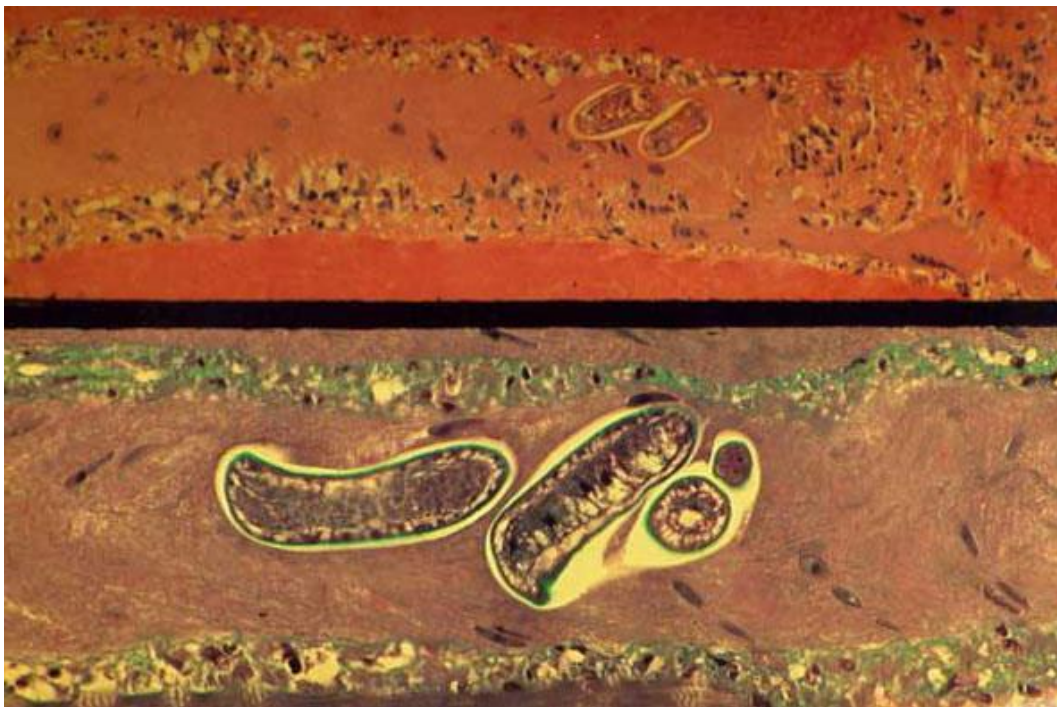
Larvy mají štěrbinovitý ústní otvor. Na kutikule je vidět kroužkovitá příčná striace. U opouzdřených larev se nachází pohlavní orgány. Samčí a samičí pouzdra se dají rozeznat polohou střeva a gonád. Termín „cysta“ není úplně vhodný, jelikož se jedná o modifikovanou svalovou buňku, která je pro larvu zásobárnou potřebných živin pro růst a vývoj. Po ukončeném procesu opouzdření je larva izolována od okolí. Nemůže se téměř pohybovat a po 6 - 12 měsících začíná kalcifikovat. V mršinách larvy mohou přežívat, ale jsou silně závislé na vnějším prostředí. Vysoká vlhkost a nízké teploty podporují přežití larev v procesu tlení masa (Pozio, 2013).



Obrázek 2: *Trichinella spiralis*, stádium opouzdřené larvy (Health Auckland, 2017)

### 2.2.2 Morfologie *Trichinella pseudospiralis*

*T. pseudospiralis* má podobnou morfologii jako *T. spiralis*. Oba dospělci mají tělo dlouhé okolo 2,5 mm na délku vlasovitého tvaru. Samičky jsou větší než samci. U samiček je patrné postupné zvětšování tloušťky v zadní části.

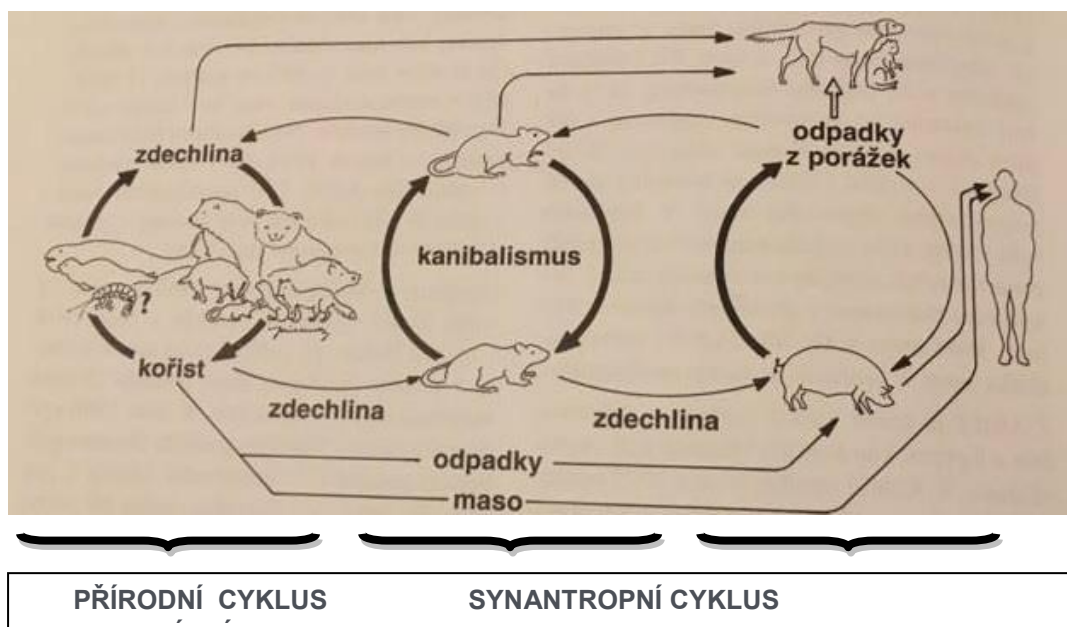


Obrázek 3 - Larvální stádium *T. pseudospiralis* (CDC, 2000)

Velkým rozdílem však je, že *T. pseudospiralis* patří do jednoho ze tří druhů trichinel, které netvoří pouzdra kolem larvy. Proto tedy pseudo (larvy nejsou v pouzdře stočeny jako u *T. spiralis*). Tato skutečnost vede sice ke snížení bezpečnosti pro samotnou larvu, ale na druhou stranu jí umožňuje cestovat mezi svalovými vlákny hostitele. V Evropě se vyskytuje v ojediněle a často v malých epidemiích. Její výskyt je často vázán na migraci dravých ptáků. Jako jediný druhů totiž také může mít za hostitele nejen savce a zároveň i ptáky (Pozio, 2016; Hurníková, 2005).

### 2.3 Cykly parazita v prostředí

Nákaza svalovcem je typickou zoonózou, s charakterem přírodní ohniskovosti, jejíž rozsáhlé zeměpisné rozšíření je dáno nízkým stupněm výběru hostitele (velké množství potenciálních hostitelů). V přírodě můžeme pozorovat tři typické cykly, mezi kterými existuje velmi úzké propojení. Jedná se o cyklus přírodní (ferální, sylvatický), synantropní (ferodomestikální) a domestikální. Člověk se může prakticky infikovat všemi uvedenými cykly, viz. obrázek č. 1.



Obrázek 4: Možné typy cyklů trichinel (Jíra, 1998)

### 2.3.1 Přírodní cyklus

Přírodní cyklus je typický pro volně žijící masožravce a všežravce. Je charakterizován výměnou masožravého hostitele – predátor versus kořist. Zvířata bývají oslabena po pozření svaloviny a stávají se snadnější kořistí predátorů. Případně může být zkonsumován i uhynulý kus potenciálním hostitelem. U hlodavců se nákaza vyskytuje ojediněle, významnou úlohu sehrává kanibalismus a pozření uhynulých zvířat (Gottstein et al., 2009). Přírodní cyklus nebývá zdrojem nákazy člověka, protože každé slovené nebo poražené zvíře by mělo být ohledáno odborníkem, aby byl zamezen kontakt budoucího konzumenta s nakaženým kusem zvířete. Díky pytláctví a časté nekázni lidí dochází, např. po srážce dopravního prostředku se zvěří, k nelegálnímu zařazení masa těchto zvířat do potravního řetězce. Nejčastějším zdrojem nákazy člověka bývá prase divoké, nebo prase domácí (Pozio, 2005).

### 2.3.2 Synantropní cyklus

Jedná se o cyklus spojený se zvířaty zdržujícími se v blízkostech lidských obydlí, statků a farem. Významným rezervoárem je převážně potkan obecný. Jedinci se ve většině případů nakazí pozřením uhynulého kusu divoké zvěře. Vlivem kanibalismu a kompetice ve společenstvech potkanů a malých hlodavců dochází ke koloběhu nákazy, která se může udržovat díky početnému potomstvu po desítky let. Možnou cestou infekce je pozření odpadu z jatek, kde komunita potkanů často přežívá (Dick et al., 2001). Synantropní cyklus často bývá nebezpečný i pro domácí mazlíčky, zvláště pro ty, které rádi pozřou vše, co se nabízí.

### 2.3.3 Domestikální cyklus

Tento cyklus je velmi nebezpečně a úzce spojen s cyklem synantropním. Nejvýznamnějším rezervoárem jsou prasata domácí, která přichází do kontaktu s drobnými hlodavci a dochází k častému pojídání živých či uhynulých jedinců. Proto je v zájmu každého chovatele hospodářských zvířat snaha o eliminaci podobných vektorů v místě chovu (jedy, pasti apod.)



Prasata, krmená odpadky masa, bývají také významně častěji infikována než krmená zrním, nebo žijící na biofarmách, na pastvě (Gottstein et al., 2009). Pokud se ovšem domácí zvíře nakazí, chovatel zpravidla onemocněného jedince nerozezná. Pokud dojde k nakažení zvířete, člověk se ve většině případů nakazí požitím nedostatečně tepelně upraveného masa. Často to bývají jitrnice, salámy, klobásy, u kterých nebyla dosažena minimálně teplota 60 °C. Velmi nespolehlivé jsou metody nakládání, solení nebo sušení za studena. Častější jsou rodinné, nebo skupinové epidemie, s následky rozdělení infekční dávky do menšího počtu lidí. V průmyslové výrobě je dohledání zdroje nákazy velmi pracné a složité.

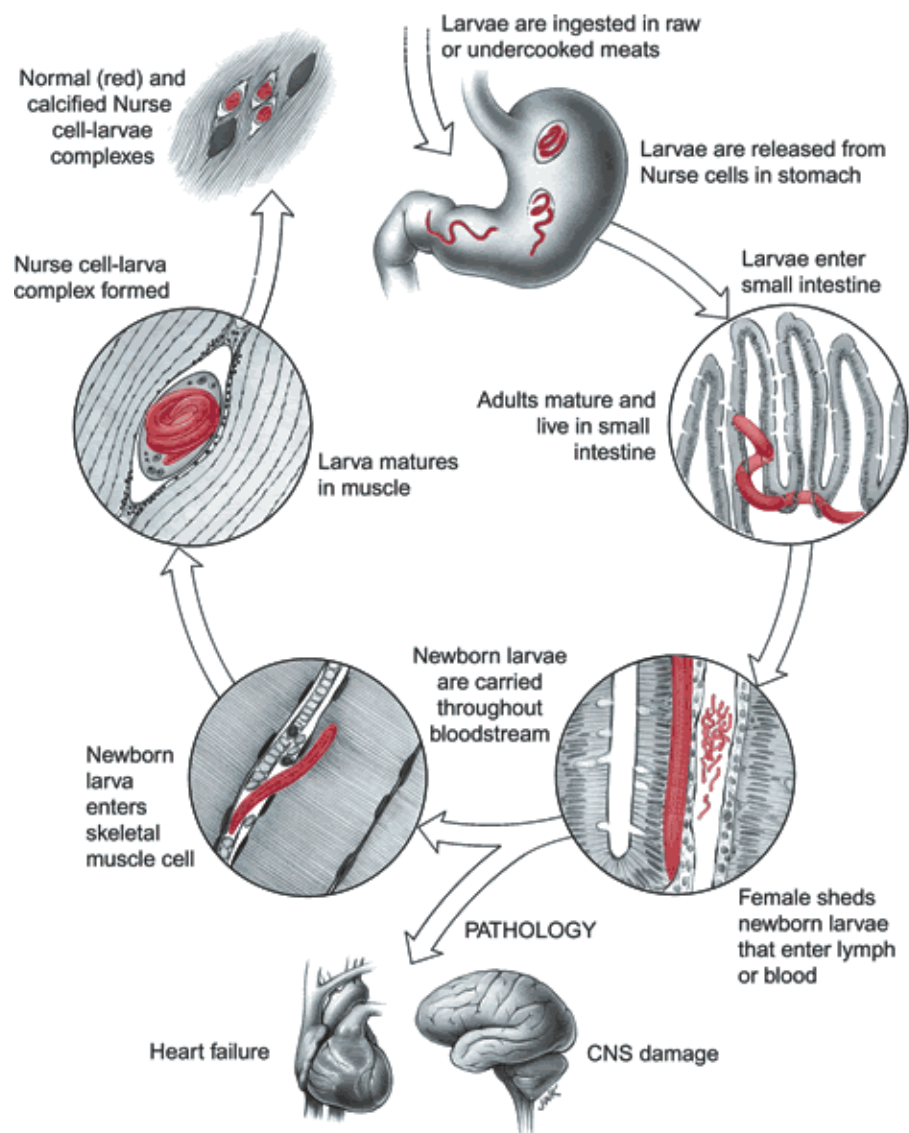
#### 2.3.4 Arktický cyklus

Zajímavým a svérázným cyklem je cyklus arktický, který se udržuje v kanadské Arktidě, na Aljašce, v severních oblastech Ruska a v Grónsku. Nákaza se vyskytuje u zemních a mořských savců. Nejčastěji u Medvěda ledního, lišky polární, mrože, tuleňů a vzácně kytovců. Medvědi se často infikují požitím tuleňů a mrožů, ploutvonožci se nakazí mezi sebou a z části se též mohou nakazit nekrofágními korýši, kteří se živí zdechlinami savců. K šíření nákazy také přispíval člověk, když vyhazoval zechliny psů táhnoucí spřežení. Arktický cyklus výrazně komplikoval polární výpravy, když převážně špatnou tepelnou úpravou masa ploutvonožců docházelo k infikování psů i samotné posádky (Odevskaia, 2010).

#### 2.4 Trichinelóza

K nákaze dochází pozřením masa obsahující opouzdřené larvy. Definitivní hostitel se nakazí, v případě člověka nedostatečně tepelně upraveného masa, v případě zvíře mršinou, nebo masem kořisti. Žaludeční šťávy rozvolní svalové pouzdro a se uvolňují, zpravidla ve dvanáctníku, do trávicího traktu. Ty se následně usazují v tenkém střevě, kde penetrují do střevního epitelu a následně dospívají a kopulují. Během 30 hodin larvy procházejí čtyřmi vývojovými stádii a dospívají. Vývoj dospělců probíhá přes larvální stadia oddělená svlékáním staré a tvorbou

nové kutikuly. Proces od pozření po rozmnožování parazita trvá přibližně 6 dnů. Dospělé hlístice se dožívají okolo 5 týdnů, během toho každá ze samic během této svého života vyprodukuje až 1500 larev. Samičky viviparní – kladoucí živé larvy. Tyto larvy dosahují pouze asi 100 mm (Jíra, 1998).



"Parasitic Diseases" 4<sup>th</sup> Ed. © Apple Trees Productions, LLC, Pub. P.O. Box 280, New York, NY 10032

Obrázek 5: Biologický cyklus parazita (Parasitic Diseases, 2005)

Larvy pronikají ze střeva lymfatickým oběhem a krevním řečištěm jsou roznášeny po celém těle hostitele. Ve svalstvu se larvy rozrušují svalová vlákna a následně se spirálovitě stáčí a vytváří pouzdro (mimo *T. pseudospiralis*.) Migrují 2-3 dny. U prasat a člověka mají cysty eliptický tvar, u masožravců jsou kulaté. Termín

„cysty“ je nepřesný, neboť jde o modifikovanou svalovou buňku (Feidas et al., 2014). Hlístice z buňky přijímá výživné látky a po ukončeném procesu opouzdření je úplně izolována od okolního prostředí. Její pohyblivost je omezena na pomalé otáčení. Po 6-12 měsících struktura začíná kalcifikovat (Mehlhorn, 2016).

Larvy dosahují délky kolem 1 mm, zatímco pouzdra mají velikost přibližně 0,5 x 0,3 mm. Významným faktorem účinnosti nákazy je schopnost dlouhodobého přežívání larev v hostiteli. Infekční cysty byly zjištěny u experimentálních nálezů i po 10 letech. Parazit také velmi dobře přežívá hnilobné procesy (Mehlhorn, 2016). Nový hostitel může být nakažen po pozření zdechliny (stáří cca 3 měsíce). Nejčastějším místem tvorby pouzder bývají u člověka, prasat a hlodavců bránice a dýchací svaly. U masožravců to bývají žvýkací svaly a svalovina končetin. Tato skutečnost potvrzuje tvrzení, že parazit vyhledává často nejvíce prokrvená místa v těle, s přednostním přístupem kyslíku (Murrel et al., 2006).

## 2.5 Patobiologie

Patologické změny na hostiteli jsou způsobeny larválním stádiem (převážně poškození svalů) i dospělci (poškození trávicího traktu).

Dospělci poškozují nejčastěji hlavně kyčelník, slaběji žaludek, dvanáctník, lačník a tlusté střevo. Pokud je nákaza do 100 cyst, je nákaza brána za lehkou. 2000 cyst už je vážný stav. 80 000 cyst zpravidla způsobuje smrt. V žaludeční sliznici vznikají malé hemoragické vředy. V tenkém střevě pronikají do klků, což vede k jejich poškození. Do 10 dnů začne vrcholit zánětlivá reakce a dochází k vytváření ložisek složené z granulocytů, plazmocytů a lymfocytů. S dospělými jedinci si tělo hostitele na rozdíl od larválního stádia dokáže poradit. Přibližně po dvou týdnech jsou hlístice z těla díky imunitní reakci odstraněny (Despommier et al., 2015; Dick et al., 2001).

V průběhu svalové fáze pronikají larvy do svalových buněk, přičemž vlastní průnik trvá kolem 10 minut. Buňky svaloviny hostící larvu se zcela modifikují. Důsledkem je vymizení příčného pruhování a kontraktálního vlákna. Jádro se zvětší a rozpadá

se, mitochondrie a membránové systémy se zmnožují za účelem zvýšené látkové přeměny. Růst larva dorůstá přibližně 20 dnů. Opouzdření larvy je ukončeno do 5 týdnů. Cysta má tvar citrónu a u člověka dosahuje velikosti 0,4 – 0,6 x 0,2 mm. Vnitřní vrstvu tvoří hyalinní vrstva ze sarkolemy (plazmatické membrány). Vnější vrstva je tvořena ze svalových vláken (Murrel et al., 2006).

Změny v kosterním svalstvu jsou charakterizovány ložiskovou intersticiální *myositis* (onemocnění svalové tkáně se známkami zánětu), s četným zastoupením eozinofilů a histiocytárních, lymfocytárních a plazmocytárních infiltrátů. Z ostatní orgánů je postižen myokard srdce. Zde se netvoří cysty. Larvy jsou buď zničeny, nebo se vracejí do oběhu (Despommier et al., 2005). Vznikají ložiskové infiltráty, složené z eozinofilů a mononukleárů, později vzniká difúzní eozinofilní myokarditida (zánět srdeční svaloviny), ložisková nebo intersticiální. V játrech nastává tuková degenerace. Změny v ledvinách postihují nejvíce kůru ledvinnou, kde je patrný edém. V plicích jsou přítomna hemoragická ložiska v průdušinkách a plicních sklípcích. V mozkových plenách dochází k hyperémii (překrvení) a k edémům. V bílé hmotě mozkové se kolem migrujících larev tvoří granulomatózní zánět (Bălescu et al., 2013).

## 2.6 Příznaky trichinelózy člověka

Inkubační doba se udává 5 až 25 dní. Příznaky trávicí soustavy jsou necharakteristické, objevují se zhruba jen u 10 % případů a mohou úzce souviset s jinou průběžnou nákazou, intoxikací alkoholem nebo s poruchami trávení. Časně abnormální příznaky působené trichinelovou enteritidou jsou průjem, nevolnost, zvracení nebo nucení na zvracení, břišní koliky. Závažnost průběhu nemoci závisí na intenzitě nákazy (Bălescu et al., 2013). Méně než 1 larva na 1 g svalové tkáně nevyvolá příznaky. 1000 larev na 1 g je kritický počet. Průběh závisí též na stupni patogenity lokálních kmenů trichinel. Africké kmeny jsou méně virulentní než arktické (Dupouy-Camet et al., 2010).

Trichinózní syndrom během akutní svalové fáze obvykle začíná horečkou, ta u těžkých případů dosahuje 40 °C, zpravidla je remitentní, ale též kontinuální nebo intermitentní. Trvá několik dní až týdnů. Celkové příznaky připomínají chřipkové onemocnění. Na začátku svalové fáze spolu s horečkou se dostávají bolesti ve svalech, zejména při jejich stlačení. Postiženy jsou svaly okohybné, žvýkáci, jazyk, svaly interkostální, šíjové, zádové a flexory na končetinách (Dupouy-Camet et al., 2010). Nemocný dýchá povrchně, drží končetiny ve flexním postavení, pohyby mu činí potíže. Bývají zvětšeny mízní uzliny. Objevují se otoky v obličeji, edém postihující horní a dolní víčko a někdy celý obličej (Pozio et al., 2003). Na spojivce, v těžkých případech i v retině jsou patrné hemoragie (krvácení). Na trupu, končetinách a někdy na obličeji se objevuje červený hustý enantém (skvrnitě zarudnutí sliznice). Petechiální hemoragie se objevují též pod nehty (Murrel et al., 2006).



Obrázek 6 – Zdravotní komplikace v oblasti očí (Bordi et al., 2012)

Klinický stav nemocných odpovídá obrazu chronického únavového syndromu. Stav jsou spojeny s necharakteristickými záchvaty únavnosti, se změnami jaterních testů (CDC, 2012).

Komplikace jsou způsobeny jednak ektopickou migrací larev, jedna reakcemi přecitlivělosti. Další oční příznaky jsou světloplachost, nejasné vidění a bolest v bulbech. Neurologické a psychické symptomy se dostávají až u čtvrtiny nemocných. V migrační fázi je v popředí meningitida nebo encefalitida s nespecifickou symptomatologií, ve fázi opouzďování vznikají ložiskové cerebrální syndromy (Pozio et al., 2003; Jíra, 1998). Příznaky jsou bolesti hlavy, nespavost, neklid nebo apatie, ztráty části zorného pole, porucha řeči, anizokorie (rozdíly velikosti zornic), porucha kontrolování pohybů, snížení vnímání podnětů, různé typy ochrnutí a paralýz, halucinace až delirantní stavy. Při postižení míchy vznikají příznaky podobné poliomyelitidě, encefalomyelitidě nebo částečné příčné míšní lézi. Při postižení periferních nervů vznikají příznaky radikulární, parézy, polyneuropatie a oslabení nebo vymizení šlachových reflexorů (Feydy et al., 1996). Časté a velmi vážné jsou komplikace kardiovaskulární. Nejčastější příčinou smrti je myokarditida. Akutní srdeční selhání nastává ve 3. – 6. týdnu nemoci. Pulmonálními komplikacemi jsou infiltráty na bázi plic nebo embolie, následkem nepohyblivosti nemocného se přidružuje bakteriální nákaza. Kritický je konec svalové fáze ve 3. - 4. týdnu onemocnění, kdy se larvy encystují. Nemocný je většinou fyzicky slabý, je dehydratován, trpí nespavostí, bolestmi hlavy, depresi, je dezorientován. Bývají přítomny známky poškození jater. Rekonvalescence je dlouhá, šest měsíců i déle (Jíra, 1998; CDC, 2012).

## 2.7 Klinické příznaky trichinelózy zvířat

U zvířat, pokud je infekce cca do 100 cyst, nelze rozpoznat nakažený kus, což může být pro zařazení zvířete do potravinového řetězce kritické. Pokud počty cyst nabývají tisícových hodnot, dají se u zvířat pozorovat jisté fyziologické změny. Zajímavou skutečností je, že příznaky se různí podle toho, zda je zvíře býložravec, nebo masožravec. V případě koní bývají nejčastěji problémy dýchací a pohybové. U masožravců naopak problémy s příjmem a trávením potravy, viděním a srdečními komplikacemi. Pro prasata náleží mezi typické příznaky zpomalená až křečovitá chůze i problémy s polykáním potravy. U kočkovitých šelem nastávají po nákaze průjemy, zvracení, křeče. Dále otoky kolem očí a časté

srdeční komplikace. U koní se jedná o problémy s chůzí, dále probíhá eozinofilie (Mehlhorn, 2016).

## 2.8 Prevence trichinelózy

Dle CDC (2012) je nejlepším způsobem, jak zabránit vzplanutí trichinelózy, je potřeba povařit maso při dostatečné teplotě. K měření teploty se používá klasický potravinářský teploměr. Pro celé kusy masa (s výjimkou drůbeže a volně žijící zvěře) je doporučena teplota alespoň 63 °C v nejsilnější části masa, po dobu 3 minut. Pro mleté maso a maso volně žijící zvěře je doporučena teplota 71 °C po dobu 3 minut. Pro drůbež je ideální teplota minimálně 74 °C (2012).

Solení, sušení, uzení či ohřívání masa v mikrovlnné troubě nemusí vždy infekční larvy usmrtit. Je velmi dobře známo, že tradiční uzené, sušené pochoutky z vepřového masa byly důvodem velkých epidemií (chorizo ze Španělska, viz Historie trichinelózy). Dalším důležitým bodem prevence trichinelózy je důkladné sterilizace nástrojů (nože, nádoby, mlýnky na maso) a pracovní plochy. Mražení masa volně žijící zvěře nemusí také vždy všechny hlístice zabít, proto se jako eliminační metoda nedoporučuje (CDC 2012).

Jako prevenci můžeme také brát zamezení kontaktu domácích zvířat s možnými zdroji infekce (volně žijící zvěř, synantropní zvěř). Zamezit domácím zvířatům jakémukoliv pozření nevařeného masa, zbytků a zdechlin zvěře.

## 2.9 Diagnostika trichinelózy

Diagnostika nebývá snadná, neboť trichinelózu lze zaměnit s mnoha jinými chorobami, či banálními otravami z jídla. Je typická pro svou pestrost příznaků, zejména při sporadickém výskytu. Ve fázi dospělců ve střevech přichází v úvahu hned několik možností záměn jako třeba otrava z jídla, alergie na potraviny, stresové nevolnosti. Při svalové fázi přichází v úvahu řada virových onemocnění, chřipky, revmatická horečka. Kožní projevy se dají zaměnit s alergiemi, ekzémy a jinými kožními onemocněními. Neurologické komplikace mohou připomínat encefalitidy a neuritidy (Murriel et al.,2011).

Larvy trichinel se dají prokázat v periferní krvi, bioptických vzorcích ze svalové tkáně, při trávící metodě, sérologickými vyšetřeními, latexový test a ELISA.

## Diagnostické metody

Diagnostické metody můžeme rozdělit do dvou skupin. Jednou skupinou jsou metody přímé, které jsou založeny na přímé detekci a identifikaci parazita. Druhou skupinou jsou metody nepřímé – sérologické, u kterých jde o detekci protilátek specifických pro určitého parazita. Maso, pozitivní na nález trichinel musí být neprodleně vyloučeno z lidské i zvířecí potřeby. V případě úmyslného i umístění nakaženého masa do potravinářského průmyslu z nedbalosti hrozí vysoké postihy. Proto se tedy klade důraz na preciznost vyšetření a volí se vždy nespolehlivější cesta (Chroust et al., 2011).

## Přímé metody

### Trichinoskopie

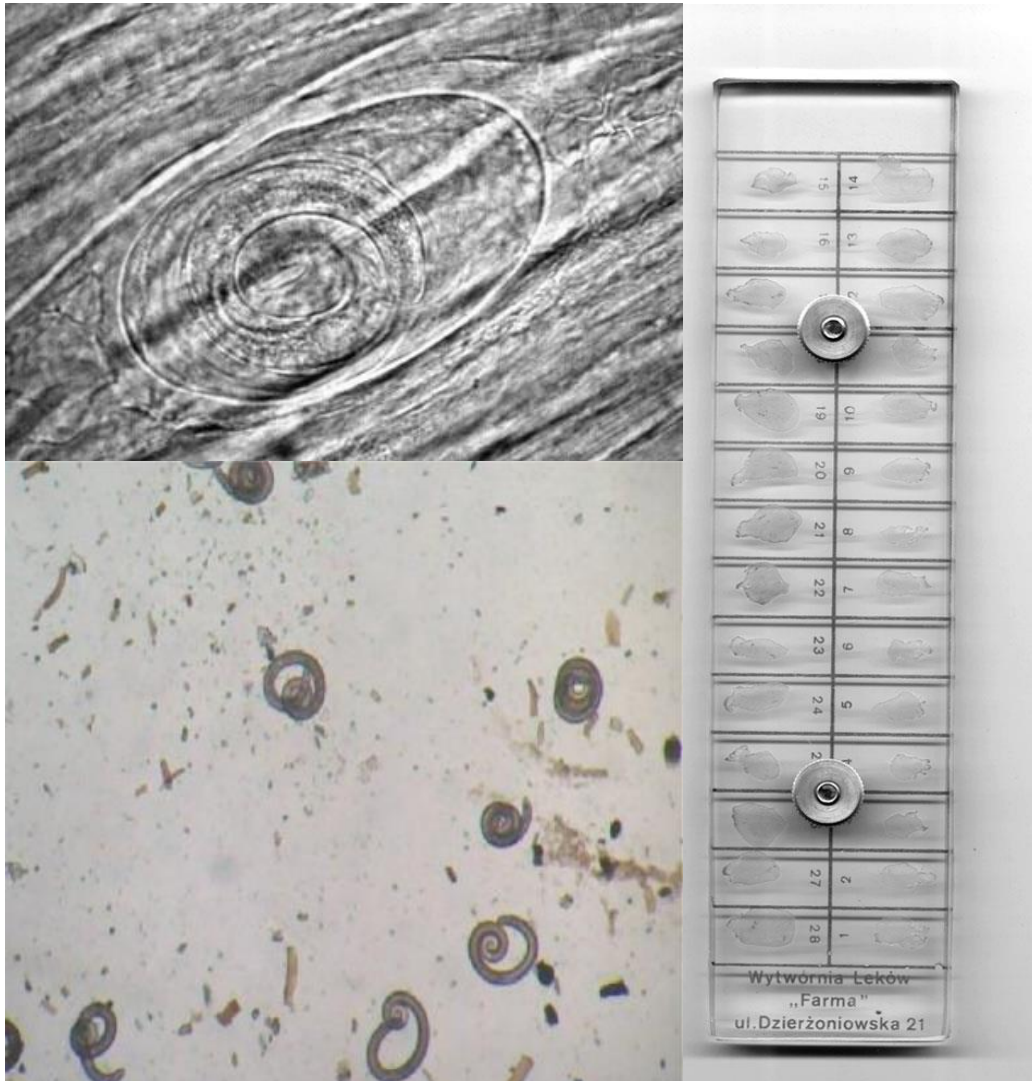
Při vyšetřování prasete se odeberou vzorky o velikosti cca 1 cm z obou bráničních pilířů, dále případně jazyka, svaloviny čelisti, zadní kýty, z těchto se vyřízne sedm částí velikosti obilného zrna. Částice svalstva vložíme do kompresoria, viz obr. 8, kde se roztlačí mezi dvě speciální trichinoskopická skla, která se pomocí šroubů stlačí k sobě. Následně se prohlédnou pod mikroskopem při zvětšení objektivu 30-40krát. V pozitivním případě pozorujeme opouzdřené, či neopouzdřené larvy. Tato metoda se příliš nepoužívá, vzhledem k její nízké sensitivitě. Navíc je i náročná na velikost vzorku, který by byl zapotřebí ohledat, aby bylo možné nákazu 100% vyloučit. V ČR je povoleno pouze pro vyšetřování vzorků z volně žijících zvířat, jejichž těla jsou určena konečným spotřebitelům (Jíra, 1998).

### Metoda polymerázové řetězové reakce

PCR (Polymerase Chain Reaction) je velmi citlivá a spolehlivá metoda pro prokázání specifické dna. Pro rutinní vyšetřování svaloviny se nepoužívá, má převážně význam při laboratorních detekcích a zkoumáním jednotlivých druhů trichinel (Tantrawatpan et al., 2012). Princip metody spočívá v zmnožení velkého množství úseků DNA za pomoci klasické replikace nukleonových kyselin, které



jsou na okrajích označeny primery. Samotný proces denaturalizace, nasednutí primerů a následné syntéze nového vlákna je velmi složitý, je opakován asi 30x. Důsledkem procesu dochází vzhledem ke komplementaritě bází nukleových kyselin k namnožení cílové nukleové kyseliny parazita. Následná přítomnost nukleové kyseliny je dokázána například elektroforézou.



Obrázek 7 – Vlevo nahoře - Larva *Trichinella spiralis* v nativním preparátu (Koudela, 2001); Vlevo dole – Pozitivní nález larev trichinel na Petriho misce (Borji, 2012); Vpravo - Kompresorium pro vyšetřování svaloviny kompresní metodou (Koudela, 2001).

## Trávící metoda

Princip metody je založen na co nejpřesnějším vytvoření vnitřního prostředí žaludku hostitele. Dochází tedy ke zmatení parazita, jehož pouzdro je rozrušeno vlivem trávících šťáv a kyseliny chlorovodíkové, aktivující pepsin z neaktivního pepsinogenu. Dochází k úplnému narušení pouzdra a larva by tak měla postoupit do tenkého střeva.

Metoda je nejcitlivější v případě čerstvých vzorků, u mraženého masa, či u svaloviny v rozkladu je metoda méně účinná. Velmi také záleží na množství svaloviny a na místě odběru. Účinnost testu se zvyšuje s množstvím testované svaloviny, viz obr. 8 (Koudela, 2011).

Dle Nařízení komise (ES) č. 2075/2005 odebrání vzorků masa pro trávící metodu je systematické v rámci veterinární prohlídky na jatkách. Vyšetřování probíhá na každém kusu poraženého zvířete, přičemž hmotnost všech vzorků je 100 g, větší množství neškodí a může zvýšit její účinnost vyšetřování. Množství a místo odběru vzorků se liší podle stáří a druhu testovaného zvířete. U zmrazených či částečně rozložených vzorků masa musí dojít k odběru minimálně 5 g příčně pruhované svaloviny z jednoho kusu zvířete.

U domácích prasat ve výkrmu se odebrá 1 g z bráničního pilíře u přechodu do šlachovité části. U chovných prasnic a kanců se odebírají 2 g z bráničního pilíře u přechodu do šlachovité části – je možné nahradit dvojnásobným množstvím ze žvýkacího svalu, svalu jazyka, žeberní části bránice, břišními svaly.

U koní musí mít vzorky nejméně 10 g. Místo odběru je nejčastěji ze svalu jazyka, žvýkacího svalstva, nebo z bráničního pilíře u přechodu do šlachovité části.

Prasatům divokým se berou vzorky nejméně o hmotnosti 10 g. Místa odběru jsou: přední končetina, jazyk nebo bránice. Vzorky masa je nutné zbavit pojivových tkání, tuku, případně sliznic, u kterých by mohlo být omezeno trávení. Následně dochází ke smíchání vzorků a promletí na velikost 3 mm.

Jatečná těla mohou být následně označena značkou zdravotní nezávadnosti a mohou být umístěna do chladíren. Musí zde zůstat a nesmí být vypuštěna do

potravinářského průmyslu do té doby, než laboratorní vyšetření potvrdí negativitu vyšetřených vzorků. Zákon dále umožňuje bourat těla v teplém stavu na nejvýše 6 částí, za předpokladu že kusy neopustí potravinářský podnik, do té doby než přijdou výsledky, viz příloha 1.

## Nepřímé metody

Nepřímé metody jsou založeny na detekci specifických protilátek typických pro daného parazita. Metody nejsou ideální pro individuální testování slovené a poražené zvěře. Často se používají pro epizootologické sledování, kdy podává informace o populacích. Velkou nevýhodou nepřímých metod je, že u zvířat může být zpožděná produkce specifických protilátek, tudíž může docházet k chybám u vyšetření „čerstvě“ infikovaných zvířat, jejichž protilátky jsou detekovatelné za 3 - 5 týdnů (Gottstein et al., 2009). Mezi nepřímé metody řadíme imunofluorescenční a ELISA metody.

## Imunofluorescenční metoda

Molekulární biologická metoda, při které se označí antigen či protilátka fluorescenčním barvivem. Metoda je založena komplementaritě bází, kdy se antigen či protilátka naváže na barvivem označenou sekvenci. Pod fluorescenčním mikroskopem poté hledaná frekvence svítí jasně žlutozeleným zbarvením. Tato metoda má význam převážně ve studování imunitou a patobiologií organismu (Despommier et al., 2005).

## ELISA

ELISA je jednou z nejpoužívanějších metod pro imunologické vyšetření, kde se zjišťují protilátky. Jde o analytickou metodu, která se používá kvantitativnímu stanovení antigenů. Je založena na specifické interakci antigenu a protilátky. Na jeden z pólů je navázán enzym, který katalyzuje přeměnu substrátu na barevný

produkt. Následně se stanovuje spektrofotometricky, nebo fluorimetricky. Vzorek pro ELISA metodu je krevní sérum, nebo krev (Gamble & Patrascu, 1996).

## 2.10 Terapie

Při zjištění nákazy se pacientovi okamžitě podávají anthelmintika. Konkrétně mebendazol ve vysokých denních dávkách 1000 – 2000 mg/den po dobu až 14 dní. Tato léčba se doporučuje i profylakticky v inkubační době. Preparát působí na preadultní i adultní formy, na migrující i na svalové formy. Podle CDC (2012) účinkem léku larvy hynou a do pouzder penetrují fagocyty a nastává histologická úprava postižené tkáně. Během inkubační doby a na začátku akutního stadia se doporučují výplach žaludku a projímadla. Lze předpokládat odstranění částí samic a omezené produkce larev. Pokud není léčba zahájena během prvních dnů infekce, je dosti pravděpodobné a nutné léčbu opakovat (Pozio et al. 2003).

Jako tlumení sekundárních symptomů se užívá podpůrná léčba. V akutním svalovém stadiu mají kortikosteroidy protizánětlivý, protialergický a protišokový účinek. Obvykle 40 mg prednisonu. Léčení steroidními hormony je účelné během prvních 5-6 týdnů onemocnění. Podávání v příliš časně fázi může zvýšit produkci larev, v pozdní svalové fázi se narušuje proces opouzdření larev, což vede ke tvorbě zánětlivých infiltrátů a k chronické myositis. V přírodní medicíně se často uplatňuje doplňování střevní mikroflóry za pomoci probiotik a prebiotik. Dále se mohou užívat prostředky s detoxikačními a antiparazitárními účinky. Vhodné je i v průběhu léčby posilovat imunitní systém, který je vlivem trichinel značně oslaben (Jíra 1998).

## 2.11 Historie nákazy v Evropě

Nemoc se zřejmě vyskytovala již u prehistorického člověka. Přenos byl vázán na způsob výživy, zřejmě tedy požíváním syrového, nebo polosyrového masa. Před sedmi tisíci lety došlo k domestikaci prasete domácího, což vedlo ke zvýšení rizika nákazy. Starozákonné a islámské zákazy požívání vepřového masa můžeme tedy označovat za první preventivní opatření před nákazou. Vůbec první nález parazita ve světě byl u mumifikovaného těla mladého Egyptana 1200 let před naším letopočtem. Parazita objevil v roce 1835 student medicíny J. Paget v Londýně (Jíra 1998).

*Trichinella spiralis* byla popsána poprvé v regionu Krasnodar Ruska v roce 1972. Původně nebylo jisté, zda byl původně izolován z mývala, nebo psíka mývalovitého. Nicméně, v roce 2005, B. L. Garkavi potvrdil, že parazit byl izolován z mývala. Vzhledem k absenci kolagenové kapsle kolem larvy *T. pseudospiralis* v hostitelské svalů, je její identifikace pomocí trichinoskopie téměř nemožná (Gottstein et al., 2009). V důsledku tohoto, není mnoho zpráv o tomto nezapouzdřeném druhu u zvířat. Pouze rostoucí využívání testu trávící metody místo trichinoskopie, umožnila detekci *T. pseudospiralis* po celém světě.

V zemích západní Evropy je výskyt trichinelózy nulový nebo v malých epidemiích. Ve Finsku, Dánsku, Holandsku, Rakousku a Švýcarsku je výskyt ojedinělý nebo neznámý. V Anglii je známa epidemie s 82 případy a s dvěma úmrtími. Zdrojem nákazy byly zřejmě špatně tepelně opracované klobásy.

V Irsku propukla velká epidemie krátce po druhé světové válce mezi německými zajatci, kde se zde nakazilo 750 mužů požitím syrové klobásy (Jíra, 1998). Strážníci, kteří jedli klobásy uvažené se nenakazili.

V Německu byla frekvence do roku 1930, kdy byla zavedena kontrola jatečných zvířat, byla frekvence případů kolem 450 ročně. Téhož roku byla zaznamenána epidemie s 88 nakaženými a 10 úmrtími po požití medvědího masa. Během války byla zaznamenána nákaza 670 vojáků na frontě v Norsku. Od roku 1949 do 1977 bylo v Německu zaznamenáno pět větších epidemií s celkovým počtem

nakažených více než 800 jedinců. Ve Švédsku od roku 1944 do roku 1961 bylo zaznamenáno okolo 400 případů. (Jíra, 1998; Gottstein et al., 2009).

Ve Francii byla zaznamenána epidemie roku 1979 na předměstí Paříže u 230 osob. Další epidemie byla v Provence v roce 1985, kde se infikovalo 64 lidí pozřením koňského masa. Roku 1985 z Paříže a Melunu s 431 případy onemocnění. V Itálii bylo od roku 1900 do roku 1978 popsáno 450 případů, z toho 22 bylo smrtelných (Mantovani et al., 1980). Za většinou případů stálo syrové koňské maso, které je v této oblasti tradičně servírováno syrové. Koně se zde pravděpodobně nakazili náhodným pozřením mršiny či živého hlodavce.

Ve Španělsku bylo v letech 1948 - 1978 kolem 3000 případů. Nákaza zde byla vážným problémem, protože zde docházelo k požívání syrového vepřového masa jako pochoutky zvané „chorizo“. V roce 1982 vznikla epidemie a postihla pět provincií, přičemž bylo nakaženo 452 osob. Mezi lety 1980-1989 bylo registrováno 987 případů. Do roku 1994 bylo zaznamenáno dalších 27 epidemií s 441 nakaženými (Gallardo et al., 2007).

V Polsku byla nákaza donedávna vážným problémem. V letech 1946-1965 tu bylo zaznamenáno 11 650 případů. Největší známou epidemií je epidemie v Mosině roku 1960, kdy bylo postiženo 1120 osob. Jedna z epidemií po roce 1981 byla pravděpodobně způsobena nutriím masem. Na území Ruska bylo v letech 1946-1967 ohlášeno 12 tisíc případů, což jistě úzce souviselo se sociálními a ekonomickými problémy. Tentýž problém nastal na Balkánu, avšak nejsou zde dostupné žádné informace (Jíra, 1998; Sadkowska-Todys et al., 2007).

Na Slovensku v letech 1933-1971 bylo zaznamenáno sedm epidemií o celkovém počtu nakažených pouze 110 osob. Další větší epidemie propukla roku 1980 v okrese Bardějov, kde postihla 47 konzumentů klobás z divokého prasete. V roce 1998 proběhla velmi známá epidemie v obci Valaská u Brezna. Mezi lety 1986-1992 bylo registrováno 83 případů. Původcem byly klobásy připravené z vepřového a psího masa. Nakaženo bylo 336 osob. Místní tradice ochutnávání klobás vedla k velkému množství nakažených v malém ohnisku. Postiženo bylo 291 mužů a 45 žen. Ke ztrátě na životech došlo u dvou těhotných žen, které

potratily (Paraličová et al., 2009). Řada mužů uváděla, že po požití alkoholu byly příznaky nákazy utlumeny. Na území České republiky je nejvíce známa první epidemie roku 1865 ve Frýdlantu. Po požití vepřového masa onemocnělo 35 lidí. Za posledních 100 let bylo v České republice monitorováno 19 epidemií, při kterých bylo nakaženo přes 1000 osob, z nichž 50 na následky choroby zemřelo (Chroust et al., 2010; Koudela et al., 2011).

### 3 Cíl práce

Bakalářská práce byla v první části zaměřena na studium druhového zastoupení trichinel *T. spiralis* a *T. pseudospiralis*, dále na cykly parazita v přírodě, průběh a klinické příznaky trichinelózy člověka a zvířat, na prevenci a diagnostické metody.

V další části byl prováděn monitoring trichinel a sledována prevalence, s využití databází SVS ČR, SZÚ Praha (EPIDAT) a ECDC pro Evropskou Unii v letech 2007 – 2015.



#### 4 Materiál a metodika práce

V úvodní části z literárních vědeckých databází (Web of Knowledge, Scopus, Springer Link aj.) a monografií (Ebrary) byly získávány vědecké informace týkající se morfologické charakteristiky obou druhů hlístic rodu *Trichinella* a dále zdrojů a cest přenosu z volně žijících masožravců a všežravců (např. liška, prase divoké, jezevec) na člověka a klinických příznaků této zoonózy člověka a zvířat.

V metodické části za pomoci dat z databází ECDC, SZÚ v Praze (EPIDAT), SVS ČR byl monitorován výskyt trichinelózy člověka a zvířat z let 2007-2015 ve státech Evropské unie. Získané výsledky sloužily jako materiál k analýze a diskuzi jednotlivých ohnisek epidemií, častých míst výskytu, dále možné závislosti mezi vyspělostí, kulturními zvyky a množstvím nakažených mezi lety 2007 – 2015 (za pomoci vědeckých databází Web of Knowledge, Scopus, Springer link aj.). U jednotlivých případů byl sledován způsob přenosu, zdroje trichinel a cesty šíření trichinel u člověka a zvířat.

U podezřelých kusů zvířat byla pomocí závazných metodických postupů (dle Nařízení komise (ES) č. 2075/2005, kterým se stanoví zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase, v platném znění, sledována vitalita larev trichinel získaných ze svaloviny slovené zvěře, ve spolupráci se Státními veterinárními ústavy.

## 5 Výsledky

### 5.1.1 Trichinelóza člověka v letech 2007-2015

Pro boj proti infekčním nemocem člověka bylo založeno roku 2004 Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC, Švédsko). Hlavním cílem této nezávislé agentury je analyzovat a následně interpretovat údaje ze členských států Evropské unie. Dále poskytovat vědecké poradenství, pomáhat státům připravovat se na propuknutí epidemií a zajišťovat včasnou detekci a analýzu nově vznikajících hrozeb pro Evropskou Unii.

Za pomoci dat z této agentury byly získány informace o počtu nakažených ve státech Evropské unie. Získaná data byla použita pro sestavení tabulek a grafů a získání prevalence pro jednotlivé státy Evropské unie mezi lety 2007-2015.

#### 5.1.1.1 Počty nakažených osob ve státech EU v letech 2007-2015

Dle ECDC bylo mezi lety 2007-2015 ve státech Evropské unie hlášeno 3697 případů trichinelózy člověka. 2207 případů bylo hlášeno v letech 2007-2009, od roku 2010 počet nakažených klesl na průměrných 248 případů za rok, viz GRAF 1. Nejméně případů (158) bylo registrováno v roce 2015. Od roku 2007 do roku 2015 klesl počet případů za rok na pětinu.

Ze sledovaného období bylo 52 % případů původem z Rumunska, kde bylo hlášeno 1930 případů. Původem z Bulharska bylo 20 % (725 případů), viz GRAF 2. V Polsku bylo zaznamenáno 275 případů, z toho bylo 217 hlášeno v roce 2007. V Maďarsku mezi lety 2007-2009 bylo registrováno 16 případů, od roku 2010 nebyl dle ECDC hlášen žádný případ.

V Baltských státech bylo registrováno 364 případů, v Litvě 225, v Lotyšsku 137, zatímco v Estonsku pouze dva. V Litvě a Lotyšsku na rozdíl od ostatních států počet nakažených neklesal od počátku sledovaného období, ale největší nárůst případů byl registrován v letech 2010 – 2012.

Ve Španělsku bylo hlášeno 135 případů, nedocházelo k velkým výkyvům hlášení. Počet nakažených osob za rok se pohyboval mezi 1 - 36. Nejvíce, 36 případů, bylo zaznamenáno v roce 2007.

V Itálii bylo za sledované období hlášeno 81 infikovaných osob. V letech 2008, 2010 a 2013 nebyl hlášen žádný případ. Nejvíce nakažených bylo v roce 2012 (33) a v roce 2015 (36 osob).

Chorvatsko vstoupilo do Evropské unie v roce 2013, tudíž jsou dostupná pouze data mezi lety 2013 - 2015, kdy bylo hlášeno 6 případů.

V Německu bylo registrováno 38 pozitivních případů, přičemž nejvíce (13 osob) jich bylo hlášeno v roce 2013. Ve Francii bylo registrováno 18 nakažených, z toho 13 bylo do roku 2009, později od roku 2010 bylo zaznamenáno pouze pět případů.

V Belgii bylo za sledované období hlášeno celkem 28 případů, z nichž byla polovina nahlášena v roce 2014.

Na Slovensku bylo hlášeno 52 případů trichinelózy, přičemž nejvíce jich bylo zaznamenáno v roce 2008 a 2011. Oproti tomu, v České republice, dle ECDC byl hlášen pouze jediný případ v roce 2012. Dle databáze SZÚ Praha (EPIDAT), byly registrovány další dva případy v roce 2014.

V ostatních státech Evropské unie bylo registrováno 28 případů, viz Tab. 1 (označené hvězdičkou). V žádném z těchto států nebyla hranice vyšší než šest případů.

Nejvyšší prevalence trichinelózy ve sledovaném období byla hlášena v Bulharsku, kdy dosáhla 0,01 %, viz Tab. 2. Vysoké hodnoty byly též sledovány v Rumunsku (0,0097 %) a Litvě (0,0077 %). V České republice byla prevalence téměř zanedbatelná.

Tabulka 1 Přehled trichinelózy člověka v letech 2007-2015 ve státech EU (dle ECDC)

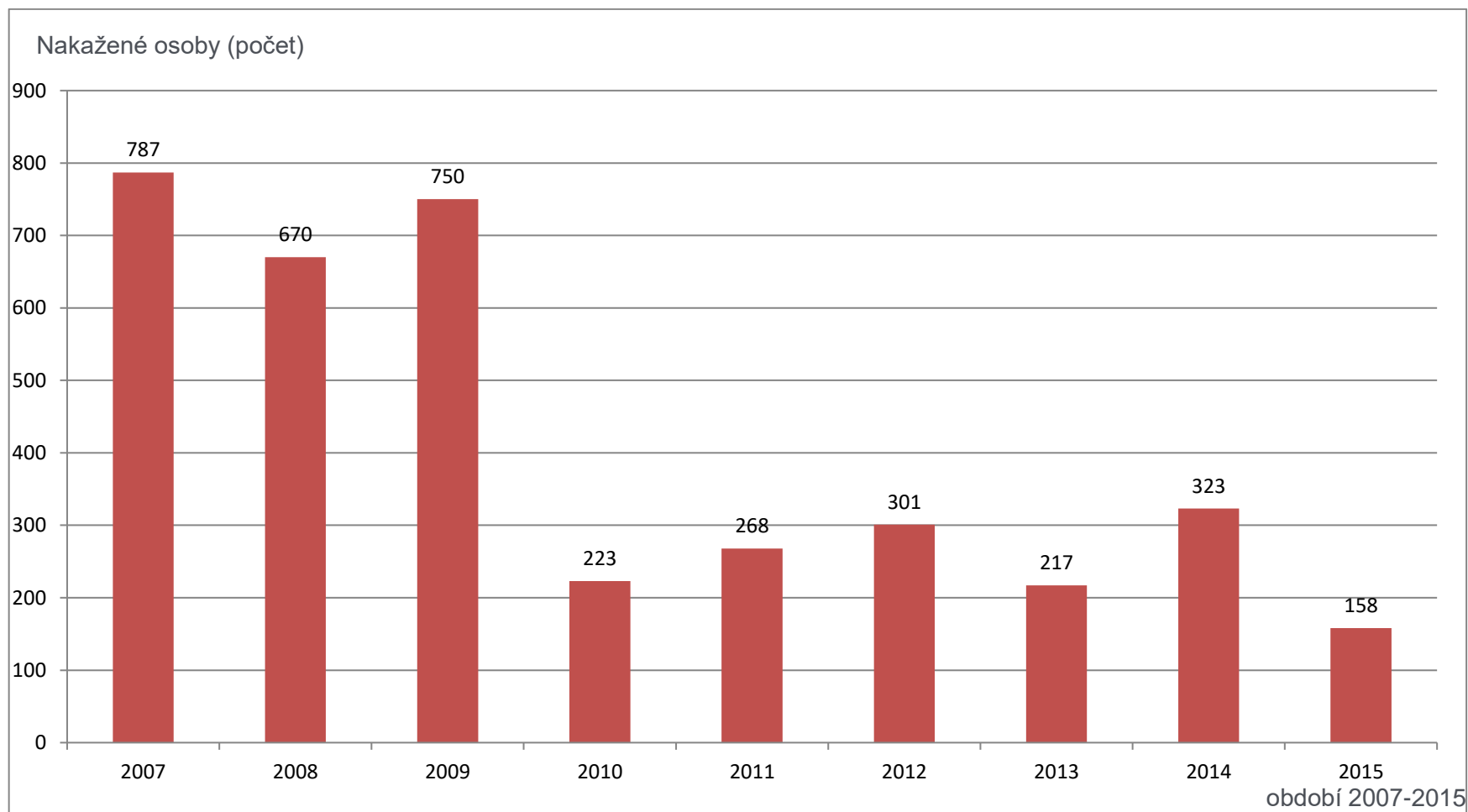
Země Evropské unie	Procentuální podíl (%), (počet nakažených osob)									Celkový počet nakažených za období 2007 - 2015
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	
Belgie	0,4 (3)	0,7(5)	0(0)	1,3(3)	0(0)	0(0)	0,5(1)	5,0(16)	0(0)	28
Bulharsko	7,9(62)	10,0(67)	54,3(407)	6,3(14)	10,1(27)	10,0(30)	16,6(36)	18,6(60)	13,9(22)	725
Francie	0,1(1)	0,4(3)	1,2(9)	0(0)	0,7(2)	0(0)	0(0)	0(0)	1,9(3)	18
Itálie	0,1(1)	0(0)	0,1(1)	0(0)	2,2(6)	11,0(33)	0(0)	1,2(4)	22,8(36)	81
Irsko*	0,3(2)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2
Litva	1,0(8)	4,6(31)	2,7(20)	34,5(77)	10,8(29)	9,3(28)	2,8(6)	1,5(5)	13,3(21)	225
Lotyšsko	0,5(4)	0,6(4)	1,2(9)	4,0(9)	18,7(50)	13,6(41)	5,1(11)	1,5(5)	2,5(4)	137
Maďarsko	0,3(2)	0,7(5)	1,2(9)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	16
Německo	1,3(10)	0,1(1)	0,1(1)	1,3(3)	1,1(3)	0,7(2)	6,5(14)	0,3(1)	1,9(3)	38
Polsko	27,6(217)	0,6(4)	2,4(18)	6,3(14)	3,7(10)	0,3(1)	1,8(4)	1,9(6)	0,6(1)	275
Slovensko	1,0(8)	2,7(18)	0(0)	0,9(2)	4,9(13)	1,7(5)	2,3(5)	0(0)	0,6(1)	52
Slovinsko*	0(0)	0,1(1)	0,1(1)	0(0)	0,4(1)	0,3(1)	0,5(1)	0(0)	0(0)	5
Španělsko	4,6(36)	4,0(27)	0,9(7)	4,5(10)	6,7(18)	3,3(10)	10,6(23)	0,3(1)	1,9(3)	135
Švédsko*	0,1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,9(3)	4
Rumunsko	54,9(432)	75,1(503)	35,3(265)	36,8(82)	39,9(107)	49,5(149)	53,5(116)	68,4(221)	34,8(55)	1930
Nizozemsko*	0(0)	0,1(1)	0,1(1)	0(0)	0,4(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3
Řecko*	0(0)	0(0)	0,2(2)	1,8(4)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6
Rakousko*	0(0)	0(0)	0(0)	2,2(5)	0,4(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6
Česká republika	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0,3(1)	0(0)	0(0)	0(0)	1
Spojené království*	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0,3(1)	0(0)	1
Finsko*	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0,6(1)	1
Estonsko	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,3(2)	2
Počet hlášených případů za rok	787	670	750	223	268	301	217	320	155	

Zdroj dat ECDC (2017) available at <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/trichinellosis/Pages/index.aspx>

(Tichý, 2017)

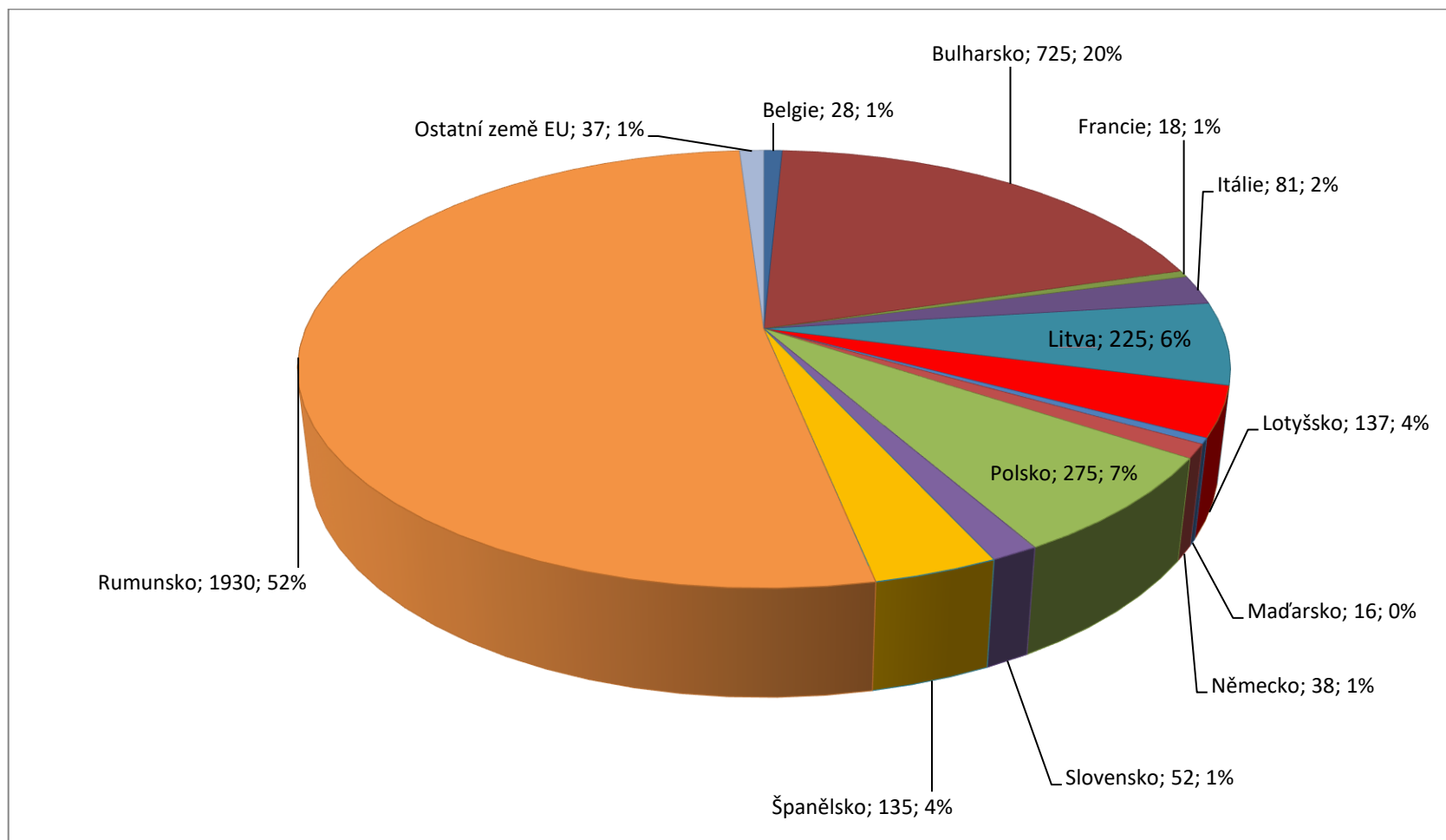
\* ostatní státy

GRAF 1 Celkový počet nakažených lidí trichinelózou ve státech EU v letech 2007-2015 (dle ECDC)



Zdroj dat: (ECDC, 2017) available at: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/trichinellosis/Pages/index.aspx> (Tichý, 2017)

GRAF 2 Počet nakažených lidí trichinelózou v jednotlivých státech Evropské unie za období 2007 – 2015 (dle ECDC)



Zdroj dat: (ECDC, 2017) available at: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/trichinellosis/Pages/index.aspx>

(Tichý, 2017)

Tabulka 2 Prevalence vybraných zemí Evropské unie v letech 2007-2015 dle ECDC a EPIDAT

Země	Nahlášené případy*	Počet obyvatel**	Prevalence trichinelóza***(%)
Bulharsko	725	7 185 000	0,0100%
Litva	225	2 906 000	0,0077%
Lotyšsko	137	9 651 000	0,0069%
Polsko	275	38 494 000	0,0007%
Španělsko	135	46 423 000	0,0003%
Slovensko	52	5 426 000	0,0010%
Rumunsko	1930	19 822 000	0,0097%
Itálie	81	60 963 000	0,0001%
Česká republika	3	10 535 000	0,00001%

\*Zdroj dat (ECDC, 2017)

\*\* Zdroj dat počet obyvatel v roce 2015 [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)

\*\*\*Prevalence – (nahlášené případy/počet obyvatel ) \* 100

(Tichý, 2017)

### 5.1.1.2 Trichinelóza divokých prasat v ČR za léta 2007-2015

Ve spolupráci se Státní veterinární správou České republiky byly získány informace týkající se pozitivních nálezů trichinelózy na území ČR.

V letech 2007 – 2015 bylo zaznamenáno 10 případů trichinelózy. V 90 % případů bylo nakaženým zvířetem divoké prase. V jednom případě se jednalo o jezevce. Mezi lety 2007 – 2009 nebyl hlášen žádný pozitivní nález. V letech 2012 a 2014 také nebyly potvrzeny nálezy trichinel.

Polovina všech případů byla hlášena v Moravskoslezském kraji, viz tab.3. V roce 2010 byla trichinelóza prokázána u jezevce v obci Mosty u Jablunkova. Další čtyři případy byly zjištěny v okolí Frýdku-Místku v letech 2013 a 2015 a u černé zvěře.

Druhý nejčtenější výskyt byl hlášen v Pardubickém kraji, a to ve třech případech v letech 2010 a 2011 v oblasti Ústí nad Orlicí, opět u černé zvěře.

Jeden případ byl hlášen z Plzeňského kraje (2013). Jednalo se o oblast Domažlicka a nález byl zjištěn u černé zvěře.

Poslední případ byl ze Zlínského kraje z roku 2013, kdy byla nakažena černá zvěř z oblasti Jankovic u Holešova.



Tabulka 3 Přehled trichinelózy zvířat v České republice v letech 2007 - 2015

	Rok	Místo nálezu	infikované zvíře (druh)	Zdroj
1.	2007		bez nálezu	
2.	2008		bez nálezu	
3.	2009		bez nálezu	
4.	2010	Ústí nad Orlicí (Pardubický kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	Koudela B, (2011)
5.	2010	Mosty u Jablunkova (Moravskoslez. k.)	Jezevec ( <i>Meles meles</i> )	SVS ČR, 2017 databáze
6.	2011	Ústí nad Orlicí (Pardubický kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	Koudela B, (2011)
7.	2011	Ústí nad Orlicí (Pardubický kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	Koudela B, (2011)
8.	2013	Frýdek-Místek (Moravskoslezský kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	Duben J, SVS ČR (2013)
9.	2013	Domažlicko (Plzeňský kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	Bílý R, KVS Plzeň (2013)
10.	2013	Jankovice u Holešova (Zlínský kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	Duben J, SVS ČR (2013)
11.	2013	Frýdek-Místek (Moravskoslezský kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	SVS ČR, 2017 databáze
12.	2015	Frýdek-Místek (Moravskoslezský kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	SVS ČR, 2017 databáze
13.	2015	Frýdek-Místek (Moravskoslezský kraj)	černá zvěř ( <i>Sus scrofa</i> )	SVS ČR, 2017 databáze

(Tichý, 2017)



## 6 Diskuze

### 6.1.1 Trichinelóza člověka v letech 2007-2015

S pomocí dat z agentury ECDC byla z vědeckých článků databází Web of Science, Springer, Scopus, analyzována a diskutována ohniska epidemií, častá místa výskytu, dále možné závislosti mezi vyspělostí, kulturními zvyky místní populace a množstvím nakažených v letech 2007 až 2015.

#### 6.1.1.1 Belgie, Nizozemsko

Ve státech Beneluxu bylo nahlášeno 31 případů, z toho 28 z Belgie a tři z Nizozemska. Zajímavým případem byl 69letý nizozemský senior, který měl spolu s manželkou vykazovat příznaky typické pro trichinelózu. Po podání anthelmintik se oba pacienti zotavili. Po sestavení jídelníčku, v délce dvou měsíců, nebyl prokázán žádný zdroj nákazy. Možný zdroj infekce ze zahraničí, ten byl vyloučen. Vystala otázka, jak a odkud došlo k nakažení, když v letech 2002 až 2010 byla všechna poražená prasata negativní na přítomnost trichinel (Giessen et al., 2013). V roce 2014 byla u 16 osob pomocí sérologických testů zjištěna *T. spiralis*. Zdrojem infekce bylo pravděpodobně maso prasete divokého, které bylo servírováno v restauracích v belgických provinciích Limburg a Antverpách. Provedené šetření vedlo k dodavateli masa, původem ze severovýchodního Španělska. Následná laboratorní vyšetření neprokázala přítomnost larev (Messiaen et al., 2014). Lze tedy usuzovat, že možnost nákazy v zemích Beneluxu, vzhledem k absenci larev ve vyšetřovaných kadáverech, byla velmi nízká. Zdrojem nákazy tak mohlo být nevyšetřené maso po jatečné domácí porážce nebo slovení černé zvěře, které pocházelo z jiné země.

#### 6. 1. 1. 2 Litva, Lotyšsko, Estonsko

U Baltských zemí byl zaznamenán dramatický nárůst onemocnění po roce 1997. Do té doby bylo zaznamenáno pouze několik stovek případů infikovaných jedinců, dokonce i s následky úmrtí. Zvýšená prevalence trichinelózy člověka se shodovala s podstatným nárůstem nálezů trichinel u prasat domácích a divoké

zvěře, avšak epidemiologická situace značně kolísala, pokud bylo provedeno srovnání mezi těmito třemi zeměmi (Malakauskas et al., 2013). Dle ECDC (2017) bylo v letech 2007 až 2015 nahlášeno 364 případů, kdy nejvyšší prevalence 0,0077 %, ve sledovaném období 2007 – 2015, byla hlášena v Litvě. Bylo zde registrováno 225 případů, zatímco v Lotyšsku 137, avšak v Estonsku pouze dva. Většina případů pocházela z vepřového masa, od prasat chovaných na malých, rodinných farmách, často bez provedené veterinární kontroly (Malakauskas et al., 2013).

#### 6.1.1.3 Norsko, Švédsko, Finsko, Spojené království a Irsko

V zemích Skandinávského poloostrova nebyla historicky a není ani dnes trichinelóza častým onemocněním. Od roku 2007 bylo hlášeno pouze pět případů nakažených lidí; čtyři ze Švédska a jeden z Finska. Totožný stav byl hlášen ve Spojeném království Velké Británie a Severního Irska; s jedním hlášeným případem nákazy (databáze ECDC, 2017). V Irsku byly potvrzeny dva případy nakažených lidí během roku 2007. Health Protection Surveillance Centre potvrdilo, že zdrojem infekce bylo zřejmě maso z dovozu (FSAI, 2017).

#### 6.1.1.4 Francie

Ve Francii došlo k výraznému zlepšení nakažové situace, a to i z historického pohledu, neboť za období 1975 – 2007 bylo zaznamenáno 2484 infekcí. Většina případových studií úzce souvisela s konzumací koňského masa, především v letech 1979 - 1998. V současné době je trichinelóza ve Francii velmi dobře kontrolována. Podle hlášení ECDC došlo od roku 2007 do současnosti ke vzplanutí infekce jen v 18 případech, kdy ve většině případů došlo k infekci masem z dovozu. Autor Ruetsch (2016) popsal poslední případy z roku 2015, kdy došlo k nakažení tří osob po konzumaci „figatelli“, speciálního druhu klobásy, zaslané poštou z Korsiky do Francie.

#### 6.1.1.5 Rakousko, Německo

Pokud byly zjištěny epidemie v těchto zemích, vznikly díky konzumaci masa z dovozu, obdobně jako bylo výše popsáno ve Francii. Avšak díky přísnému dodržování preventivních opatření docházelo ke vzniku infekcí z místních zdrojů jen zřídka. Vzhledem k tomu, že do těchto zemí migrují lidé z rozvojových zemí, často mohou být infikováni ze zemí svého původu. V Rakousku, dle ECDC, bylo v letech 2010 - 2011 hlášeno pouze šest případů. V roce 2010 byl v Rakousku hospitalizován 54letý muž se synem z Bosny, s příznaky typickými pro trichinelózu. Po sérologických a epidemiologických šetřeních bylo zjištěno, že se oba nakazili v Bosně (Lechner et al., 2012). Výjimkou, potvrzující pravidlo, se stal případ z 27. března 2013. Během rutinní molekulární typizace objevila Národní referenční laboratoř pro svalovce (NRL-T) u kance, jehož maso bylo omylem prohlášeno za vhodné k lidské spotřebě, že osm kilogramů infikované svalové tkáně bylo použito ke zpracování 1050 uzenin a dalších 30 - 35 kilogramů bylo určeno k prodeji, k přímé konzumaci. Po následném hlášení a šetření bylo 101 osob dotazováno a následně 71 osob sérologicky vyšetřeno. Protilátky byly zjištěny jen u 21 osob; ve 14 případech se trichinelóza potvrdila a následně byla úspěšně vyléčena (Faber et al., 2015).

#### 6.1.1.6 Řecko, Itálie, Španělsko

V Řecku byl výskyt trichinelózy téměř mizivý, v letech 2007 - 2015 nebyla v Řecku hlášená jiná epidemie. Pouze v roce 2009 proběhlo rutinní testování na přítomnost larev trichinel. Z celkového počtu 826 426 kusů prasat byly pozitivní pouze dva vzorky. Znepokojující skutečností však bylo, že jeden z těchto pozitivních případů měl spojitost s pěti nakaženými jedinci. Jednalo se o rodinu, která konzumovala nedostatečně tepelně upravené maso z prasete chovaného ve volném výběhu (Papatsiros et al., 2012).

V Itálii bylo hlášeno do databáze ECDC celkem 81 případů. Tzv. kančí maso, z prasete divokého, bylo v Itálii častým zdrojem infekce, aniž by procházelo veterinární prohlídkou. V listopadu 2012 byla zaznamenána rozsáhlá epidemie, kdy ve vesnici, v provincii Lucca, se nakazilo 38 lidí z nedostatečně tepelně

opracovaných párků. Celkem 34 pacientů bylo sérologicky pozitivních (Fichi et al, 2014). V roce 2015 bylo hlášeno 36 případů ve více ohniscích. Převážně šlo o epidemie v rodinných kruzích, díky ilegálnímu lovu černé zvěře, pravděpodobně opět bez provedené veterinární kontroly (Turiac et al., 2017).

Ze zemí ve Středozevní oblasti, mělo nejvíce hlášených případů trichinelózy Španělsko, kdy bylo potvrzeno 135 případů (databáze ECDC, 2017). Významnou roli zde opět sehrávají místní zvyky a tradice, tedy konzumace španělské sušené klobásy „chorizo“, která stála za nejednou epidemií, a to nejen tam. V roce 2007 byla největší hlášenou epidemií, s 21 případy, přičemž jednou nakaženou osobou byl švédský student, pobývajícím střídavě ve Španělsku a doma, ve Švédsku. Epidemiologické šetření vedlo lékaře právě ke konzumaci této španělské speciality (Gallardo et al., 2007).

#### 6.1.1.7 Slovenská republika, Polsko, Slovinsko

Ve slovenských krajích došlo, oproti historii, ke značnému zlepšení nálezové situace týkající se trichinelózy, i když stále v období 2007-2015 bylo hlášeno do databáze ECDC 52 případů (ECDC, 2017). Nejčastějším zdrojem nákazy bylo maso černé zvěře (kančí maso), které se díky pytláctví a nezodpovědnosti obyvatelstva dostávalo do potravinového řetězce. Největší zaznamenaná epidemie byla v červenci roku 2008 na východním Slovensku. Zde bylo zdrojem nákazy maso z divokého prasete, které bylo bez veterinární kontroly servírováno na místní svatbě. Vzhledem k nespecifickým příznakům zúčastněných bylo všech 55 osob vyšetřeno, přičemž u 16 osob byl diagnosticky potvrzen nález trichinel (Paraličová et al., 2009).

V roce 2007 bylo v Polsku potvrzeno 217 případů parazitárního onemocnění. Zbývající případy se vyskytly v osmi ohniscích. Prevalence dosahovala 0,0007 %, jak vyplývá z tabulky 2. Největší epidemie byla způsobena konzumací syrové klobásy, která byla následně distribuována v mnoha obchodech v Západním Pomořansku. Několik případů souvisejících s tímto ohniskem bylo zaznamenáno v Irsku, Německu a Dánsku. Pouze jedno z ohnisek bylo způsobeno masem z prasete domácího, ostatní případy byly pocházely ze svaloviny prasete

divokého (Sadkowska-Todys et al.,2007). Za rok 2008 byly registrovány pouze čtyři případy (databáze ECDC, 2017). O rok později bylo registrováno 63 případů, z nichž 18 bylo potvrzeno. Nebyly zjištěny žádné případy úmrtí, avšak 65,5 % infikovaných jedinců bylo hospitalizováno. Dvě ze tří ohnisek vyvolala konzumace infikovaného masa z prasete divokého a v jednom případě pak pozření infikovaného masa z prasete domácího. Z případové studie vyplynulo, že většina vzplanutí onemocnění nastala v důsledku absence informací o problematice trichinelózy. Obdobně by měl být kladen důraz na význam rutinní jatečné prohlídky u poražených kusů prasat domácích nebo slovené černé zvěře (Sadkowska-Todys et al., 2009). Nedostatečně tepelně upravené maso prasat divokých bylo ve 14 případech důvodem infekce, hlášené v roce 2010. Obdobně tomu bylo i v roce 2011, kdy se nakazilo 10 lidí požitím nedovařených klobás z prasete divokého (Sadkowska-Todys et al., 2010 ; Gołąb et al., 2011). V letech 2012 - 2015 bylo registrováno „pouze“ 11 případů, kdy lze konstatovat značné zlepšení zdravotní situace, ve srovnání s minulým obdobím (ECDC, 2017). Ve Slovinsku za celé zkoumané období bylo nahlášeno pouze pět případů, dle dostupných informací z ECDC (2015), kdy se jednalo o maso z dovozu, z jiné země původu a nebyla zaznamenána žádná epidemie způsobená infikovaným masem ze Slovinska.

#### 6.1.1.8 Maďarsko, Chorvatsko

V Maďarsku, dle ECDC, byla trichinelóza člověka zaznamenána pouze v letech 2007-2009, kdy byly hlášeny dvě epidemie, s 16 nakaženými, což bylo velmi překvapivé vzhledem k počtu nakažených lidí v okolních státech. Případová studie o epidemii onemocnění z roku 2009, z župy Békés, popsala infekci u devíti lidí, nakažených po pozření nedostatečně tepelně opracovaného masa domácího prasete. V roce 2008 byla zjištěna trichinelóza pěti lidí, a to po konzumaci maďarské šunky z obchodního řetězce (Glatz et al., 2010).

Chorvatsko vstoupilo do Evropské unie až roku 2013, tudíž data do roku 2013, v databázi ECDC, nelze dohledat. V roce 2014 byly (obdobně jako v roce 2015) hlášeny pouze tři případy. Trichinelóza je v Chorvatsku vázána na tradiční způsob

života a jejich zvyky. Zdrojem infekce byly výhradně produkty z vepřového masa, s průběhem epidemií převážně v „rodinných kruzích“. V letech 2007-2010 bylo v Chorvatsku a Vukovarsko-Srijemské župě zaregistrováno až 98 případů onemocnění (Balić et al., 2015).

#### 6.1.1.9 Rumunsko, Bulharsko

Databáze ECDC udává, že Rumunsko, společně s Bulharskem, patří do skupiny států EU s největším počtem registrovaných případů trichinelózy. V Rumunsku bylo v letech 2007-2015 registrováno 1930 případů, zatímco v Bulharsku 725. V Rumunsku v letech 2007, 2008, 2014, prevalence přesáhla 50 % a v roce 2008 bylo zaznamenáno 503 případů, čemuž odpovídala hlášená prevalence s rekordními 75,1 % (ECDC, 2017). Nejvíce případů bylo hlášeno v zimním období. Prasata byla chována a porážena v domácnostech a jen zřídka byla před konzumací testována. Díky dodržování vyšších hygienických standardů v chovech, při porážce a jatečné prohlídce, byl v posledních letech snížen záchyt původce onemocnění. Tradiční postupy v chovech prasat, určených pro rodinnou spotřebu, bez jakékoliv jatečné prohlídky, mohly ohrožovat zdraví lidí. Největší ohniska epidemií byla často spojována s rodinnými oslavami, kdy jediný kus poraženého zvířete byl konzumován velkým počtem lidí. Vyšší míru onemocnění u žen, s průvodními klinickými projevy, lze vysvětlit jejich přímou účastí na takovýchto akcích, spojených s ochutnáváním a tedy konzumací syrového, nebo polosyrového masa během, přípravy pokrmů (Dobrescu et al., 2014). Trichinelóza je stále nejvýznamnějším parazitárním onemocněním zoonotického původu v Rumunsku. Nedávné zprávy odhalily nedostatečné provádění preventivních a kontrolních opatření proti trichinelóze a jejich strategie, k zachování a ochraně zdraví obyvatel, by měla být přehodnocena a humánní populace by měla být více vzdělávána (Neghina et al., 2011). Pozitivním znamením se mohlo stát hlášení do databáze ECDC za rok 2015, kdy bylo zjištěno „pouze“ 52 případů (ECDC, 2017).

V Bulharsku bylo zaznamenáno nejvíce případů v roce 2009, kdy bylo registrováno 407 případů, s odpovídající prevalencí 54,3 % (databáze ECDC,

2017). Z dat epidemiologických studií vyplynulo, že pro většinu epidemií byly zdrojem infekce syrové, nebo částečně syrové masné výrobky (klobásy) připravené z masa divokých, nebo domácích prasat. Typické byly, obdobně jako v Rumunsku, epidemie rozšířené v rodinných kruzích. Epidemie obvykle začínaly po měsíci, nebo měsíci a půl, od zahájení období lovecké sezóny, tedy na konci prosince, nebo během prvních 10 dnů měsíce ledna a trvaly zpravidla do března (Rainova et al., 2016). Ve sledovaném období 2007-2015 bylo v Bulharsku zaznamenáno 725 případů. Během roku 2010 došlo k rapidnímu snížení počtu hlášených případů, kdy bylo registrováno průměrně 31,5 případů za rok (databáze ECDC, 2017).

#### 6.1.1.10 Česká republika

Dle ECDC byl v České republice registrován pouze jediný případ trichinelózy v roce 2012. Tato skutečnost však nekoresponduje s daty databáze SZÚ Praha (EPIDAT), které informovaly o dalších dvou případech hlášených v roce 2014. Paradoxem bylo, že v letech 2012 a 2014 nebyl registrován žádný případ trichinelózy v ČR. Zdrojem infekce tedy muselo být buď maso dovezené z jiné země, nebo maso, které nebylo kontrolováno. Tento nízký záchyt parazitárního původce úzce souvisel s nízkým výskytem trichinel v mase černé zvěře. Během let 2007-2015 bylo v ČR registrováno pouze 9 případů trichinelózy (SVS ČR, 2017). Velký podíl na nízké prevalenci trichinelózy má jistě také hustá a dobře fungující síť mysliveckých sdružení, která nejenže omezuje pytláctví, ale podílí se na regulaci nakažených jedinců pomocí zdravotních kontrol a odstřelů. K případové studii jednotlivých onemocnění, hlášených v letech 2012 a 2014, nebyly v dostupných zdrojích dohledány bližší informace o zdroji a cestách šíření trichinelózy.



## 6.1.2 Trichinelóza divokých prasat v České republice a sousedních státech v letech 2007-2015

### Legislativa Evropské Unie a České republiky

V posledních desetiletích byla trichinelóza klasifikována jako rozvíjející se infekční choroba. Podle nařízení Evropské komise 2075/2005, které stanovuje zvláštní předpisy o úředních kontrolách v mase. Vzorky se odebírají z mrtvých těl u domácích prasat na jatkách systematicky a dále jsou šetřeny na přítomnost trichinel pomocí trávící metody. Více než 200 milionů prasat je v Evropě každým rokem kontrolováno, což představuje značné ekonomické náklady (Koudela et al., 2012).

U divokých prasat, nutrií, medvědů a koní, jejichž maso bylo určeno na lidský konzum (dle Metodických pokynů Státní veterinární správy ČR č.14/2000 a nařízení Komise ES č. 2075/2005) bylo nutné vyšetřit trávící metodou. Prase divoké v minulosti i současnosti vždy představovalo nejpravděpodobnější zdroj nákazy pro člověka. Z toho důvodu je každý lovec, resp. uživatel honitby, podle pokynu SVS ČR, povinen předložit vzorek sloveného kusu černé zvěře, ještě před jeho zpracováním, k vyšetření na přítomnost trichin, viz příloha 1.

#### 5.1.2.1 Česká republika

Porovnáním údajů z Ministerstva zemědělství ČR týkajících se počtu slovených zvířat, s údaji o počtu vyšetřených zvířat vyplynula alarmující skutečnost, že v letech 2004-2009 nebylo na trichinelózu testováno více než 214 000 kusů slovených zvířat (Chroust et al., 2010). V letech 2007 - 2009 bylo sčítáním zjištěno 379 412 kusů černé zvěře, z nichž přibližně 75 %, tedy 284 287 kusů, bylo vyšetřeno. Žádný vyšetřený kus neobsahoval trichiny (databáze SVS, 2017). Avšak zbylých 95 125 kusů nebylo na trichinelózu opět vyšetřeno (Chroust et al., 2011). Tato skutečnost tedy nevylučuje možnost, že v České republice se trichinelóza mohla vyskytnout, neboť larvy trichinel mohly být varem zneškodněny, nebo nakažené kusy černé zvěře vůbec nemusely být sloveny.

V roce 2010 byly na území ČR hlášeny dva případy trichinelózy divoké zvěře. V prvním případě se jednalo o jezevce v Moravskoslezském kraji, v druhém o 38 kg vážícím kňourkovi, nedaleko od Ústí nad Orlicí (Pardubický kraj). Vzorky svaloviny kusu byly zaslány na SVS Jihlava a zde byly pozitivně testovány na přítomnost larev trichinel (Koudela et al., 2010). Pokud tedy, vzhledem k absenci dat o vyšetřených kusech z roku 2010, lze brát průměrnou hodnotu počtu prasat vyšetřených na trichinelózu za roky 2006 - 2009 (78 000) kusů, prevalence trichinelózy divokých prasat v ČR za rok 2010 by činila 0,001 %. Tuto skutečnost je třeba brát s rezervou, neboť se jedná pouze o hrubý odhad a jen těžko lze odhadovat počet nevyšetřených kusů.

V roce 2012 na území ČR nebyl monitorován jediný případ trichinelózy, zatímco v roce 2013, kdy byly registrovány čtyři případy, z nichž dva se objevily v okolí Frýdku-Místku (Moravskoslezský kraj), jeden na Domažlicku (Plzeňský kraj) a jeden z Jankovic u Holešova (Zlínský kraj). Ve všech případech se jednalo o černou zvěř (databáze SVS, 2017, Duben, 2013).

Poslední dva případy byly registrovány v roce 2015 a týkaly se slovené černé zvěře. Pozitivní nález trichin byl opět hlášen z oblasti kolem Frýdku-Místku, což jenom potvrdilo velkou expoziční oblast v Moravskoslezském kraji, ve srovnání s ostatními kraji ČR (databáze SVS, 2017).

Výskyt pozitivních jedinců mohl být způsoben vhodnými podmínkami k rozšíření černé zvěře na území ČR. Převážně se jednalo o méně obydlené, klidné oblasti, v blízkosti hustých lesů. Výskyt byl dozajista podmíněn i migrací černé zvěře z Polska, kde byla prevalence trichinelózy divokých zvířat daleko vyšší, než v ČR. Častým důvodem migrace divokých prasat, krom hledání potravy, mohl být ústup před potenciálními predátory (vlk obecný, rys ostrovid), kteří v Polsku ohrožují bezpečnost převážně mladých jedinců černé zvěře.

### 6.1.2.2 Sousední státy ČR

Podle údajů Hurníkové bylo v letech 2000-2007 vyšetřeno 70 586 kusů zvířat, přičemž pozitivních bylo 43 kusů, s odpovídající prevalencí 0,06 %. Podle Beladičové (2011) bylo v roce 2011 vyšetřeno 13 405 divokých prasat, z toho byli čtyři jedinci pozitivní (prevalence 0,03 %). V roce 2012 bylo vyšetřeno 5221 kusů volně žijící zvěře, ale nebyl konkrétně uveden počet divokých prasat, pouze informace o deseti pozitivních kusech. Z této zprávy nelze zjistit informaci o prevalenci trichinelózy divokých prasat, je však poukázáno na možnost výskytu trichinel u lišek v oblasti východního a středního Slovenska. V Polsku byl pozorován nárůst populace divokých prasat a současný záchyt trichinel, a to od roku 2010. Ve studii Moskwavové (2015) mezi lety 2010 – 2014 bylo testováno 833 kusů černé zvěře pomocí trávící metody a bylo zjištěno, že celková prevalence všech zkoumaných vzorků byla 2 % (17/833). V devíti případech se jednalo o druhy *T. spiralis*, v pěti o *T. britovi*. Výsledky studie potvrdily, že kančí maso stále hraje klíčovou roli v udržování trichinel v sylvatickém vývojovém cyklu parazita.

Ze zprávy NRL-T vyplynulo, že mezi lety 2002 – 2011 bylo v Německu vyšetřeno 3 290 979 kusů prasat a trichinely byly nalezeny u 98 kusů (prevalence 0,003 %). V období 2002 – 2007 se výskyt pohyboval mezi 8 – 12 kusy. V roce 2008 bylo zjištěno nejvíce infikovaných prasat (16 kusů). Většina případů bylo původem ze severovýchodního Německa. V roce 2011 bylo hlášeno 15 případů trichinelózy divokých prasat, v roce 2012 jich bylo hlášeno o pět méně. U koní byly všechny nálezy negativní. U prasat domácích bylo registrováno ze 493 milionů kusů 8 pozitivních prevalencí 0,00016 % (Nöckler, 2013). V Rakousku byl výskyt trichinelózy velmi nízký. Lechner (2010) uvedl, že v posledních dvou desetiletích nebyla prokázána u 5,5 milionů vyšetřených prasat domácích přítomnost trichinel. Z dostupných zdrojů nelze zjistit počet infikovaných divokých prasat. U lidí byla trichinelóza v Rakousku hlášena v šesti případech a zdrojem nákazy bylo převážně maso původem z jiné země. Tudíž můžeme usuzovat, že v Rakousku není trichinelóza divokých prasat závažným problémem.

## 7 Závěr

Výsledky bakalářské práce potvrdily skutečnost, že trichinelóza u lidí a zvířat, je převážně rozšířena v méně rozvinutých státech Evropské unie. Díky značnému úsilí veterinární služby v zemích EU došlo v posledních letech ke zlepšení epizootologické i epidemiologické situace, s následkem nižšího počtu hlášení pozitivních případů.

Výskyt byl převážně monitorován v oblasti vesnic, často v rodinných epidemiích. Počty případů byly silně vázány na kulinařské tradice dané země, prevalenci trichinelózy hlavního zdroje nákazy (divokých prasat) a v neposlední řadě na frekvenci a důslednosti vyšetřování masa ulovené a poražené zvěře.

Pro snížení prevalence trichinelózy člověka by mělo být dbáno na pravidelné preventivní prohlídky vepřového masa na jatkách s diagnostikou larev trichinel pomocí trávící metody (nařízeno po vstupu EU všem členským zemím). Také by měl být kladen důraz na školení veterinárních hygieniků a mysliveckých hospodářů a pověřených osob k prohlídce zvěře po ulovení. Dále by měla být méně vzdělaná společnost pomocí médií více informovaná o problematice zoonózy a důležitosti dostatečné tepelné úpravy potenciálně infikovaného masa. V zemích, ve kterých je výskyt trichinelózy zvířat sporadický, by měly být pečlivě kontrolovány možné zdroje nákazy zaslané z jiné země.

## 8 Reference

- Bălescu A, Nemet C, Zamfir C, Ispas D, Idomir M. 2013. Identifying risk of symptom of severe trichinellosis – A case study of 143 infected persons in Brasov, Romania 2001-2008. *Veterinary Parasitology* 194: 142-144.
- Balić B, Marinculić A, Krešić K, Barić J, Periškić M, Škrivanko M, Kovač Z, Krznarić M. 2015. Working Group for Trichinellosis – A Way of Systematic Prevention, Control and Eradication of Trichinellosis in the Republic of Croatia. *Collegium Antropologicum* 39: 253-259.
- Borji H, Sadeghi H, Razmi G, Pozio E, La Rosa G. 2012. Trichinella infection in wildlife of northeast of Iran. *Iran Journal Parasitology*.
- Bruschi F, Murrell KD. 2002. New aspects of human trichinellosis: the impact of new Trichinella species. *Postgraduate Medical Journal* 78: 15-22.
- CDC. 2012. Parasites – Trichinellosis (also known as Trichinosis) Available at <https://www.cdc.gov/parasites/trichinellosis/>
- CDC. 2012. *Trichinella pseudospiralis* on day 32 after infection. CDC. Available at <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/6/5/00-0517-f1> Accessed: 13-12-2016.
- Despommier D, Griffin D, Hotez PJ, Knirsch F. 2005. Summary of Basic Science and Clinical Information. *Parasitic Diseases*: 137.
- Despommier D, Gwadz, Hotez, Knirsch. 2005. *Parasitic Diseases*. NY: Apple Trees Production L.L.C NY: 142.
- Dick TA & Pozio E. 2001. Trichinella spp. and trichinellosis. *Parasitic diseases of wild mammals*. State University Press 29: 380-396.
- Dobrescu C, Hriscu H, Emandi M, Zamfir C, Nemet C. 2014. Consumption of untested pork contributed to over two-thousand clinical cases of trichinellosis in Romania. *Folia Parasitologica* 61: 558-560.

Dupouy-Camet J, Talabani H, Ancelle T. 2010. Trichinellosis. *Parasitology Research* 60: 159-164.

Faber M, Schink S, Mayer-Scholl A, Ziesch C, Schönfelder R, Wichmann-Schauer H, Stark K, Nöckle K. 2015. Outbreak of Trichinellosis Due to Wild boar Meat and Evaluation of the Effectiveness of Post Exposure Prophylaxis, Germany, 2013. *CID* 2015: 60.

Feidas H, Kouam M K, Kantzoura V, Theodouropoulos G. 2014. Global geographic distribution of *Trichinella* species and genotypes. *Infection, Genetics and Evolution* 26:255-266.

Feydy A, E. Touze Y, Miaux F, Bolgert N, Martin-Duverneuil D, Laplane, Chiras j. 1996. MRI in a case of neurotrichinosis. *American Journal Neuroradiology* 38: 80-82.

Fichi G, Stefanelli S, Pagani A, Luchi S, De Gennaro M, Gómez-Morales A, Selmi M, Rovai D, Mari M, Fischetti R, Pozio E. 2014. Trichinellosis Outbreak Caused by Meat from a Wild Boar Hunted in an Italian Region Considered to be at Negligible Risk for *Trichinella*. *Zoonoses and Public Health* 62: 285-291.

Food Safety AUTHORITY OF IRELAND. 2010. Survey of the Prevalence of *Trichinella* in Local Authority Supervised Pig Slaughterhouses. *Microbiology*: 1-40.

Gallardo MT, Mateos L, Artieda J, Wesslen L, Ruiz C, García MA, Galmés-Truyols, Martín A, Hernández-Pezzi G, Andersson Y, Gárate T, Christensson D. 2007. Outbreak of trichinellosis in Spain and Sweden due to consumption of wild boar meat contaminated ITL *Trichinella britovi*. *Eurosurveillance* 12: 11.

Glatz K, Danka J, Kucsera I, Pozio E. 2010. Human Trichinellosis in Hungary from 1965 to 2009. *Parasite* 17: 193-198.

Gottstein B, Pozio E, Nockler K. 2009. Epidemiology, diagnostic, treatment, and control of trichinellosis. *Clinical Microbiology Reviews* 22: 127-145.

- Health Auckland. 2017. Encysted *Trichinella spiralis* larva in skeletal muscle. Health Auckland. Available at <http://www.health.auckland.ac.nz/webpath/mushtml/musc010.htm> Accessed: 10-11-2016.
- Heinz M. 2016. *Trichinella spiralis*. Encyclopedia of Parasitology: 2827-2829.
- Hurníková Z, Šnábel V, Pozio E, Reiterová K, Hrčková K, Halásková D, Dubinský P. 2005. First record of *Trichinella pseudospiralis* in the Slovak Republic found in domestic focus. Veterinary Parasitology 128: 91-98.
- Choust K, Forejtek P. 2010. Trichinelóza. Myslivost 10.
- Jíra J. 1998. Lékařská helmintologie. Praha: Galén. 407-413p.
- Kassai T, Cordero Del Campillo M, Euzeby J, Gaafar S, Hiepe T, Himonas CA. 1998. Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPAD). Veterinary Parasitology 29: 299-326.
- Koudela B. 2001. Trichinelóza člověka. Vesmír 80: 156.
- Koudela B. 2011. Neobvyklé nálezy trichinel u divokých prasat odlovených v Dolní Dobrouči. Myslivost 3: 46.
- Lechner A, Kraus J, Hoppe UC, Glawisching W, Auer H, Allerberger F. 2012. Outbreak of human trichinellosis, Austria 2010. Wiener Tierärztliche Monatsschrift 99: 21-23.
- Malakauskas A, Paulauskas V, Jarvis T, Keidans P, Eddi C, Kapel CMO. 2007. Molecular epidemiology of *Trichinella* spp. In free Baltic countries: Lithuania, Latvia, and Estonia. Parasitology Research 100: 687.
- Mantovani A, Filippini I, Bergomi S. 1980. Indagini su un'epidemia di trichinellosi umana verificatasi in Italia. Parassitologia 22: 107-134.
- Mehlhorn H. 2016. *Trichinella spiralis*. Encyclopedia of Parasitology: 2827-2829.

Messiaen P, Forier A, Vanderschueren S, Theunissen C, Nijs J, Van Esbroeck M, Bottieau E, De Schrijver K, Gyssens CI, Cartuyvels R, Dorny P, van der Hilst J, Blockmans D. 2014. Outbreak of trichinellosis related to rating imported wild boar meat. *Euro Surveill* 21(37): 30341.

Mohan J. 2014. *Trichinella spiralis*. SlideShare. Available at <https://www.slideshare.net/jatheeshmohan/trichinella-spiralis-37640195>  
Accessed: 10-11-2016.

Moskwa B, Cybulska A, Kornacka A, Cabaj W, Bień J. 2015. Wild boar meat as a potential source of human trichinellosis in Poland: current data. *Acta Parasitologica Journal* 60: 530-535.

Murrell KD, Pozio E. 2011. Worldwide Occurrence and Impact of Human Trichinellosis, 1986-2009. *Emerging Infectious Diseases* 17: 2194-2202.

Nehghina R, Neghina AM, Marincu. 2011. Trichinellosis in hospitalized patients from a Romanian endemic area, 2007-2009. *Clinical Microbiology and Infection* 18: 86-90.

Nicorescu IMD, Ionita M, Ciupescu L, Buzatu CV, Tanasuica R, Mitrea IL. 2015. New insights into the molecular epidemiology of *Trichinella* infection in domestic pigs, wild boars, and bears in Romania. *Veterinary Parasitology* 212: 257-261.

Nöckler K, 2013. Report of the National Reference Laboratory for Trichinellosis (Germany, 2013). Federal Institute for Risk Assessment: 1-3.

Oivanen L, Oksanen A. 2009. Synanthropic *Trichinella* infection in Finland. *Veterinary Parasitology* 159: 281-284.

Papatsiros VG, Boutsini S, Ntousi D, Stougiou D, Mintza D, Bisias A. 2012. Detection and Zoonotic Potential of *Trichinella* spp. from Free-Range Pig Farming in Greece. *Foodborne Pathogens and Disease* 9(6): 536-540



Paraličová Z, Kinčeková J, Schréter I, Jarčuška P, Dubinský P, Porubčin Š, Pavlinová J, Kristian P. 2009. Outbreak of trichinellosis in eastern Slovakia. *Helminthologia* 46: 209.

Pozio E, Gomez Morales MA, Dupouy-Camet J. 2003. Clinical aspects, diagnosis and treatment of trichinellosis. *Expert Review Anti-Infective Therapy* 1: 471-482.

Pozio E. 2016. *Trichinella pseudospiralis* an elusive nematode. *Veterinary Parasitology* 231: 97-101.

Rainova I, Kaftandjiev I, Harizanov R, Tsvetkova N, Jordanova N, Marinova I, Kurdova R, Kantardjiev T, Lalkovski N. 2016. Outbreaks of human trichinellosis, still a challenge for the public health authorities in Bulgaria. *Journal of Public Health* 24: 291-297.

Ruetsch C, Delaunay P, Armaengaud A, Peloux-Petiot F, Dupouy-Camet J, Valle I, Polack B, Boireau P, Marty P. 2016. Inadequate labeling of pork sausages prepared in Corsica causing a trichinellosis outbreak in France. *Parasite* 23: 27

Sadaow L, Tantrawatpan C, intapan PM, Lulitanond V, Boonmars T, Morakote N, Pozio E, Maleewong. 2013. Molecular differentiation of *Trichinella spiralis*, *T. pseudospiralis*, *T. papuae* and *T. zimbabwensis* by pyrosequencing. *Journal of Helminthology* 89: 118-123.

Sadkowska-Todys M, Gołab E. 2009. Trichinellosis in Poland 2007. *Przegląd Epidemiologiczny* 63: 263-266.

Sadkowska-Todys M, Gołab E. 2011. Trichinellosis in Poland in 2009. *Przegląd Epidemiologiczny* 65: 281-283.

Sadkowska-Todys M, Gołab E. 2012. Trichinellosis in Poland in 2010. *Przegląd Epidemiologiczny* 66: 307-310.

Sadkowska-Todys M, Gołab E. 2013. Trichinellosis in Poland in 2011. *Przegląd Epidemiologiczny* 67: 259-261.

Takahashi Y. 1997. Antigens of *Trichinella spiralis*. *Parasitology Today* 13: 104-106.

Turiac AJ, Cappelli MG, Olivieri R, Angelillis R, Martinelli D, Prato R, Fortunato F. 2017. Trichinellosis outbreak due to wild boar meat consumption in southern Italy. *Parasit Vectors* 10: 107.

Van der Giessen J, Franssen F, Fonville M, Kortbeek T, Beckers P, Tolsma P, Stenvers O, Teunis P, Takumi K. 2013. How safe is the meat inspection based on artificial digestion of pooled samples for *Trichinella* in pork? A scenario from wildlife to a human patient in a non-endemic region of Europe. *Veterinary Parasitology* 194: 110-112.

Seznam příloh:

Příloha 1 - Nařízení komise (ES) č. 2075/2005, kterým se stanoví zvláštní předpisy  
pro úřední kontroly trichinel v mase..... | I-XXXI |

Příloha 1 - Nařízení komise (ES) č. 2075/2005, kterým se stanoví zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase

## **NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2075/2005**

**ze dne 5. prosince 2005,**

**kterým se stanoví zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase**

**(Text s významem pro EHP)**

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

s ohledem na Smlouvu o založení Evropského společenství,

s ohledem na nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004 ze dne 29. dubna, kterým se stanoví zvláštní pravidla pro organizaci úředních kontrol produktů živočišného původu určených k lidské spotřebě<sup>(1)</sup>, a zejména na čl. 18 odst. 9 a 10 uvedeného nařízení,

vzhledem k těmto důvodům:

- (1) Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu<sup>(2)</sup>, (ES) č. 854/2004 a (ES) č. 882/2004 ze dne 29. dubna 2004 o úředních kontrolách za účelem ověření dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví a dobrých životních podmínkách zvířat<sup>(3)</sup> stanoví zdravotní předpisy a požadavky pro potraviny živočišného původu a vyžadované úřední kontroly.
- (2) Kromě těchto předpisů by měly být stanoveny i specifitější požadavky pro trichinely. Maso domácích prasat, divokých prasat, koní a jiných živočišných druhů může být napadeno hlísty rodu *Trichinella*. Požití masa napadeného trichinelami může lidem způsobit vážné onemocnění. Měla by být zavedena opatření, která by předcházela onemocněním lidí způsobeným požitím masa napadeného trichinelami.
- (3) Dne 22. listopadu 2001 přijal Vědecký výbor pro veterinární opatření týkající se veřejného zdraví stanovisko o trichinelóze, epidemiologii, metodách zjišťování a produkci prasat neobsahujících trichinely. Dne 1. prosince 2004 přijal Vědecký panel pro biologická rizika (BIOHAZ) Evropského úřadu pro bezpečnost potravin stanovisko o vhodnosti a podrobnostech metod zmrazování umožňujících lidskou spotřebu masa napadeného trichinelami nebo tasemnicí. Ve dnech 9. až 10. března 2005 BIOHAZ přijal stanovisko o hodnocení rizik revidované kontroly jatečných zvířat v oblastech s nízkou prevalencí trichinel.
- (4) Směrnice Rady 77/96/EHS ze dne 21. prosince 1976 o vyšetření čerstvého

masa domácích prasat na svalovce (*trichinella spiralis*) při jeho dovozu ze třetích zemí<sup>(4)</sup> byla zrušena směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2004/41/ES ze dne 21. dubna, kterou se zrušují některé směrnice týkající se hygieny potravin a hygienických podmínek pro produkci některých produktů živočišného původu určených k lidské spotřebě a pro jejich uvádění na trh a kterou se mění směrnice Rady 89/662/EHS a 92/118/EHS a rozhodnutí Rady 95/408/ES<sup>(5)</sup>.

- (5) Pro zjišťování trichinel v čerstvém masu byly schváleny různé laboratorní metody. Metoda vyšetření hromadných vzorků trávící metodou s použitím magnetické míchačky je pro rutinní použití doporučena jako metoda spolehlivá. Velikost vzorku pro analýzu parazitů by měla být zvětšena v případech, že vzorek nelze odebrat na náchylném místě, a pokud druh nebo třída zvířat vykazuje vyšší riziko napadení. Trichinoskopické vyšetření nezachycuje nezapouzdřené druhy trichinel napadající domácí a volně žijící zvířata a lidi a není již jako metoda zjišťování pro standardní použití vhodná. Trichinoskopická metoda by měla být použita pouze za výjimečných okolností pro vyšetření menšího počtu zvířat poražených za týden, za předpokladu, že provozovatel v potravinářství přijme opatření ke zpracování masa způsobem, který je pro spotřebu masa zcela bezpečný. V přechodném období by však tato metoda měla být nahrazena spolehlivější metodou zjišťování přítomnosti. Jiné metody, například sérologické testy, mohou být užitečné pro účely sledování po validaci testů referenční laboratoří Společenství, jakmile Komise tuto laboratoř jmenuje. Sérologické testy nejsou vhodné pro zjišťování přítomnosti trichinel v jednotlivých zvířatech určených pro lidskou spotřebu.
- (6) Zmrazení masa za určitých podmínek může usmrtit veškeré přítomné parazity, ale určité druhy trichinel vyskytující se u koní a zvěře jsou při zmrazení provedeném pomocí doporučené kombinace teploty a času rezistentní.
- (7) Hospodářství by měl příslušný orgán uznat za hospodářství prostá trichinel, za předpokladu splnění určitých podmínek. Prasata na výkrm pocházející z těchto hospodářství by měla být z kontroly na přítomnost trichinel vyjmuta. Příslušný orgán by měl úředně uznat kategorie hospodářství za kategorie hospodářství prosté trichinel za předpokladu splnění určitých podmínek. Toto uznání by mělo snížit počet kontrol na místě prováděných příslušným orgánem, ale je možné pouze v členských státech s historicky doloženou velmi nízkou prevalencí choroby.
- (8) Pravidelné sledování domácích prasat, divokých prasat, koní a lišek nebo jiných indikativních zvířat je důležitým nástrojem hodnocení změn v rozšíření choroby. Výsledky tohoto sledování by měly být oznámeny v roční zprávě v souladu se směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2003/99/ES ze dne 17. listopadu 2003 o sledování zoonóz a jejich původců<sup>(6)</sup>.
- (9) Nařízení (ES) č. 853/2004 se nepoužije na volně žijící zvěř nebo na maso volně žijící zvěře přímo dodávané konečnému spotřebiteli nebo místním maloobchodním podnikům přímo zásobujícím konečného spotřebitele. Proto by měly být členské státy povinny přijmout vnitrostátní opatření ke zmírnění rizika dodávky masa divokých prasat nakaženého trichinelami konečnému

spotřebiteli.

(10) Opatření stanovená v tomto nařízení jsou v souladu se stanoviskem Stálého výboru pro potravinový řetězec a zdraví zvířat,

**PŘIJALA TOTO NAŘÍZENÍ:**

## **KAPITOLA I VŠEOBECNÁ USTANOVENÍ**

### *Článek 1*

#### **Definice**

Pro účely tohoto nařízení se „trichinelami“ rozumí všichni hlísti příslušející k druhu rodu *Trichinella*.

## **KAPITOLA II POVINNOSTI PŘÍSLUŠNÝCH ORGÁNŮ A PROVOZOVATELŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ**

### *Článek 2*

#### **Odběr vzorků z jatečně upravených těl**

1. Z jatečně upravených těl domácích prasat se na jatkách systematicky odebírají vzorky v rámci vyšetření po porážce.

Z každého jatečně upraveného těla se odebírá vzorek a tento vzorek se v laboratoři určené příslušným orgánem vyšetří na přítomnost trichinel pomocí jedné z následujících metod zjišťování:

- a) referenční metoda zjišťování uvedená v kapitole I přílohy I; nebo
- b) ekvivalentní metoda zjišťování uvedená v kapitole II přílohy I.

2. Do okamžiku získání výsledků vyšetření na přítomnost trichinel a za podmínky zajištění plné sledovatelnosti provozovatelem potravinářského podniku:

a) lze tato jatečně upravená těla rozdělit nejvýše na šest dílů na jatkách nebo v bourárně nacházející se ve stejných prostorách jako jatka („prostory“).

b) Odchylně od písm. a) a na základě schválení příslušného orgánu lze tato jatečně upravená těla porcovat v bourárně připojené k jatkám nebo oddělené od jatek za podmínky, že:

- i) postup podléhá dohledu příslušného orgánu,

- ii) jatečně upravená těla nebo jejich části nebudou mít jako místo určení více než jednu bourárnu,
- iii) bourárna se nachází na území členského státu a
- iv) v případě pozitivního výsledku budou všechny části prohlášeny za nevhodné pro lidskou spotřebu.

3. Z jatečně upravených těl koní, divokých prasat a jiných farmových a volně žijících druhů vnímavých k nákaze trichinelami se systematicky odebírají vzorky na jatkách nebo v zařízeních na zpracování zvěře v rámci prohlídky po porážce/postmortálního vyšetření.

Tento odběr vzorků nesmí být prováděn v případě, že příslušný orgán hodnocením rizik stanovil, že riziko nákazy určitých farmových či volně žijících druhů trichinelami je zanedbatelné.

Z každého jatečně upraveného těla se odebírá vzorek a tento vzorek se vyšetří podle příloh I a III v laboratoři určené příslušným orgánem.

### *Článek 3*

#### **Odchytky**

1. Odchylně od čl. 2 odst. 1 je z vyšetření na přítomnost trichinel vyjmuto maso domácích prasat, které prošlo zmrazením podle přílohy II pod dohledem příslušného orgánu.

2. Odchylně od čl. 2 odst. 1 jsou z vyšetření na přítomnost trichinel vyjmuta jatečně upravená těla a maso domácích prasat chovaných pouze na výkrm a porážku, pokud zvířata pocházejí:

- a) z hospodářství nebo kategorie hospodářství, kterou příslušný orgán úředně uznal za prostou trichinel postupem podle kapitoly II přílohy IV;
- b) z regionu, ve kterém je riziko výskytu trichinel u domácích prasat úředně uznáno za zanedbatelné:

i) poté, co o tom dotčený členský stát podá Komisi a ostatním členským státům oznámení spolu s úvodní zprávou obsahující údaje stanovené v kapitole II části D) přílohy IV, a

ii) po schválení regionu jako regionu představujícího zanedbatelné riziko trichinel následujícím postupem:

ostatní členské státy mají tři měsíce od obdržení oznámení uvedeného v bodě i) na to, aby zaslaly Komisi písemné připomínky. Pokud Komise nebo členský stát nevnesou žádné námitky, je region uznán za region představující zanedbatelné riziko výskytu trichinel a domácí prasata pocházející z tohoto regionu jsou vyňata z vyšetření na přítomnost trichinel při porážce.

Komise zveřejní seznam takto uznaných regionů na své internetové stránce.

3. Pokud příslušný orgán uplatní odchylku uvedenou v odstavci 2, předloží dotčený členský stát Komisi roční zprávu obsahující údaje uvedené v kapitole II části D přílohy IV v souladu s čl. 9 odst. 1 směrnice 2003/99/ES.

Pokud členský stát nepředloží roční zprávu nebo pokud bude roční zpráva pro účely tohoto článku nedostatečná, přestane odchylka pro daný členský stát platit.

## *Článek 4*

### **Vyšetření na přítomnost trichinel a označení zdravotní nezávadnosti**

1. Jatečně upravená těla podle článku 2 nebo jejich části kromě těch, které jsou uvedeny v čl. 2 odst. 2 písm. b), nesmí opustit prostory dříve, než je prokázán negativní výsledek vyšetření na přítomnost trichinel.

Podobně ostatní části zvířete určeného k lidské nebo zvířecí spotřebě, které obsahují příčně pruhovanou svalovinu, nesmí opustit prostory dříve, než je prokázán negativní výsledek vyšetření na přítomnost trichinel.

2. Živočišný odpad a živočišné vedlejší produkty neurčené pro lidskou spotřebu a neobsahující příčně pruhovanou svalovinu mohou prostory opustit předtím, než jsou k dispozici výsledky vyšetření na přítomnost trichinel.

Příslušný orgán však může požadovat, aby bylo provedeno vyšetření na přítomnost trichinel nebo předchozí zpracování živočišných vedlejších produktů, než jim povolí opustit prostory.

3. Pokud na jatkách existuje postup zajišťující, že žádná část vyšetřovaných jatečně upravených těl neopustí prostory, než bude prokázán negativní výsledek vyšetření na přítomnost trichinel, a pokud tento postup formálně schválí příslušný orgán, lze označení zdravotní nezávadnosti podle čl. 5 odst. 2 nařízení (ES) č. 854/2004 použít předtím, než budou výsledky vyšetření na přítomnost trichinel k dispozici.

## *Článek 5*

### **Školení**

Příslušné orgány zajistí, aby všichni zaměstnanci zúčastnění na vyšetřování vzorků pro zjišťování přítomnosti trichinel byli řádně proškoleni a zúčastnili se:

- a) programu řízení jakosti testů používaných ke zjištění trichinel a
- b) pravidelného hodnocení postupů testování, vedení záznamů a analýz používaných v laboratoři.



## Článek 6

### Metody zjišťování

1. Metody zjišťování stanovené v kapitolách I a II přílohy I se používají k vyšetřování vzorků podle článku 2:

- a) pokud u nich existují důvody k podezření na přítomnost trichinel; nebo
- b) pokud vzorky pocházející ze stejného hospodářství byly dříve určeny jako pozitivní pomocí trichinoskopické metody uvedené v čl. 16 odst. 1.

2. Všechny pozitivní vzorky se zasílají do národní referenční laboratoře nebo referenční laboratoře Společenství k určení příslušných druhů trichinel.

## Článek 7

### Pohotovostní plány

Příslušné orgány členských států vypracují do 31. prosince 2006 pohotovostní plán uvádějící všechna opatření, která budou přijata v případě, že vzorky uvedené v článcích 2 a 16 budou v testu pozitivní na přítomnost trichinel. Tento plán zahrnuje údaje o:

- a) zpětné sledovatelnosti nakaženého jatečně upraveného těla/těl a jeho částí obsahujících svalovou tkáň;
- b) opatřeních pro nakládání s nakaženým jatečně upraveným tělem/těly a jeho částmi;
- c) vyšetřování zdroje nákazy a rozšíření u volně žijících živočichů;
- d) opatřeních, která mají být přijata na úrovni maloobchodu nebo spotřebitele;
- e) opatřeních, která mají být přijata v případě, že nakažené jatečně upravené tělo nelze na jatkách identifikovat;
- f) určení daného druhu trichinel.

## Článek 8

### Uznání hospodářství úředně prostých trichinel

Příslušný orgán může úředně uznat hospodářství nebo kategorie hospodářství za prosté trichinel při splnění následujících požadavků:

- a) v případě hospodářství požadavků stanovených v kapitole I a kapitole II částech A, B a D přílohy IV;
- b) v případě kategorií hospodářství požadavků stanovených v kapitole II částech C a D přílohy IV.

## Článek 9

### **Informační povinnost provozovatelů v potravinářství**

Provozovatelé potravinářských podniků uznaných za prosté trichinel informují příslušný orgán o jakémkoli požadavku stanoveném v kapitole I a kapitole II části B přílohy IV, který již není plněn, nebo o jakékoli jiné změně, kterou by mohl být dotčen status hospodářství jako hospodářství prostých trichinel.

## Článek 10

### **Kontrola hospodářství prostých trichinel**

Příslušný orgán zajistí periodické provádění kontrol hospodářství uznaných za prosté trichinel.

Četnost kontrol musí vycházet z rizika, s přihlédnutím k historii a výskytu choroby, předchozím zjištěním, geografické oblasti, místním vnímavým volně žijícím živočichům, postupům v živočišné výrobě, veterinárnímu dohledu a plnění požadavků ze strany zemědělců.

Příslušný orgán zajistí, aby všechny chovné prasnice a kanci pocházející z hospodářství prostých trichinel byli vyšetřeni v souladu s čl. 2 odst. 1.

## Článek 11

### **Programy sledování**

Příslušný orgán zavede program sledování zahrnující domácí prasata, koně a jiné živočišné druhy vnímavé k trichinelám, pocházející z hospodářství nebo kategorií hospodářství uznaných za prostá trichinel nebo z oblastí, kde riziko trichinel u domácích prasat je uznáno za zanedbatelné, aby ověřil, že zvířata skutečně nejsou trichinelami napadena.

Program sledování stanoví četnost testování, počet testovaných zvířat a plán odběru vzorků. Pro tento účel jsou vzorky masa odebírány a vyšetřovány na přítomnost parazitů rodu *Trichinella* v souladu s kapitolou I nebo II přílohy I.

Program sledování může jako doplňkový nástroj zahrnovat sérologické metody, jakmile referenční laboratoř Společenství validuje vhodný test.

## Článek 12

### **Odejmutí úředního uznání hospodářství prostých trichinel nebo oblastí se zanedbatelným rizikem**

1. Pokud je domácí prase nebo jiných živočišný druh vnímavý k infekci trichinelami z hospodářství úředně uznaného za prosté trichinel v testu pozitivní na přítomnost trichinely, příslušný orgán musí neprodleně:

- a) odejmout úřední uznání hospodářství jako hospodářství prostého trichinel;
  - b) vyšetřit všechna prasata domácí v době porážky v souladu s čl. 2 odst. 1 a provést sérologický test na všech zvířatech vnímavých k infekci trichinelami v hospodářství, jakmile referenční laboratoř Společenství validuje vhodný test;
  - c) vysledovat a otestovat všechna chovná zvířata, která přišla do hospodářství, a pokud možno i všechna zvířata, která hospodářství opustila nejméně v posledních šesti měsících před pozitivním nálezem; k tomuto účelu se odebírají vzorky masa a vyšetřují se na přítomnost parazitů rodu *Trichinella* pomocí metod zjišťování uvedených v kapitolách I a II přílohy I; sérologický test lze použít, jakmile referenční laboratoř Společenství validuje vhodný test;
  - d) pokud to bude možné, vyšetřit rozšíření parazitární nákazy způsobené distribucí masa z domácích prasat poražených v období před pozitivním nálezem;
  - e) informovat Komisi a ostatní členské státy;
  - f) zahájit epidemiologické šetření pro objasnění příčiny nákazy;
  - g) zvýšit četnost testování v rámci programu sledování podle článku 11;
  - h) přijmout vhodná opatření v případě, že na jatkách nebude možné zjistit nakažená jatečně upravená těla, včetně:
    - i) zvýšení velikosti každého vzorku masa odebraného k testování podezřelých jatečných upravených těl, nebo
    - ii) prohlášení jatečně upravených těl za nevhodná k lidské spotřebě a
    - iii) přijetí vhodných opatření k likvidaci podezřelých a s pozitivním výsledkem testovaných jatečně upravených těl nebo jejich částí.
2. Příslušný orgán odejme úřední uznání hospodářství nebo kategorií hospodářství za prosté trichinel v případě, že:
- i) kterýkoli z požadavků stanovených v kapitole I nebo II přílohy IV již nebude plněn;
  - ii) sérologické výsledky nebo laboratorní zjištění po odběru vzorků poražených prasat prokáží, že hospodářství nebo kategorii hospodářství již nelze považovat za prostou trichinel.
3. Pokud informace z programu sledování nebo z programu sledování volně žijících živočichů ukazují, že oblast již nelze považovat za oblast, kde je riziko trichinel u domácích prasat uznáno za zanedbatelné, musí Komise vyjmout tuto oblast ze seznamu a informovat o tom ostatní členské státy.
4. Po odejmutí uznání mohou být hospodářství opět uznána za úředně prostá trichinel, jakmile se zjištěné problémy vyřeší a požadavky stanovené v kapitole II části A přílohy IV budou splněny ke spokojenosti příslušného orgánu.

## KAPITOLA III

### DOVOZ

#### *Článek 13*

#### **Dovozní zdravotní požadavky**

Maso živočišných druhů, které mohou být nosiči trichinel, jež obsahuje příčně pruhovanou svalovinu a pochází ze třetí země, lze do Společenství dovážet pouze za předpokladu, že bylo v dané třetí zemi před vývozem vyšetřeno na přítomnost trichinel.

Toto vyšetření se provádí v souladu s článkem 2 na celém jatečně upraveném těle, pokud není k dispozici celé jatečně upravené tělo, na každé jatečné půli, čtvrtce nebo dílu.

#### *Článek 14*

#### **Odchyly od článku 13**

1. Maso domácích prasat lze dovážet, aniž by prošlo vyšetřením podle článku 13, pokud pochází z hospodářství ve třetí zemi, které Společenství uznalo za úředně prosté trichinel v souladu s článkem 12 nařízení (ES) č. 854/2004 na základě žádosti příslušného orgánu dotčené země doprovázené zprávou pro Komisi prokazující, že požadavky stanovené v kapitole I přílohy IV jsou splněny.
2. Maso domácích prasat lze dovážet, aniž by prošlo vyšetřením podle článku 13, pokud prošlo zmrazením v souladu s přílohou II provedeným pod dohledem příslušného orgánu ve třetí zemi.

#### *Článek 15*

#### **Dokumenty**

Osvědčení o zdravotní nezávadnosti doprovázející dovoz masa podle článku 13 se potvrzují prohlášením úředního veterináře o tom, že:

- a) maso bylo vyšetřeno ve třetí zemi původu v souladu s článkem 13; nebo
- b) maso splňuje požadavky stanovené v čl. 14 odst. 1 nebo 2.

Tento dokument musí maso doprovázet v originálním vyhotovení, pokud nebyla udělena výjimka podle čl. 14 odst. 4 nařízení (ES) č. 854/2004.

## KAPITOLA IV PŘECHODNÁ A ZÁVĚREČNÁ USTANOVENÍ

### Článek 16

#### Přechodná ustanovení

1. Členský stát může ve výjimečných případech do 31. prosince 2009 povolit použití trichinoskopické metody stanovené v kapitole III přílohy I pro domácí prasata a divoká prasata v případě, že:

a) jednotlivá jatečně upravená těla podle článku 2 je nutno jednotlivě vyšetřit v zařízení, které neporáží více než 15 domácích prasat denně nebo 75 domácích prasat týdně nebo nepřipravuje k uvedení na trh více než 10 divokých prasat denně; a

b) metody zjišťování stanovené v kapitolách I a II přílohy I nejsou k dispozici.

2. Pokud se použije trichinoskopická metoda, příslušný orgán zajistí, aby:

a) maso neslo označení zdravotní nezávadnosti jasně odlišné od označení zdravotní nezávadnosti podle čl. 5 odst. 1 písm. a) nařízení (ES) č. 853/2004 a aby bylo maso dodáno přímo konečnému spotřebiteli nebo maloobchodním podnikům přímo dodávajícím maso konečnému spotřebiteli a

b) maso nebylo použito k výrobě produktů, ve kterých výrobní postup neusmrcuje trichinely.

### Článek 17

#### Vstup v platnost

Toto nařízení vstupuje v platnost dvacátým dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropské unie*.

Použije se ode dne 1. ledna 2006.

Toto nařízení je závazné v celém rozsahu a přímo použitelné ve všech členských státech.

V Bruselu dne 5. prosince 2005.

*Za Komisi*

Markos KYPRIANOU

*člen Komise*

---

(<sup>1</sup>) Úř. věst. L 139, 30.4.2004, s. 206; opraveno v Úř. věst. L 226, 25.6.2004, s. 83.

(<sup>2</sup>) Úř. věst. L 139, 30.4.2004, s. 55; opraveno v Úř. věst. L 226, 25.6.2004, s. 22.

(<sup>3</sup>) Úř. věst. L 165, 30.4.2004, s. 1; opraveno v Úř. věst. L 191, 28.5.2004, s. 1.

(<sup>4</sup>) Úř. věst. L 26, 31.1.1977, s. 67.

(<sup>5</sup>) Úř. věst. L 157, 30.4.2004, s. 33; opraveno v Úř. věst. L 195, 2.6.2004, s. 12.

(<sup>6</sup>) Úř. věst. L 325, 12.12.2003, s. 31.

---

## PŘÍLOHA I

### Metody zjišťování

#### KAPITOLA I

#### REFERENČNÍ METODA ZJIŠŤOVÁNÍ

#### Metoda vyšetření hromadných vzorků trávící metodou s použitím magnetické míchačky

##### 1. Vybavení a činidla

- a) Nůž nebo nůžky a pinzeta na odebírání vzorků;
- b) tácy rozdělené na 50 čtverců, z nichž každý je schopen pojmout vzorky po přibližně 2 g masa, nebo jiné pomůcky poskytující ekvivalentní záruky pro zpětné dosledování vzorků;
- c) míchačka s ostrou sekací čepelí. Pokud jsou vzorky větší než 3 g, je nutno použít mlýnek na maso s otvory o průměru 2 až 4 mm nebo nůžky. U zmrazeného masa nebo jazyka (po odstranění povrchové vrstvy, kterou nelze trávit) je nutný mlýnek na maso a velikost vzorku je nutno značně zvětšit;
- d) magnetické míchačky s termostatem regulovanou topnou ploténkou a teflonem povlečenými míchacími tyčinkami o délce asi 5 cm;
- e) separační skleněné kuželovité nálevky o objemu alespoň 2 l, pokud možno opatřené teflonovými bezpečnostními zátkami;
- f) stojany, kruhy a svorky;
- g) sítko s velikostí oka 180 mikrometrů o vnějším průměru 11 cm, opatřené oky z korozivzdorné oceli;
- h) nálevky o vnitřním průměru alespoň 12 cm na podpírání sítěk;
- i) skleněné kádinky o objemu 3 l;
- j) skleněné odměrné válce o objemu 50 až 100 ml nebo odstředivkové kyvety;
- k) trichinoskop s vodorovnou plochou nebo stereomikroskop s přídatným zařízením se světelným zdrojem upravitelné intenzity;

- l)řada Petriho misek o průměru 9 cm (při stereomikroskopu) rozdělených na spodní straně na vyšetřovací čtvercové plošky 10 × 10 mm pomocí zahroceného nástroje;
- m)vanička pro počítání larev (při použití trichinoskopu) vyrobená z akrylátových desek o tloušťce 3 mm takto:
- i)dno vaničky má mít rozměry 180 × 40 mm a jsou na něm vyznačeny čtverce,
  - ii) boky mají mít rozměry 230 × 20 mm,
  - iii)čela mají mít rozměry 40 × 20 mm. Dno a čela je třeba vsunout mezi boky tak, že se získá vanička s dvěma krátkými držadly na obou čelech. Horní stranu dna je třeba zvednout o 7 až 9 mm nad základnu rámu tvořeného boky a čely. Díly je třeba upevnit pro materiál vhodným lepidlem;
- n) aluminiová fólie;
- o) 25% kyselina chlorovodíková;
- p)pepsin o koncentraci 1:10 000 NF (US National Formulary) odpovídající 1:12 500 BP (British Pharmacopoea) a 2 000 FIP (Fédération Internationale de Pharmacie);
- q) vodovodní voda ohřátá na 46 až 48 °C;
- r) váhy vážící s přesností na alespoň 0,1 g;
- s)kovové tácy o objemu 10 až 15 l pro zachycování zbytkové trávicí šťávy;
- t) pipety různých velikostí (1, 10 a 25 ml) a držáky pipet;
- u) teploměr měřící s přesností na 0,5 °C v rozmezí 1 až 100 °C;
- v) sifon na vodovodní vodu.

## **2. Odběr vzorků a množství k trávení**

- a)V případě celých jatečně upravených těl domácích prasat je nutno vzorek o hmotnosti alespoň 1 g odebrat od bráničního pilíře u přechodu do šlachovité části. Lze použít speciální kleště na trichinely, pokud lze zaručit přesnost 1,00 až 1,15 g.

U chovných prasnic či kanců musí být odebrán větší vzorek o hmotnosti nejméně 2 g od bráničního pilíře u přechodu do šlachovité části.

Pokud brániční pilíře chybí, je třeba vzorek o dvojnásobné velikosti 2 g (nebo 4 g u chovných prasnic či kanců) odebrat z žeberní části bránice u hrudní kosti, ze žvýkacího svalu, svalů jazyka nebo břišního svalstva.

- b)Z porcovaného masa je nutné odebrat alespoň pětigramový vzorek příčně pruhovaného svalstva s malým obsahem tuku, pokud možno v blízkosti kostí či šlach. Vzorek stejné velikosti je nutno odebrat u masa, které není určeno pro důkladné vaření nebo jiné druhy zpracování po porážce.

c) U zmrazených vzorků je třeba k analýze odebrat vzorek příčně pruhovaného svalstva o hmotnosti nejméně 5 g.

Hmotnost vzorků masa se týká vzorku masa zbaveného veškerého tuku a vazivové tkáně. Zvláštní pozornost je třeba věnovat odběru vzorků svaloviny z jazyka, aby se předešlo kontaminaci povrchovou vrstvou jazyka, která je nestravitelná a může bránit interpretaci sedimentu.

### **3. Postup**

#### **I. Kompletní skupiny (100 vzorků najednou)**

a)  $16 \pm 0,5$  ml kyseliny chlorovodíkové se přidá do třílitrové kádinky obsahující 2,0 l vodovodní vody zahřáté na 46 až 48 °C; do kádinky se vloží míchací tyčinka, kádinka se umístí na předeřátou ploténku a zahájí se míchání;

b) přidá se  $10 \pm 0,2$  g pepsinu;

c) 100 g vzorků odebraných podle bodu 2 se rozseká v míchačce;

d) nasekané maso se vnese do třílitrové kádinky obsahující vodu, pepsin a kyselinu chlorovodíkovou;

e) sekací hlava míchačky se opakovaně ponoří do trávící tekutiny v kádince a miska míchačky se opláchne malým množstvím trávěné tekutiny, aby se odstranilo všechno na ní dosud ulpělé maso;

f) kádinka se zakryje aluminiovou fólií;

g) magnetickou míchačku je třeba nastavit tak, aby po celou dobu provozu udržovala konstantní teplotu 44 až 46 °C. Během míchání se musí trávící tekutina otáčet v dostatečně vysokých otáčkách, aby vytvářela hluboký vír, ale nestříkala ven;

h) trávící tekutina se míchá, nežli zmizí částičky masa (zhruba 30 minut). Poté se míchačka vypne a trávící tekutina se přelije přes sítko do sedimentační nálevky. Při zpracování určitých druhů masa (jazyk, maso zvěře atd.) může být nutná delší doba trávení (nepřesahující 60 minut);

i) proces trávení se považuje za uspokojivý, pokud na sítku nezůstane více než 5 % počáteční hmotnosti vzorku;

j) trávící tekutina se ponechá v klidu v nálevce 30 minut;

k) po 30 minutách se rychle odpustí 40 ml vzorku trávící tekutiny do odměrného válce nebo odstředivkové kyvety;

l) trávící tekutiny a jiný kapalný odpad se ponechají na tácu do okamžiku, kdy je dokončeno odečítání výsledků;

m) 40 ml vzorek se nechá 10 minut odstát a potom se opatrně odsaje 30 ml tekutiny nad sedimentem, aby se odstranily vrchní vrstvy a zbyl objem nepřesahující 10 ml;



n) zbývající vzorek 10 ml usazeniny se přelije do vaničky na počítání larev nebo do Petriho misky;

o) válec nebo odstředivková zkumavka se vypláchnou nejvýše 10 ml vodovodní vody, která pak musí být přidána ke vzorku ve vaničce na počítání larev nebo v Petriho misce. Následně se vzorek vyšetří pod trichinoskopem nebo stereomikroskopem při patnáctinásobném až dvacetinásobném zvětšení. Vizualizace pomocí jiných technik je povolena, pokud se prokázalo, že vyšetření pozitivních kontrolních vzorků poskytují rovnocenné nebo lepší výsledky nežli tradiční metody vizualizace. Ve všech případech podezřelých oblastí nebo parazitům podobných tvarů je nutno použít vyšší šedesátinásobné až stonásobné zvětšení;

p) natrávené výluhy je třeba vyšetřit okamžitě, jakmile jsou k dispozici. Vyšetření nesmí být za žádných okolností odloženo na následující den;

Nejsou-li výluhy vyšetřeny do 30 minut po přípravě, je třeba je vyčířit takto: konečný vzorek asi 40 ml se nalije do odměrného válce a ponechá 10 minut stát. Pak se odebere 30 ml tekutiny nad sedimentem a zbude 10 ml. Tento objem se doplní na 40 ml vodovodní vodou. Po dalším desetiminutovém stání se odsaje horních 30 ml a zbylých nejvýše 10 ml se převede do Petriho misky nebo počítací vaničky k vyšetření. Odměrný válec je třeba vymýt nejvýše 10 ml vodovodní vody a tato prací voda se přidá k vzorku v Petriho misce nebo vaničce pro počítání larev k vyšetření.

Jestliže se ukáže, že je sediment při vyšetření zakalený, vzorek se nalije do odměrného válce a doplní na 40 ml vodovodní vodou a shora uvedený postup se zopakuje. Postup lze zopakovat dvakrát až čtyřikrát, dokud není tekutina dostatečně čirá pro spolehlivé vyšetření.

## **II. Skupiny s méně než 100 g**

V případě potřeby lze k celkové skupině 100 g doplnit až 15 g a vyšetřovat je společně se těmito vzorky podle odstavce 3 I. Jako kompletní skupina musí být vyšetřováno více než 15 g. Pro skupiny do 50 g lze trávicí tekutinu a činidla omezit na 1 litr vody, 8 ml kyseliny chlorovodíkové a 5 g pepsinu.

## **III. Pozitivní nebo nejisté výsledky**

Pokud vyšetření hromadného vzorku vykáže pozitivní nebo nejistý výsledek, odebere se další dvacetigramový vzorek z každého prasete podle odst. 2 písm. a). Tyto dvacetigramové vzorky z pěti prasat se spojí a vyšetří shora uvedeným způsobem. Tak se vyšetří vzorky z 20 skupin po pěti prasatech.

Jestliže se ve společném vzorku z pěti prasat zjistí přítomnost trichinel, odeberou se z jednotlivých prasat ve skupině další dvacetigramové vzorky a každý z nich se vyšetří odděleně shora uvedeným způsobem.

Vzorky parazitů se musí uchovávat v 90 % etylalkoholu pro konzervaci a určení na úrovni druhu v referenční laboratoři Společenství nebo národní referenční laboratoři.

Po odběru parazitů se musí pozitivní tekutiny (trávicí šťáva, tekutina nad sedimentem, prací vody atd.) dekontaminovat zahřátím nejméně na teplotu 60 °C.

## **KAPITOLA II**

### **EKVIVALENTNÍ METODY**

#### **A. Metoda trávení hromadného vzorku pomocí mechanického zařízení a sedimentační techniky**

##### **1. Vybavení a činidla**

- a) Nůž nebo nůžky pro odběr vzorků;
- b) tácy rozdělené na 50 čtverců, z nichž každý je schopen pojmout vzorky po přibližně 2 g masa, nebo jiné pomůcky poskytující ekvivalentní záruky pro zpětné dosledování vzorků;
- c) mlýnek na maso nebo elektrická míchačka,
- d) laboratorní míchačka (homogenizátor) Stomacher, model 3 500 Thermo;
- e) plastové vaky vhodné pro laboratorní míchačku Stomacher;
- f) kuželové dělicí nálevky o objemu 2 l, pokud možno opatřené teflonovými bezpečnostními zátkami;
- g) stojany, kruhy a svorky;
- h) sítko s velikostí oka 180 mikrometrů o vnějším průměru 11 cm, opatřené sítím z korozi-vzdorné oceli nebo mosazi;
- i) nálevky s vnitřním průměrem nejméně 12 cm pro podporu sítěk;
- j) 100ml skleněné odměrné válce;
- k) teploměr měřící s přesností na 0,5 °C v rozmezí 1 až 100 °C;
- l) vibrátor, např. elektrický holicí strojek se sejmutou hlavou;
- m) časové spínací relé spínající v minutových intervalech;
- n) trichinoskop s horizontálním stolkem nebo stereomikroskop s přídatným zařízením se světelným zdrojem upravitelné intenzity;
- o) vanička pro počítání larev a několik Petriho misek o průměru 9 cm podle kapitoly I odst. 1 písm. l) a m);
- p) 17,5% kyselina chlorovodíková;

- q) pepsin o koncentraci 1:10 000 NF (US national formulary) odpovídající 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) a 2 000 FIP (Fédération Internationale de Pharmacie);
- r) několik desetilitrových nádob použitelných pro dekontaminaci zařízení, např. ošetření formolem, a pro zbývající natrávenou šťávu v případě pozitivních vzorků;
- s) váhy vážící s přesností na 0,1 g.

## **2. Odběr vzorků a množství k trávení**

Podle kapitoly I odst. 2.

## **3. Postup**

### **I. Rozemletí**

Předem provedené rozemletí vzorků masa v mlýnku na maso zlepšuje kvalitu trávení. Pokud se použije elektrická míchačka, musí být spuštěna třikrát až čtyřikrát pokaždé na zhruba jednu sekundu.

### **II. Postup trávení**

Tento postup se může týkat kompletních skupin (100 g vzorků najednou) nebo skupin o méně než 100 g.

a) Kompletní skupiny (100 vzorků najednou):

- i) laboratorní míchačku Stomacher 3 500 je třeba vybavit dvojitým plastovým vakem a regulaci teploty nastavit na 40 až 41 °C;
- ii) do vnitřního plastového vaku se nalije jeden a půl litru vody předehřáté na 40 až 41 °C;
- iii) k vodě v míchačce se přidá 25 ml 17,5% kyseliny chlorovodíkové;
- iv) přidá se 100 vzorků po přibližně 1 g (při 25 až 30 °C) odebraných podle bodu 2 výše z každého z individuálních vzorků;
- v) nakonec se přidá 6 g pepsinu. Toto pořadí je třeba přísně dodržet, aby se předešlo rozkladu pepsinu;
- vi) obsah vaku se nechá v míchačce Stomacher rozmělnovat 25 minut;
- vii) plastový vak se z přístroje vyjme a trávicí tekutina se přefiltruje přes sítko do třílitrové kádinky;
- viii) plastový vak se vymyje asi 100 ml vody, která se pak použije pro promytí sítka a nakonec se přidá k filtrátu do kádinky;
- ix) k celkové skupině 100 vzorků lze připojit až 15 jednotlivých vzorků a vyšetřit je společně s těmito vzorky.

b) Menší skupiny (méně než 100 vzorků):

- i) laboratorní míchačku Stomacher 3 500 je třeba vybavit dvojitým plastovým vakem a regulaci teploty nastavit na 40 až 41 °C;
- ii) trávící tekutina se připraví smíšením asi jednoho a půl litru vody a 25 ml 17,5 % kyseliny chlorovodíkové. Přidá se 6 g pepsinu a celá směs se promíchá při teplotě 40 až 41 °C. Toto pořadí je třeba přísně dodržet, aby se předešlo rozkladu pepsinu;
- iii) z trávící tekutiny se odměří objem odpovídající 15 ml na gram vzorku (např. na 30 vzorků je potřebných 30 × 15 ml, neboli 450 ml) a přenesení se do vnitřního z obou plastových vaků společně se vzorky masa velikosti asi 1 g (při 25 až 30 °C) odebranými z každého z individuálních vzorků podle odstavce 2 výše;
- iv) do vnějšího vaku se přidá voda o teplotě asi 41 °C tak, aby celkový objem v obou vacích činil jeden a půl litru. Obsah vaku se potom nechá v míchačce Stomacher rozměňovat 25 minut;
- v) plastový vak se z přístroje vyjme a trávící tekutina se přefiltruje přes sítko do třílitrové kádinky;
- vi) plastový vak se vymyje asi 100 ml vody (o teplotě 25 až 30 °C), která se pak použije pro promytí sítka a nakonec se přidá k filtrátu do kádinky.

### III. Získání larev sedimentací

- K natrávené tekutině se přidá led (300 až 400 g ledu ve formě vloček, šupin nebo drti) tak, že se její objem doplní asi na 2 litry. Trávící tekutina se pak míchá tak dlouho, dokud led neroztaje. V případě menších skupin (viz odst. II b), je třeba množství ledu příslušně snížit,
- vychlazená natrávená tekutina se převede do dvoulitrové dělicí nálevky opatřené vibrátorem uchyceným ve vnější sorce,
- směs se ponechá 30 minut sedimentovat, přičemž se na dělicí nálevku působí přerušovaně vibrátorem, tj. jedna minuta vibrací následovaná jednou minutou klidu,
- po 30 minutách se rychle odpustí 60 ml vzorku sedimentu do odměrného válce o objemu 100 ml (po použití se nálevka vypláchne detergentem),
- tento 60ml vzorek se ponechá nejméně 10 minut odstát. Po této době se odsaje tekutina nad sedimentem a ponechá objem asi 15 ml, který se vyšetří na přítomnost larev,
- pro odsátí lze použít injekční stříkačku na jedno použití opatřenou plastovou trubičkou. Je třeba, aby trubička měla takovou délku, že v odměrném válci zůstane 15 ml tekutiny, když se příruba injekční stříkačky opře o okraj válce,
- zbývajících 15 ml se přelije do vaničky na počítání larev nebo dvou Petriho

misek a vyšetří pod trichinoskopem nebo stereomikroskopem,

—odměrný válec se vymyje 5 až 10 ml vodovodní vody a prací voda se přidá ke vzorku,

—natrávené výluhy je třeba vyšetřit okamžitě, jakmile jsou k dispozici. Vyšetření nesmí být za žádných okolností odloženo na následující den.

Jsou-li výluhy kalné nebo nejsou-li vyšetřeny do 30 minut po přípravě, je třeba je vyčistit takto:

—konečný vzorek 60 ml se nalije do odměrného válce a ponechá 10 minut stát. Pak se odsaje 45 ml tekutiny nad sedimentem a zbývajících 15 ml doplní na 45 ml vodovodní vodou,

—po dalším desetiminutovém stání se odsaje horních 30 ml a zbylých 15 ml se převede do Petriho misky nebo počítací vaničky k vyšetření,

—odměrný válec se vymyje 10 ml vodovodní vody a tato prací voda se přidá k vzorku v Petriho misce nebo vaničce pro počítání larev k vyšetření.

#### **IV. Pozitivní nebo nejisté výsledky**

Pokud je výsledek pozitivní nebo nejistý, použijí se ustanovení kapitoly I bodu 3 oddílu III.

### **B. Metoda trávení směsného vzorku pomocí mechanického zařízení a techniky „izolace na filtru“**

#### **1. Vybavení a činidla**

Jak uvádí kapitola IIA 1.

Další vybavení:

- a) Gelmanova nálevka o objemu 1 l doplněná držákem filtru (o průměru 45 mm);
- b) filtrační kotoučky; tyto filtrační kotoučky se skládají z kruhového sítko z korozivzdorné oceli o průměru 45 mm a s velikostí otvorů 35 mikrometrů, dvou pryžových kroužků z 1 mm tlusté pryže (o vnějším průměru 45 mm a vnitřním průměru 35 mm), kruhové sítko se vloží mezi oba pryžové kroužky a vlepí se mezi ně dvousložkovým lepidlem, slučitelným s oběma materiály;
- c) Erlenmeyerova baňka o objemu 3 litry s postranní trubicí na odsávání;
- d) filtrační vývěva;
- e) plastové váčky o objemu nejméně 80 ml;
- f) zařízení na zatavování plastických sáčků;
- g) reniláza o koncentraci 1:150 000 Soxhletových jednotek na gram.

## 2. Odběr vzorků

Jak uvádí kapitola I 2.

## 3. Postup

### I. Rozemletí

Předem provedené rozemletí vzorků masa v mlýnku na maso zlepšuje kvalitu trávení. Pokud se použije elektrická míchačka, musí být spuštěna třikrát až čtyřikrát pokaždé na zhruba jednu sekundu.

### II. Postup trávení

Tento postup se může týkat kompletních skupin (100 g vzorků najednou) nebo skupin o méně než 100 g.

a) Kompletní skupiny (100 vzorků najednou)

Viz kapitola IIA 3 II a).

b) Menší skupiny (méně než 100 vzorků)

Viz kapitola IIA 3 II b).

### III. Získání larev filtrací

a) K natrávené tekutině se přidá led (300 až 400 g ledu ve formě vloček, šupin nebo drti) tak, že se její objem doplní asi na 2 litry. V případě menších skupin je třeba množství ledu příslušně snížit;

b) trávicí tekutina se míchá tak dlouho, dokud led neroztaje. Vychlazená trávicí tekutina se pak ponechá nejméně tři minuty v klidu, aby se larvy svinuly;

c) na Erlenmeyerovu baňku připojenou na vývěvu se připojí Gelmanova nálevka s držákem filtru a filtračním kotoučkem;

d) trávicí tekutina se pak nalije do Gelmanovy nálevky a přefiltruje. Ke konci filtrace lze průchod trávicí tekutiny filtrem urychlit pomocí odsávání vývěvou. Jakmile je filtr téměř suchý, tj. když v nálevce zbývá jen asi 2 až 5 ml tekutiny, je třeba odsávání ukončit;

e) po přefiltrování veškeré trávicí tekutiny se vyjme filtrační kotouček a vloží se do plastového váčku o objemu 80 ml spolu s 15 až 20 ml roztoku renilázy. Tento roztok renilázy se získá přidáním 2 g renilázy do 100 ml vodovodní vody;

f) plastový váček se dvakrát zataví a vloží do míchačky Stomacher mezi vnější a vnitřní vak;

g) obsah se v míchačce nechá rozmělnovat po dobu tří minut při zpracování kompletní i nekompletní skupiny;

h) po třech minutách se plastový váček s filtračním kotoučkem a roztokem

renilázy vyjme z míchačky a otevře nůžkami. Kapalný obsah se nalije do vaničky na počítání larev nebo na Petriho misku. Váček se vymyje 5 až 10 ml vody, která se pak přidá do vaničky pro vyšetření trichinoskopem nebo do Petriho misky pro vyšetření pod stereomikroskopem;

i) natrávené výluhy je třeba vyšetřit okamžitě, jakmile jsou k dispozici. Vyšetření nesmí být za žádných okolností odloženo na následující den.

*Pozn.:* Filtrační kotoučky se nesmí použít, nejsou-li dokonale čisté. Nečisté kotoučky se nikdy nemají nechat vyschnout. Filtrační kotoučky lze vyčistit ponecháním v roztoku renilázy přes noc. Před použitím je třeba je vyprat v čerstvém roztoku renilázy pomocí míchačky Stomacher.

#### **IV. Pozitivní nebo nejisté výsledky**

Pokud je výsledek pozitivní nebo nejistý, použijí se ustanovení kapitoly I bodu 3 oddílu III.

### **C. Automatická metoda trávení pro hromadné vzorky do 35 g**

#### **1. Vybavení a činidla**

- a) Nůž nebo nůžky pro odběr vzorků;
- b) tácy rozdělené na 50 čtverců, z nichž každý je schopen pojmout vzorky po přibližně 2 g masa, nebo jiné pomůcky poskytující ekvivalentní záruky pro zpětné dosledování vzorků;
- c) míchačka Trichomatic 35<sup>o</sup> s filtrační vložkou;
- d) kyselina chlorovodíková 8,5 ± 0,5 %;
- e) průhledné membránové filtry z polykarbonátu o průměru 50 mm a velikosti pórů 14 mikrometrů;
- f) pepsin o koncentraci 1:10 000 NF (US National Formulary) odpovídající 1:125 000 BP (British Pharmacopoeia) a 2 000 FIP (Fédération Internationale de Pharmacie);
- g) váhy vážící s přesností na 0,1 g;
- h) pinzety s plochou špičkou;
- i) několik mikroskopových skel dlouhých nejméně 5 cm nebo několik Petriho misek o průměru nejméně 6 cm rozdělených na spodní straně na vyšetřovací čtvercové plošky 10 × 10 mm pomocí zahroceného nástroje;
- j) (stereo) mikroskop s osvětlením (patnáctinásobné až šedesátinásobné zvětšení) nebo trichinoskop s horizontálním stolkem;
- k) nádoba na odběr odpadních tekutin;
- l) několik desetilitrových nádob použitelných pro dekontaminaci zařízení, např.

ošetření formolem, a pro zbývající natrávenou šťávu v případě pozitivních vzorků;

m) teploměr měřící s přesností na 0,5 °C v rozmezí 1 až 100 °C.

## **2. Odběr vzorků**

Jak uvádí kapitola I 2.

## **3. Postup**

### **I. Postup trávení:**

a) míchačku opatřete filtrační vložkou, připojte odpadní nádobu a umístěte válec tak, aby odkapával do odpadní nádoby;

b) po zapnutí míchačky začne zahřívání;

c) předtím musí být spodní ventil pod reakční komorou otevřen a zavřen;

d) pak se přidá až 35 vzorků o individuální hmotnosti zhruba 1 g (při 25 až 30 °C) odebraných z každého jednotlivého vzorku v souladu s bodem 2. Zajistěte odstranění větších kousků šlach, protože se mohou srážet na membránovém filtru;

e) nalijte vodu k okraji komory na tekutinu připojené k míchačce (zhruba 400 ml).

f) nalijte zhruba 30 ml kyseliny chlorovodíkové (8,5 %) k okraji menší připojené komory na tekutinu;

g) umístěte membránový filtr pod hrubý filtr v držáku filtru ve filtrové vložce;

h) nakonec přidejte 7 g pepsinu. Toto pořadí je třeba přísně dodržet, aby se předešlo rozkladu pepsinu;

i) zavřete víčka reakční a tekutinové komory;

j) zvolte dobu trávení. Krátkou dobu trávení (5 minut) je třeba nastavit pro prasata v obvyklém porážkovém věku a delší dobu (8 minut) pro ostatní vzorky;

k) při zapnutí spínače na míchačce automaticky začne proces rozptylování a trávení, následovaný filtrací. Po 10–13 minutách je proces dokončen a automaticky se zastaví;

l) zkontrolujte, zda je reakční komora prázdná a otevřete její víčko. Pokud v komoře zbývá pěna nebo trávící tekutina, opakujte postup podle bodu V.

### **II. Získání larev:**

a) vyjměte držák filtru a přeneste membránový filtr na sklíčko nebo Petriho misku;

b) vyšetřete membránový filtr pomocí (stereo) mikroskopu nebo trichinoskopu.



### **III. Čištění vybavení:**

- a) pokud je výsledek pozitivní, naplňte reakční komoru vroucí vodou do dvou třetin. Obyčejnou vodovodní vodu nalijte do připojené komory na tekutinu, než pokryje spodní senzor. Proběhne automatické čištění. Dekontaminujte držák filtru a další vybavení, např. pomocí formolu;
- b) po skončení práce naplňte míchačku vodou a nechte proběhnout standardní cyklus.

### **IV. Použití membránových filtrů**

Každý polykarbonátový membránový filtr lze použít nejvýše pětkrát. Mezi každým použitím se filtr musí otočit. Kromě toho musí být filtr po každém použití zkontrolován, zda není poškozen tak, že by byl nevhodný k dalšímu použití.

### **V. Metoda používaná v případě, že trávení je neúplné a nelze provést filtraci**

Jakmile je zapnut automatický cyklus na míchačce v souladu s bodem C 3 I, otevřete víčko reakční komory a zkontrolujte, zda uvnitř zbývá pěna nebo tekutina. Pokud ano, postupujte takto:

- a) uzavřete spodní ventil pod reakční komorou;
- b) vyjměte držák filtru a přeneste membránový filtr na sklíčko nebo Petriho misku;
- c) vložte do držáku nový membránový filtr a připojte držák filtru;
- d) naplňte komoru na tekutinu v míchačce vodou, až pokryje spodní senzor;
- e) proveďte automatický čisticí cyklus;
- f) po skončení čisticího cyklu otevřete víčko reakční komory a zkontrolujte, zda uvnitř zbývá tekutina;
- g) pokud je komora prázdná, vyjměte držák filtru a přeneste pinzetou membránový filtr na sklíčko nebo Petriho misku;
- h) vyšetřete oba membránové filtry podle části C bodu 3 oddílu II. Pokud filtry nelze vyšetřit, opakujte celý trávicí proces s delším časem trávení podle bodu C 3 I.

### **VI. Pozitivní nebo nejisté výsledky**

Pokud je výsledek pozitivní nebo nejistý, použijí se ustanovení kapitoly I bodu 3 oddílu III.

## KAPITOLA III

### TRICHINOSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ

#### 1. Vybavení

- a) Trichinoskop se žhavicí lampou umožňující třicetinásobné až čtyřicetinásobné zvětšení a osmdesátinásobné až stonásobné zvětšení nebo stereomikroskop s přídatným zařízením se světelným zdrojem upravitelné intenzity;
- b) kompresorium sestávající ze dvou skleněných přitlačných destiček (jedna z nich je rozdělena na pole stejných rozměrů);
- c) malé zahnuté nůžky;
- d) malé lékařské kleště;
- e) nůž na krájení vzorků;
- f) malé číslované zásobníky na oddělené skladování vzorků;
- g) kapátková pipeta;
- h) sklenice kyseliny octové a roztoku hydroxidu draselného pro zjasnění zvápenatění nebo pro změkčení suchého masa.

#### 2. Odběr vzorků

V případě celých jatečně upravených těl musí být odebráno několik vzorků velikosti lískového ořechu z každého zvířete:

- a) u domácích prasat se odebírají tyto vzorky:
  - z obou bráničních pilířů u přechodu do šlachovité části.
- b) U vzorků z divokých prasat se vzorky odebírají z obou bráničních pilířů u přechodu do šlachovité části a kromě toho z čelisti, svalů dolní kýty, mezižeberní svaloviny a ze svalů jazyka, tedy celkem šest vzorků z každého zvířete.
- c) Pokud nejsou k odběru určité svaly k dispozici, odeberou se celkem čtyři vzorky ze svalů, které k dispozici jsou.
- d) U kusů masa se odebírají čtyři vzorky příčně pruhované svaloviny velikosti lískového ořechu, pokud možno bez tuku, z různých míst, pokud možno z blízkosti kostí nebo šlach.

#### 3. Postup

- a) Kompresorium se naplní  $1,0 \pm 0,1$  g masa, což obvykle odpovídá 28 kouskům o velikosti ovesného zrna. V případě potřeby je nutno naplnit dvě kompresoria pro vyšetření 56 kousků o velikosti ovesného zrna;

- b) pokud jsou u domácího prasete k dispozici oba brániční pilíře, musí kontrolor příslušný pro zjišťování přítomnosti trichinel uříznout z každého výše uvedeného vzorku odebraného z celého jatečně upraveného těla zvířete 28 kousků velikosti ovesného zrna, tedy celkem 56 kousků;
- c) pokud je k dispozici pouze jeden brániční pilíř, odřízne se 56 kousků na různých místech, pokud možno z přechodu mezi svalovou a šlachovitou částí;
- d) vzorky odebrané z dalších čtyř svalů divokého prasete se jednotlivě rozřežou na sedm kousků o velikosti ovesného zrna, tedy celkem 28 dalších kousků;
- e) kontrolor příslušný pro zjišťování přítomnosti trichinel pak stlačí 56 (nebo 84) kousků mezi sklíčka tak, aby bylo možno přes preparát zřetelně přečíst normální tištěné písmo;
- f) pokud je maso vzorku k vyšetření suché a staré, musí být preparáty změkčovány po dobu 10 až 20 minut před vtlačení do sklíček ve směsi roztoku hydroxidu sodného a vody v poměru zhruba 1:2;
- g) z každého vzorku odebraného z kousků masa musí kontrolor přítomnosti trichinel nařezat 14 kousků o velikosti ovesného zrna, tedy celkem 56 kousků;
- h) mikroskopické vyšetření musí být prováděno tak, aby byl každý preparát vyšetřen pomalu a pečlivě při třicetinásobném až čtyřicetinásobném zvětšení;
- i) pokud trichinoskopické vyšetření odhalí podezřelá místa, musí být tato místa vyšetřena při největším zvětšení trichinoskopu (osmdesátinásobném až stonásobném);
- j) v případě nejistého výsledku musí se vyšetření opakovat na dalších vzorcích a preparátech, dokud nejsou získány požadované údaje. Trichinoskopické vyšetření musí být prováděno nejméně šest minut;
- k) minimální doba určená pro vyšetření nezahrnuje dobu nutnou pro odebrání vzorků a zhotovení preparátů;
- l) obecně platí, že by kontrolor neměl trichinoskopem vyšetřit více než 840 kousků za den, což odpovídá vyšetření 15 domácích prasat nebo 10 divokých prasat.

---

## PŘÍLOHA II

### Ošetření masa zmražením

#### A. Metoda zmrazování 1

- a) Již zmrazené dovezené maso musí být v tomto stavu udržováno;
- b) technické vybavení a zásobování zmrazovací místnosti energií musí být takové, aby zajistilo, že se velmi rychle dosáhne požadované teploty a tato teplota se

- udrží ve všech částech místnosti a ve všech částech masa;
- c) před zmrazením by měly být odděleny všechny izolační obaly s výjimkou masa, které již celkově dosáhlo požadované teploty v době, kdy bylo dovezeno do zmrazovací místnosti, nebo masa baleného tak, že obal nebrání dosažení požadované teploty v určeném čase;
- d) zásilky musí být ve zmrazovací místnosti uchovávány odděleně a zamčeny;
- e) musí být zaznamenáno datum a čas, kdy byly jednotlivé zásilky dovezeny do zmrazovací místnosti;
- f) teplota ve zmrazovací místnosti musí být alespoň  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Měla by být měřena kalibrovanými termoelektrickými přístroji a průběžně zaznamenávána. Nesmí být měřena přímo v proudu studeného vzduchu. Přístroje musí být uchovávány uzamčeny. Teplotní tabulky musí zahrnovat příslušná čísla z registru kontrol masa při dovozu a datum a čas zahájení a dokončení zmrazování a musí být uchovány jeden rok po sestavení;
- g) maso o průměru nebo tloušťce do 25 cm musí být mraženo nepřerušovaně alespoň 240 hodin, maso o průměru nebo tloušťce mezi 25 a 50 cm musí být nepřerušovaně mraženo alespoň 480 hodin. Tento zmrazovací postup se nesmí použít na maso o větším průměru nebo tloušťce. Doba mrazení se začne počítat o doby, kdy bylo ve zmrazovací místnosti dosaženo teploty specifikované v bodu f).

## **B. Metoda zmrazování 2**

- a) maso o průměru nebo tloušťce do 15 cm musí být mraženo při jedné z těchto kombinací času a teploty:
- 20 dnů při  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
  - 10 dnů při  $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
  - 6 dnů při  $-29\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- b) maso o průměru nebo tloušťce mezi 15 až 50 cm musí být mraženo při jedné z těchto kombinací času a teploty:
- 30 dnů při  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
  - 20 dnů při  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
  - 12 dnů při  $-29\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Teplota ve zmrazovací místnosti nesmí být vyšší než úroveň zvolené deaktivací teploty. Musí být měřena kalibrovanými termoelektrickými přístroji a průběžně zaznamenávána. Nesmí být měřena přímo v proudu studeného vzduchu. Přístroje musí být uchovávány uzamčeny. Teplotní tabulky musí zahrnovat příslušná čísla z registru kontrol masa při dovozu a datum a čas

zahájení a dokončení zmrazování a musí být uchovány jeden rok po sestavení.

Při použití mrazicích tunelů a nepřesném dodržování výše uvedených postupů musí být provozovatel potravinářského podniku schopen prokázat příslušnému orgánu, že alternativní metoda je účinná při usmrcování parazitů *Trichinella* ve vepřovém mase.

### **C. Metoda zmrazování 3**

Ošetření se skládá z komerčního zmrazení a sušení masa při specifikované kombinaci času a teploty se sledováním teploty ve středu každého dílu masa.

a) Obecná ustanovení bodů a) až e) metody 1 musí být splněna s následujícími kombinacemi času a teploty:

- 106 hodin při  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
- 82 hodin při  $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
- 63 hodin při  $-23,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
- 48 hodin při  $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
- 35 hodin při  $-29\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
- 22 hodin při  $-32\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
- 8 hodin při  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
- 1/2 hodiny při  $-37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

b) Teplota musí být měřena kalibrovanými termoelektrickými přístroji a průběžně zaznamenávána. Teploměřová sonda se vloží do středu dílu masa ne menšího než nejtlustší kus mraženého masa. Tento díl musí být umístěn do nejméně příznivého místa ve zmrazovací místnosti, ne blízko mrazicího zařízení a ne přímo do proudu studeného vzduchu. Přístroje musí být uchovávány uzamčeny. Teplotní tabulky musí zahrnovat příslušná čísla z registru kontrol masa při dovozu a datum a čas zahájení a dokončení zmrazování a musí být uchovány jeden rok po sestavení.

---

## **PŘÍLOHA III**

### **Vyšetření jiných zvířat než prasat**

Koňské maso, maso volně žijící zvěře a jiné maso, které může obsahovat parazity rodu *Trichinella*, musí být vyšetřeno v souladu s jednou z trávících metod specifikovaných v kapitole I nebo II přílohy I, s těmito změnami:

a) vzorky o váze nejméně 10 g se odebírají ze svalu jazyka nebo ze žvýkacího svalstva u koní a z přední nohy, jazyka nebo bránice u divokých prasat;

- b) pokud u koní tyto svaly chybí, odebere se velký vzorek z bráničního pilíře u přechodu do šlachovité části. Sval musí být očištěn od spojovací tkáně a tuku;
- c) nejméně 5 g vzorku je tráveno podle referenční metody zjišťování v kapitole I přílohy I nebo ekvivalentní metody v kapitole II. U každého trávení nesmí celková váha vyšetřovaného svalu přesáhnout 100 g u metody v kapitole I a metod A a B v kapitole II a 35 g u metody C v kapitole II;
- d) pokud je výsledek pozitivní, odebere se další vzorek o hmotnosti 50 g k dalšímu nezávislému vyšetření;
- e) aniž jsou dotčeny předpisy pro zachování druhů zvířat, veškeré maso zvěře kromě divokých prasat, jako jsou medvědi, masožraví savci (včetně mořských savců) a plazi, se musí testovat odběrem vzorku o hmotnosti 10 g svaloviny na určených částech nebo většího vzorku v případě, že tato místa nejsou k dispozici. Určené části jsou:
- i) u medvěda: bránice, žvýkací sval a jazyk;
  - ii) u mrože: jazyk;
  - iii) u krokodýlů: žvýkací sval, pterygoid a mezižeberní svaly;
  - iv) u ptáků: svaly hlavy (např. žvýkací sval a svaly krku).
- f) Doba trávení musí být dostatečná pro odpovídající natrávení tkání těchto zvířat, nesmí však přesáhnout 60 minut.

---

## PŘÍLOHA IV

### **Podrobné podmínky pro hospodářství prostá *trichinel* a regiony se zanedbatelným rizikem výskytu *trichinel***

Pro účely této přílohy se:

„řízenými podmínkami ustájení v integrovaných výrobních systémech“ rozumí druh chovu, ve kterém jsou prasata vždy chována za podmínek řízených provozovatelem v potravinářství, pokud jde o krmení a ustájení.

#### **KAPITOLA I**

#### **POVINNOSTI PROVOZOVATELŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ**

A. Následující požadavky musí provozovatelé v potravinářství splnit, aby získali úřední uznání hospodářství jako hospodářství prostého *trichinel*:

- a) provozovatel musí přijmout veškerá praktická opatření ohledně stavební konstrukce a údržby, aby zamezil přístupu hlodavců, jakýchkoli savců a velkých masožravých ptáků do budov, ve kterých jsou chována zvířata;

- b) provozovatel musí provádět program kontroly škůdců, zejména hlodavců, aby zamezil nákaze prasat. Provozovatel musí vést záznamy o programu ke spokojenosti příslušného orgánu;
- c) provozovatel musí zajistit, aby bylo veškeré krmivo získáno ze zařízení, které vyrábí krmivo v souladu se zásadami popsány v nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 183/2005 ze dne 12. ledna 2005, které stanoví požadavky na hygienu krmiv<sup>(1)</sup>;
- d) provozovatel musí krmivo určené pro druhy zvířat vnímavé k trichinelám skladovat v uzavřených silech nebo jiných kontejnerech neprostupných pro hlodavce. Veškeré další dodávky krmiva musí být tepelně ošetřeny nebo vyrobeny a skladovány ke spokojenosti příslušného orgánu;
- e) provozovatel musí zajistit, aby byla uhynulá zvířata odebrána k hygienické likvidaci do 24 hodin od okamžiku smrti. Mrtvá selata však lze odebrat a do likvidace skladovat v podniku v řádně uzavřeném kontejneru;
- f) pokud je v sousedství hospodářství skládka odpadu, musí provozovatel informovat příslušný orgán. Příslušný orgán musí následně vyhodnotit související rizika a rozhodnout, zda má být hospodářství uznáno za prosté trichinel;
- g) provozovatel musí zajistit, aby selata přicházející do hospodářství zvnějšku a koupená prasata byla narozena a odchována v řízených podmínkách ustájení v integrovaných výrobních systémech;
- h) provozovatel musí zajistit, aby byla prasata označena tak, aby bylo možno každé zvíře zpětně vysledovat do hospodářství;
- i) provozovatel může do hospodářství přivést nová zvířata, pouze pokud:
- i) pocházejí z hospodářství úředně uznaných za prostá trichinel, nebo
  - ii) jsou doprovázena osvědčením, které ověří příslušný orgán ve vývozní zemi a které uvádí, že zvířata pocházejí z hospodářství uznaného za prosté *trichinel*, nebo
  - iii) jsou držena v izolaci, nežli se výsledky sérologického testu schváleného referenční laboratoří Společenství prokáží jako negativní. Odběr sérologických vzorků musí začít až poté, co byla zvířata v hospodářství po čtyři týdny;
- j) provozovatel zajistí, aby žádná prasata určená k porážce neměla během celého produkčního období přístup mimo ustájení;
- k) přístup mimo ustájení v prvních několika týdnech před odstavením je povolen při splnění těchto podmínek:
- i) u domácích zvířat v zemi nebyla prokázána žádná nákaza trichinelami v posledních 10 letech,
  - ii) existuje roční program dohledu nad volně žijícími živočichy vnímavými k trichinelám. Program vychází z rizik a probíhá v oblasti epidemiologicky

související s geografickou polohou hospodářství prostých trichinel. Program testuje příslušné indikátorové druhy na základě předchozích zjištění. Výsledky vykazují přítomnost trichinel u indikátorových zvířat pod 0,5 %,

- iii) v exteriéru jsou zvířata v řádně oplocených oblastech,
- iv) existuje program sledování podle článku 11 a sledování je u dotčených hospodářství častější,
- v) u všech prasnic a kanců určených k chovu v hospodářství se při porážce odebírají vzorky pro vyšetření pomocí referenční metody zjišťování popsané v kapitole I přílohy I nebo jedné z ekvivalentních metod popsaných v kapitole II přílohy I a
- vi) jsou přijímány kroky k prevenci přístupu velkých masožravých a všežravých ptáků (např. vran, dravců).

B. Provozovatelé potravinářských podniků uznaných za prosté trichinel informují příslušný orgán, pokud jakýkoli požadavek z bodu A již není plněn nebo došlo k jakékoli jiné změně, kterou by mohl být dotčen status hospodářství jako hospodářství prostého trichinel.

## KAPITOLA II

### POVINNOSTI PŘÍSLUŠNÝCH ORGÁNŮ

A. Příslušné orgány v členských státech, kde byly trichinely zjištěny u domácích prasat v posledních 10 letech, mohou uznat hospodářství za hospodářství prosté trichinel, pokud:

- a) jsou provedeny nejméně dvě kontrolní návštěvy ve 12 měsících před uznáním hospodářství pro ověření souladu s požadavky kapitoly I části A přílohy IV a
- b) všechna prasata odeslaná na jatka během 24 měsíců před uznáním nebo delší doby, pokud to příslušný orgán považuje za nutné, byla testována, aby se ke spokojenosti příslušného orgánu zajistilo, že dostatečný počet zvířat z hospodářství byl testován pomocí jedné z metod zjišťování parazitů popsaných v kapitole I a II přílohy I; a
- c) výsledky testů byly negativní a
- d) byl zaveden z rizik vycházející program sledování volně žijících živočichů v místech, kde společně existují volně žijící živočichové a hospodářství žádající o status hospodářství prostých trichinel; program sledování optimalizuje zjišťování parazitů pomocí nejvhodnějších indikátorových zvířat a zjišťovací techniky, odběrem vzorků podle počtu zvířat a co největších vzorků masa; parazité zjištěné u volně žijících živočichů jsou určeny na úrovni druhu v národní referenční laboratoři nebo referenční laboratoři Společenství; referenční laboratoř Společenství může poskytovat pomoc zpracováním standardizovaného protokolu pro program sledování volně



žijících živočichů. Ke splnění požadavků uvedených v této části lze použít historické údaje.

B. Příslušné orgány v členských státech, kde nebyly v posledních letech zjištěny trichinely, mohou uznat hospodářství za porosté trichinel za podmínky, že:

byl splněn požadavek v části A písm. d) výše.

C. Příslušný orgán může rozhodnout o uznání kategorie hospodářství za prostou trichinel, pokud jsou splněny všechny tyto podmínky:

a) všechny stanovené v kapitole I části A přílohy IV jsou splněny, kromě bodu k), který se nepoužije, a

b) v zemi nebyly v posledních deseti letech zjištěny žádné původní nákazy trichinelami u domácích zvířat, v této době bylo prováděno průběžné testování u poražené populace prasat, aby byla získána alespoň 95 % jistota, že pokud prevalence trichinel přesáhne 0,0001 %, budou veškeré nákazy zjištěny, a

c) musí být k dispozici jasný popis kategorie hospodářství, druhu zemědělské výroby a druhu dotčených zvířat a

d) byl zaveden z rizik vycházející program sledování volně žijících živočichů v souladu s kapitolou II částí A písm. d) přílohy IV.

D. Kromě požadavků stanovených v příloze IV směrnice 2003/99/ES obsahují úvodní zpráva a následné roční zprávy pro Komisi tyto údaje:

a) počet případů (dovezených nebo původních) trichinel u lidí, včetně epidemiologických údajů;

b) výsledky testování na přítomnost trichinely u domácích prasat neodchovaných v řízených podmínkách ustájení v integrovaných výrobních systémech; výsledky musí zahrnovat věk a pohlaví postižených zvířat, druh systému řízení, druh použité diagnostické metody, stupeň nákazy (pokud je znám) a veškeré další významné informace;

c) výsledky testování na přítomnost trichinely u chovných prasnic a kanců; výsledky musí obsahovat informace uvedené v písm. b);

d) výsledky testování na přítomnost trichinely u jatečně upravených těl divokých prasat, koní, zvěře a indikátorových zvířat;

e) výsledky sérologických testů podle článku 11, jakmile referenční laboratoř Společenství validuje vhodný test;

f) jiné případy podezření na přítomnost trichinely, dovážené nebo původní, a všechny příslušné laboratorní výsledky;

g) podrobnosti o všech pozitivních výsledcích a ověření druhů trichinel v národní referenční laboratoři nebo referenční laboratoři Společenství;

h) údaje se musí předkládat ve formátu a podle harmonogramu, který určí EFSA pro hlášení zoonóz;

i)u zpráv o hospodářstvích prostých trichinel nebo kategorii hospodářství prostých trichinel: údaje o počtu hospodářství prostých trichinel a souhrn výsledků kontrol hospodářství prostých trichinel, včetně údajů o dodržování předpisů ze strany zemědělců;

j)u zpráv týkajících se oblastí se zanedbatelným rizikem musejí být předloženy informace o:

i)programu sledování prováděném podle článku 11 nebo rovnocenné informace,

ii)programech sledování volně žijících živočichů na základě rizika prováděných podle části A písm. d) výše nebo rovnocenné informace.