Anexa nr. 1

la Hotărîrea Guvernului nr.1086

din 14 decembrie 2017

**REGULAMENT**

**sanitar-veterinar cu privire la stabilirea normelor specifice aplicabile controalelor oficiale privind prezenţa de *Trichinella* în carne**

Regulamentul sanitar-veterinar cu privire la stabilirea normelor specifice aplicabile controalelor oficiale privind prezenţa de *Trichinella* în carne (în continuare – *Regulament*) transpune prevederile Regulamentului de punere în aplicare (UE) 2015/1375 al Comisiei din 10 august 2015 de stabilire a normelor specifice aplicabile controalelor oficiale privind prezenţa de *Trichinella*în carne(Jurnalul Oficial al Uniunii Europene, 11 august 2015, L 212, p. 7-34).

**I. DISPOZIŢII GENERALE**

**1.** Prezentul Regulament stabileşte norme specifice controalelor oficiale privind prezenţa de *Trichinella*în carne, şi are drept scop prevenirea, eliminarea sau reducerea riscurilor de infestaţie cu *Trichinella*pînă la niveluri acceptabile pentru sănătatea publică şi a animalelor.

**2.** În sensul prezentului Regulament se definesc următoarele noţiuni:

*Trichinella*– orice nematod care aparţine speciilordin genul *Trichinella*;

*trichineloză*– boală parazitară comună omului şi unor animale, care este provocată deun nematod din genul *Trichinella*, prin consumulde carne crudă sau insuficient preparată termic ce conţine larvele invazive ale acestuia,şi care se manifestă clinic prin dureri musculare, febră şi tulburări digestive;

*condiţii de adăpost controlate* –tip de creştere a animalelor în care porcinele sînt menţinute în permanenţă în condiţii controlate de către operatorii din businessul alimentar în ceea ce priveşte alimentaţia, condiţiile de întreţinere şi adăpostul acestora;

*compartiment* – grup de exploataţii care aplică condiţii de adăpost controlate. Toate exploataţiile care aplică condiţii de adăpost controlate în Republica Moldova pot fi considerate ca reprezentînd un compartiment;

*animal de crescătorie*– orice animal care este crescut, ţinut ori îngrăşat pentru obţinerea de produse şi subproduse destinate consumului uman sau unor întrebuinţări industrialeori pentru obţinerea de material germinativ de origine animală;

*animal sălbatic*– orice animal care nu este domesticit sau îmblînzit de către om;

*carcasă* – corpul întreg al unui animal de măcelărie după scurgerea sîngelui, eviscerare, tăierea membrelor la nivelul carpului, tarsului, capului, cozii şi glandei mamare şi după jupuire pentru bovine, ovine, caprine şi solipede;

*marcă de sănătate* – marcă ce indică faptul căla aplicarea acesteia pe carcasă au fost efectuatecontroale oficiale în conformitate cu prezentul Regulament;

*control sanitar-veterinar* – activitate de prevenire, depistare şi  suprimare a încălcărilor cerinţelor sanitar-veterinare de către persoanele fizice şi juridice privind prezenţa de *Trichinella* în carne;

*exploataţie* – orice unitate, întreprindere, construcţie sau, în cazul fermelor în aer liber, orice loc amenajat ori neamenajat în care sînt crescute, ţinute sau manipulate animale;

*exploataţie oficial indemnă de Trichinella* – unitate în care sînt crescute, ţinute sau manipulate animale şi pe teritoriul căreia nu s-a depistat prezenţa de *Trichinella* în carne în cursul ultimilor 10 ani, fiind recunoscută oficial de către autoritatea competentă ca indemnă de *Trichinella*;

*autoritate sanitar-veterinară competentă*–Agenţia Naţională pentru Siguranţa Alimentelor (în continuare – *Agenţie*), subdiviziunile teritoriale pentru siguranţa alimentelor şi posturile de control sanitar-veterinare ale Agenţiei organizate în cadrul posturilor vamale, în limitele competenţelor legale;

*laborator naţional de referinţă*–Instituţia publică Centrul Republican de Diagnostic Veterinar.

**II. PROCEDURA PRELEVĂRII, EXAMINĂRII CĂRNII ÎN SCOPUL
DETECTĂRII PREZENŢEI DE *TRICHINELLA*, INSPECŢIA
SANITAR-VETERINARĂ, PRECUM ŞI MODALITATEA DE ELABORARE A PLANURILOR DE MĂSURI URGENTE ŞI DE SUPRAVEGHERE**

**Secţiunea 1**

**Prelevarea de eşantioane din carcase**

**3.** În momentul examinărilor *post-mortem*a carcaselor, pentru detectarea prezenţei de *Trichinella*medicul veterinar prelevă, în mod obligatoriu, eşantioane din carcasele din abatoare sau din unităţile de tratare a vînatului, după cum urmează:

1) sînt examinate toate carcasele de scroafe de reproducţie şi vieri sau cel puţin 10% din carcasele animalelor trimise pentru sacrificare în fiecare an, din fiecare exploataţie, care este inclusă în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate;

2) sînt examinate toate carcasele animalelor trimise spre sacrificare din exploataţiile care nu sînt incluse în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate;

3) sînt examinate toate carcasele de cai, porci mistreţi şi alte specii de animale de crescătorie sau sălbatice sensibile la infestarea cu *Trichinella*.

**4.** Toate eşantioanele prelevate din fiecare carcasă se supun unei examinări privind detectarea prezenţei de *Trichinella*, într-un laborator, cu aplicarea uneia dintre metodele de detectare a prezenţei de *Trichinella* menţionate în anexa nr. 1 la prezentul Regulament.

**5.**Pînă la obținerea rezultatelor examinării privind detectarea prezenţei de *Trichinella* şi cu condiţia ca operatorii din businessul alimentar să garanteze o trasabilitate deplină, carcasele de porci domestici şi de cai pot fi tranşate în maximum şase părţi într-un abator sau într-o unitate de tranşare aflată în aceeaşi incintă.

**6.** Prin derogare de la pct. 3 şi în urma aprobării de către Agenţie, aceste carcase pot fi tranşate într-o secţie de tranşare aparţinînd abatorului sau separat de acesta din urmă, cu condiţia ca:

 1) procedura să fie supravegheată de unmedic veterinar oficial;

 2) o carcasă sau părţi ale acesteia să aibă ca destinaţie numai o unitate de tranşare;

 3) unitatea de tranşare să fie situată pe teritoriul Republicii Moldova;

 4) în cazul unui rezultat pozitiv, toate părţile să fie declarate improprii consumului uman.

**7.** Prin derogare de la pct. 3subpct. 1) şi 2),sînt scutite de examinarea privind detectarea prezenţei de *Trichinella*:

1) carnea de porcine domestice care a fost supusă, sub supravegherea unuimedic veterinar oficial, unui tratament de congelare, în conformitate cu anexa nr. 1 la prezentul Regulament;

2) carcasele şi carnea de purcei domestici mai mici de cinci săptămîni, care nu au fost încă înţărcaţi;

3) carcasele şi carnea de porcine domestice care provin dintr-o exploataţie sau un compartiment inclus în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate, în conformitate cu prevederile pct. 34-37, în cazul în care:

a) în ultimii trei ani nu s-au detectat cazuri de infestare cu *Trichinella* la porcii domestici crescuţi în exploataţiile incluse în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate, iar în acest timp au fost efectuate prelevări de pe carcase în mod constant în conformitate cu pct. 3;

b) datele istorice privind testarea neîntreruptă a populaţiei de porcine sacrificate indică cu o certitudine de cel puţin 95% că în cadrul populaţiei respective cazurile de *Trichinella* nu depăşesc un caz detectat de trichineloză la un milion de cazuri cercetate.

**Secţiunea a 2-a**

**Formarea personalului, metode de detectare şi examinarea privind detectarea prezenţei de *Trichinella* în carcase, precum şi aplicarea mărcii de sănătate acestora**

**8.**Carcasele menţionate la pct. 3 sau părţi ale acestora nu pot părăsi localul înainte de a fi cunoscut şi de a se fi dovedit negativ rezultatul examinării privind detectarea prezenţei de *Trichinella*, cu excepţia celor care sînt menţionate la pct. 6.

De asemenea, celelalte părţi ale animalului destinat consumului uman sau animal, care conţin ţesut muscular striat, nu pot părăsi localul înainte de a fi cunoscut şi de a se fi dovedit negativ rezultatul examinării privind detectarea prezenţei de *Trichinella*.

**9.** Deșeurile animale şi subprodusele de origine animală care nu sînt destinate consumului uman şi care nu conţin muşchi striaţi pot părăsi localul înainte de a fi cunoscut rezultatul examinării privind detectarea prezenţei de *Trichinella*.

Cu toate acestea,medicul veterinar oficial poate impune să se efectueze o examinare privind detectarea prezenţei de *Trichinella* sau un tratament prealabil al subproduselor de origine animală înainte de a accepta părăsirea localului de către acestea.

**10.** În cazul în care în abator există o procedură, aprobată oficial de Agenţie, care garantează cu certitudine faptul că nicio parte din carcasele examinate nu părăseşte localul înainte să se confirme că rezultatele examenului care are ca scop detectarea prezenţei de *Trichinella* sînt negative, se poate aplica marca de sănătate ce atestă sănătatea animalelor sau inofensivitatea produselor provenite din acestea.

Agenţia se asigură că toţi membrii personalului care intervin în examinarea eşantioanelor privind detectarea prezenţei de *Trichinella* deţin un certificat prin care se atestă că au fost instruiţi şi au participat:

1) la un program de control al calităţii testelor utilizate pentru detectarea prezenţei de *Trichinella*;

2) la o evaluare periodică a procedurilor testului, de înregistrare şi de analiză realizate în laborator.

**11.** Metodele de detectare prezentate în capitolele I şi II din anexa nr. 1 la prezentul Regulament sînt utilizate pentru examinarea eşantioanelor menţionate la pct. 3, în cazul în care acestea oferă motiv de suspiciune privind o infestare cu *Trichinella*.

Toate eşantioanele pozitive sînt trimise la laboratorul naţional de referinţă, Instituția publică Centrul Republican de Diagnostic Veterinar, pentru a fi identificate speciile de *Trichinella*în cauză.

**Secţiunea a 3-a**

**Planul de măsuri urgente**

 **12.** Agenţia stabileşte un plan de intervenţie privind toate măsurile care urmează să fie luate atunci cînd examinarea eşantioanelor menţionate la pct. 3 dovedesc prezenţa de *Trichinella*.

 **13.** Acest plan aprofundează următoarele probleme:

 1) trasabilitatea carcaselor infectate şi a părților acestora care conţin ţesut muscular;

 2) măsurile privind tratarea carcaselor infectate şi a părţilor acestora;

3) căutarea sursei de infestare şi a oricărei infestări din mediul sălbatic;

 4) toate măsurile care urmează să fie luate la nivelul comerţului cu amănuntul sau al consumatorului;

 5) măsurile care urmează să fie luate atunci cînd carcasele infectate nu pot fi identificate la abator;

 6) identificarea speciilor de *Trichinella* în cauză.

**Secţiunea a 4-a**

**Inspecţia sanitar-veterinară şi Lista exploataţiilor care aplică**

**condiţii de adăpost controlate**

**14.** Agenţia, la declarația în scris a operatorului din businessul alimentar (anexa nr. 4 la prezentul Regulament), include în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate o exploataţie sau un compartiment în cazul în care toate cerinţele prevăzute la pct. 34 sînt respectate.

**15.** Operatorii din businessul alimentar, care sînt responsabili de exploataţiile incluse în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate, informează de îndată Agenţia despre neîndeplinirea oricăreia dintre condiţiile prevăzute la pct. 34-37 sau despre orice altă schimbare care ar putea afecta statutul exploataţiilor cu privire la *Trichinella*.

**16.** Agenţia efectuează supravegherea porcilor domestici, a cailor şi a altor specii de animale sensibile la speciile din genul *Trichinella*, provenite din exploataţii recunoscute oficial indemne de *Trichinella* sau din regiuni în care riscul prezenţei de *Trichinella* la porcii domestici este recunoscut ca fiind neglijabil, în vederea verificării dacă aceste animale sînt efectiv indemne de *Trichinella*, precizînd frecvenţa testelor, numărul animalelor care urmează să fie supuse testelor şi examinărilor privind detectarea prezenţei paraziţilor *Trichinella*.

**17.** Agenţia efectuează inspectarea sanitar-veterinară periodică a exploataţiilor  recunoscute ca indemne de *Trichinella* conform Legii nr. 50 din 28 martie 2013 cu privire la controalele oficiale pentru verificarea conformităţii cu legislaţia privind hrana pentru animale şi produsele alimentare şi cu normele de sănătate şi de bunăstare a animalelor.

**18.** Frecvenţa inspecţiilor sanitar-veterinare efectuate de către Agenţie este direct proporţională riscului prezent în exploataţie, ţinînd seama de istoricul şi prevalenţa bolii, de constatările precedente, de zona geografică, de sensibilitatea faunei şi a florei sălbatice locale, de practicile în materie de creştere, de supravegherea veterinară şi de dovezile crescătorilor privind respectarea prevederilor prezentului Regulament.

**19.** Agenţia va controla ca toate porcinele domestice care provin din exploataţii indemne de *Trichinella*să fie examinate în conformitate cu pct. 3.

**Secţiunea a 5-a**

**Programul de supraveghere**

**20.** Agenţia pune în aplicare un program de supraveghere a populaţiei de porcine domestice dintr-o exploataţie sau dintr-un compartiment inclus în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate,pentru a verifica dacă *Trichinella* este într-adevăr absentă în cadrul populaţiei respective.

**21.** Programul de supraveghere precizează frecvenţa testelor, numărul animalelor care urmează să fie supuse testelor şi programul de prelevare de eşantioane. În acest scop, eşantioanele de carne sînt prelevate şi supuse examinărilor privind detectarea prezenței paraziţilor *Trichinella* în conformitate cu capitolul I sau II din anexa nr. 1 la prezentul Regulament.

Programul de supraveghere poate prevedea, cu titlu suplimentar, recurgerea la metode serologice de îndată ce laboratorul naţional de referinţă validează un astfel de test.

**Secţiunea a 6-a**

**Exploataţiile care aplică condiţii de adăpost controlate**

**22.**În cazul în care rezultatele inspecţiei sanitar-veterinare, efectuate în conformitate cu pct. 17, arată că cerinţele menţionate la pct. 34-37 nu mai sînt îndeplinite, iar rezultatele serologice obţinute de laboratorul naţional de referinţă, ca urmare a prelevării de eşantioane de la porcii sacrificaţi, demonstrează că exploataţia sau categoria de exploataţii nu este indemnă de *Trichinella*, Agenţia o exclude din Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate.

**23.** În cazul în care porcinele domestice provenind dintr-o exploataţie inclusă în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlateprezintă rezultate pozitive la testul de detectare a prezenţei de *Trichinella*, Agenţia ia următoarele măsuri de urgență:

1) exclude exploataţia din Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate;

2)examinează toţi porcii domestici din exploataţia respectivă la momentul sacrificării;

3) urmăreşte şi testează toate animalele reproducătoare care au ajuns în exploataţie şi, pe cît posibil, toate animalele care au părăsit exploataţia cu cel puţin şase luni înaintea obţinerii rezultatului pozitiv şi, în acest sens, eşantioanele de carne sînt prelevate şi supuse examinării privind depistarea prezenţei de paraziţi *Trichinella*, efectuată cu ajutorul metodelor de depistare prezentate la capitolele I şi II din anexa nr. 1 la prezentul Regulament;

4) investighează răspîndirea infestării cu paraziți cauzată de distribuirea de carne provenind de la porci domestici sacrificaţi înaintea obţinerii rezultatului pozitiv;

5) deschide o anchetă epizootică pentru a descoperi cauza infestării;

6) măreşte frecvenţa testelor efectuate în conformitate cu prevederile pct. 16 şi extinde domeniul de aplicare a prezentului Regulament;

7) atunci cînd o carcasă infectată nu poate fi identificată la abator,stabileşte următoarele măsuri obligatorii:

a) prelevează eşantioane de carne de dimensiuni mai mari în vederea testării carcaselor suspecte de *Trichinella*;

b) declară carcasele improprii consumului uman;

c) elimină carcasele sau părţile de carcase suspecte şi cele pentru care rezultatele testelor serologice obţinute de laboratorul naţional de referinţă sînt pozitive.

**24.** Dacă, în urma inspecţiei, se constată că nu sînt îndeplinite prevederile pct. 15 sau că s-au înregistrat rezultate pozitive la testele efectuate într-o exploataţie dintr-un compartiment, exploataţia respectivă trebuie eliminată din compartiment pînăcînd se restabileşte conformitatea.

**25.** Exploataţiile sau categoria de exploataţii sînt incluse din nou în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate de către Agenţie în cazul în care:

1) sînt îndeplinite toate condiţiile prevăzute în pct. 34-37;

2) rezultatele serologice de laborator obţinute de laboratorul de referinţă, ca urmare a prelevării de eşantioane de la porcii sacrificaţi, demonstrează că exploataţia sau categoria de exploataţii este indemnă de *Trichinella*.

**III. CERINŢE SANITARE LA IMPORT**

**26.**Carnea din speciile de animale care pot fi purtătoare de *Trichinella* poate fi importată în Republica Moldova numai dacă în ţara exportatoare, în care au fost sacrificate animalele înainte de export, a fost supusă unei examinări privind detectarea prezenţei de *Trichinella*, în conformitate cu condiţii echivalente cu cele prevăzute la pct. 3-6 sau la pct. 7.

**27.** Examinarea privind detectarea prezenţei de *Trichinella* în carne se efectuează pe întreaga carcasă sau, după caz, pe fiecare semicarcasăori pe fiecare sfert, parte sau bucată de carcasă.

**28.** În certificatul sanitar-veterinar, stabilit prin Hotărîrea Guvernului nr. 48 din 27 ianuarie 2009 „Cu privire la aprobarea Normei sanitar-veterinare privind condiţiile de sănătate animală şi publică şi de certificare sanitar-veterinară pentru importul în Republica Moldova al anumitor animale vii
şi al cărnii proaspete provenite de la  acestea”, la perfectarea importului din ţara exportatoare a animalelor vii din specia porcine domestice, autoritatea competentă din ţara exportatoare include informaţii referitoare la exploataţia de origine care aplică condiţii de adăpost controlate, echivalente cu cele prevăzute în pct. 34-37.

**29.** În certificatul sanitar-veterinar care însoţeşte transporturile de carne, la perfectarea importului din ţara exportatoare, autoritatea competentă din ţara exportatoare include atestarea de sănătate publică de examinare care vizează detectarea prezenţei de *Trichinella*, efectuată în ţara de origine a cărnii, în conformitate cu pct. 26-27.

**30.** În certificatul sanitar-veterinarcare însoţeşte transporturile de preparate din carne, la perfectarea importului din ţara exportatoare, autoritatea competentă din ţara exportatoare include atestarea de sănătate publică de examinare care vizează detectarea prezenţei de *Trichinella*, efectuatăîn ţara de origine a cărnii, în conformitate cu pct. 26-27.

**31.** În certificatul sanitar-veterinar, care însoţeşte transporturile de anumite produse din carne şi stomacuri, vezici şi intestine tratate destinate importurilor, la perfectarea importului din ţara exportatoare, autoritatea competentă din ţara exportatoare include atestarea de sănătate publică de examinare care vizează detectarea prezenţei de *Trichinella*, efectuată în ţara de origine a cărnii, în conformitate cu pct. 26-27.

**32.** Agenţia permite utilizarea metodei trichineloscopice doar pentru carnea destinată comerţului intern.

**33.** Toată carnea trebuie examinată prin metodele digestiei artificiale.

**IV. CONDIȚII PENTRU INCLUDEREA ÎN LISTA**

**EXPLOATAŢIILOR CARE APLICĂ CONDIŢII DE ADĂPOST CONTROLATE**

**34.**Pentru includerea unei exploatații sau a unui compartiment înLista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate, operatorii din businessul alimentar sînt obligaţi să îndeplinească următoarele condiţii:

 1) să ia toate măsurile de precauţie practice privind construcţia şi întreţinerea clădirilor care sînt necesare pentru a împiedica rozătoarele, orice alte mamifer şi păsările carnivore să aibă acces la clădirile în care sînt crescute animale;

 2) să aplice un program de control al dăunătorilor, în special al rozătoarelor, pentru a preveni orice infestare a porcilor;

 3) să păstreze documentaţia privind implementarea programului de control al dăunătorilor;

 4) să se asigure că toate furajele provin de la o unitate care produce furaje în conformitate cu principiile prevăzute în Hotărîrea Guvernului nr. 1405 din 10 decembrie 2008 „Cu privire la aprobarea Normei sanitar-veterinare privind igiena nutreţurilor şi conţinutul substanţelor nedorite în nutreţuri”;

5) să depoziteze furajele destinate speciilor sensibile la *Trichinella* în silozuri închise sau în alte containere inaccesibile rozătoarelor;

 6) să se asigure că animalele moarte sînt colectate, identificate, transportate şi incinerate fără întîrziere sub supraveghere sanitar-veterinară;

 7) în cazul prezenţei unui depozit de deşeuri în apropierea exploataţiei, să informeze Agenţia cu privire la aceasta. Agenţia evaluează riscurile legate de această prezenţă şi decide dacă exploataţia trebuie inclusă în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate;

 8) să se sigure că animalele domestice din specia porcină sînt identificate, astfel încît să asigure trasabilitatea fiecărui animal pînă la exploataţie;

 9) să se asigure că toate animalele domestice din specia porcină sînt introduse în exploataţie doar dacă acestea sînt originare şi provin din exploataţii incluse în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate;

 10) să se asigure că animalele domestice din specia porcină nu au acces la instalaţii exterioare, cu excepţia cazului în care operatorii din businessul alimentar pot demonstra printr-o analiză a riscului, că perioada de timp, instalaţiile şi circumstanţele accesului la instalaţiile exterioare nu prezintă niciun risc de a introduce *Trichinella* în exploataţie;

 11) să se asigure că niciuna dintre porcinele pentru reproducţie şi producţie nu a fost descărcată într-un centru de colectare după plecarea din exploataţia de origine, cu excepţia cazului în care centrul de colectare respectă cerinţele prezentului punctşi toate animalele domestice din specia porcină grupate pentru transport în centrul de colectare sînt originare şi provin din exploataţiisau din compartimente incluse în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate.

**35.**Exploatanţii din sectorul alimentar responsabili de exploataţiile incluse în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate depun o declarație la Agenție, pe propria răspundere, că respectă condiţiile prevăzute în pct. 34.

 Exploatanţii din sectorul alimentar responsabili de exploataţiile incluse în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlatesînt obligaţi să informeze Agenţia în cazul în care nu mai este îndeplinită oricare dintre condiţiile prevăzute în pct. 34 sau în cazul în care are loc orice altă schimbare ce ar putea afecta statutul exploataţiei.

**36.** Agenţia include o exploataţie, o categorie de exploataţii sau un compartiment în Lista exploataţiilor care aplică condiţii de adăpost controlate numai după verificarea respectării cerinţelor prevăzute în pct. 34.

**V. RAPORTAREA SITUAŢIEI PRIVIND *TRICHINELLA***

**37.** Numărul de cazuri (importate şi autohtone) de *Trichinella* la om, inclusiv datele epidemiologice, se raportează Agenţiei.

**38.** Numărul de teste şi rezultatele testelor care vizează detectarea prezenţei de *Trichinella* la porcii domestici, porcii mistreţi, cai, vînat şi orice alte animale susceptibile sînt prezentate în conformitate cu pct. 26-29 dinHotărîrea Guvernului nr. 264 din 12 aprilie 2011 „Pentru aprobarea Regulamentului privind monitorizarea zoonozelor şi a agenţilor zoonotici”.

 Datele privind porcinele domestice trebuie să ofere informaţii specifice referitoare cel puţin la:

 1) teste efectuate pe animale crescute în condiţii de adăpost controlate;

 2) teste pe scroafe de reproducţie, vieri şi porci pentru îngrăşat.

Anexa nr. 1

la Regulamentul sanitar-veterinar

cu privire la stabilirea normelor specifice

aplicabile controalelor oficiale privind

prezenţa de*Trichinella* în carne

**METODE**

**de detectare a prezenței de *Trichinella* în carne**

**I. Metoda digestiei eşantioanelor combinate utilizînd un agitator**

**magnetic ca metodă de detectare de referinţă**

**1.** Utilaj şi consumabile:

1) Un cuţit sau foarfeci şi pensetepentru prelevarea eşantioanelor.

2) Tăvi împărţite în 50 de pătrate care să poată conţine fiecare dintre ele eşantioane de carne de aproximativ 2 gsau alte ustensile cu garanţii echivalente privind trasabilitatea eşantioanelor.

3) Un mixer dotat cu o lamă ascuţită de tocat. Atunci cînd eşantioanele cîntăresc mai mult de 3 g, se utilizează un tocător de carne prevăzut cu orificii de 2-4 mm sau foarfeci. În cazul cărnii congelate sau al limbii (după îndepărtarea stratului superficial, care nu se poate digera) este necesară utilizarea unui tocător de carne şi mărirea considerabilă a mărimii eşantionului.

4) Agitatori magnetici dotaţi cu o placă pentru încălzire cu temperatură controlată şi cu bare magnetice acoperite cu teflon, cu o lungime de aproximativ 5 cm.

5) Tuburi pentru decantare conice, din sticlă, cu o capacitate de cel puţin 2 l, prevăzute, de preferinţă, cu robinete de siguranţă din teflon.

6) Suporturi cu inele şi dispozitive de fixare.

7) Site cu fineţea ochiului de 180 de microni, cu un diametru exterior de 11 cm, prevăzute cu o plasă din oţel inoxidabil.

8) Pîlnii cu un diametru interior de cel puţin 12 cm, destinate sitelor.

9) Pahare de laborator, din sticlă, cu o capacitate de 3 l.

10) Eprubete din sticlă, gradate, cu o capacitate de 50-100 ml sau tuburi de centrifugare.

11) Un trichineloscop prevăzut cu o placă orizontală sau un stereomicroscop cu lumină transmisă diascopic, cu intensitate reglabilă.

12) Mai multe plăci Pétri (se utilizează cu un stereomicroscop) cu un diametru de 9 cm, al căror fund a fost împărţit în pătrate de 10 × 10 mm cu ajutorul unui instrument ascuţit.

13) Un bazin pentru numărarea larvelor (se utilizează cu un trichineloscop) format din plăci acrilice cu o grosime de 3 mm şi prezentînd următoarele caracteristici:

a) fundul bazinului: 180 × 40 mm, împărţit în pătrate;

b) plăci laterale: 230 × 20 mm;

c) plăci frontale: 40 × 20 mm. Fundul şi plăcile frontale trebuie fixate între plăcile laterale astfel încît să formeze două mîneremici pe cele două extremităţi. Partea superioară a fundului trebuie să se ridice la 7-9 mm faţă de baza cadrului format de plăcile laterale şi frontale. Elementele trebuie lipite cu un lipici adaptat materialului.

14) O folie de aluminiu.

15) Acid clorhidric de 25%.

16) Pepsină, concentraţie: 1:10 000 NF (US National Formulary) corespunzînd la 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia), corespunzînd la 2 000 FIP (Fédérationinternationale de pharmacie), sau pepsină lichidă stabilizată cu minimum 660 de unităţi din FarmacopeeaEuropeană pe ml.

17) Apă de robinet încălzită la 46-48°C.

18) Un cîntar cu o precizie de cel puţin 0,1 g.

19) Tăvi metalice cu o capacitate de 10-15 l pentru recoltarea sucurilor digestive rămase.

20) Pipete de diferite mărimi (1, 10 şi 25 ml) şi suporturi pentru pipete.

21) Un termometru cu o precizie de 0,5°C, cu o scară de la 1 la 100°C.

22) Un sifon pentru apa de la robinet.

**2.** Prelevarea de eşantioane şi cantitatea care urmează să fie digerată:

1) Atunci cînd carcasele de porci domestici sînt întregi, se prelevă un eşantion de cel puţin 1 gde pe unul din pilierii diafragmei, în zona de tranziţie între partea musculară şi partea tendinoasă. Se poate utiliza o pensetă specială pentru o precizie cuprinsă între 1,00 și 1,15 g.

2) Pentru scroafele şi vierii reproducători, se prelevă un eşantion mai mare, de cel puţin 2 g, de pe unul din pilierii diafragmei, în zona de tranziţie între partea musculară şi partea tendinoasă.

3) În cazul în care nu există pilier diafragmatic, se prelevă dublul cantităţii, respectiv 2 g(sau 4 gpentru scroafele şi vierii reproducători), de pe partea diafragmei situată lîngă coaste sau stern, în muşchii masticatori, în limbă sau în musculatura abdominală.

4) În cazul bucăţilor de carne, se prelevă un eşantion cîntărind cel puţin 5 gdin muşchii striaţi, cu un conţinut redus de grăsime şi, pe cît posibil, din apropierea oaselor sau a tendoanelor. Se prelevă un eşantion de aceeaşi mărime din carnea care nu este destinată unei preparări în profunzime sau unui alt tratament după sacrificare.

5) În cazul eşantioanelor congelate, se prelevă un eşantion cîntărind cel puţin 5 gdin muşchii striaţi în vederea analizei.

6) Greutatea eşantioanelor de carne se raportează la un eşantion de carne fără grăsime şi fără aponevroză. Va fi necesar să se aibă în vedere în mod deosebit, în cursul prelevării de eşantioane din muşchii limbii, evitarea oricărei contaminări cu partea superficială a limbii, care este indigestă şi împiedică lectura sedimentului.

**3.** Procedura de elaborare a eşantioanelor prevede:

 1) Pentru eşantioane combinate complete (100 gde eşantioane în acelaşi timp)care sînt elaborate prin respectarea următoarelor etape, şi anume:

 a) Se introduc 16 ± 0,5 ml de acid clorhidric într-un pahar de laborator de 3 l conţinînd 2,0 l de apă de la robinet, încălzită la 46-48°C; se plasează o bară magnetică în paharul de laborator, se pune paharul pe placa preîncălzită şi se demarează agitarea.

b) Se adaugă 10 ± 0,2 gde pepsină sau 30 ± 0,5 mlde pepsină lichidă.

c) Se toacă în mixer 100 gdin eşantioanele care au fost prelevate în conformitate cu pct. 2.

d) Se transferă carnea tocată în paharul de 3 lconţinînd apă, pepsină şi acid clorhidric.

e) Se înmoaie de mai multe ori dispozitivul de tocare al mixerului în lichidul de digestie care se află în paharul de laborator şi se clăteşte bolul mixerului cu o cantitate mică de lichid de digestie pentru a scoate carnea care este aderentă.

f) Se acoperă paharul de laborator cu o folie de aluminiu.

g) Agitatorul magnetic trebuie reglat astfel încît să se poată menţine o temperatură constantă de 44-46°C pe durata funcţionării. În timpul agitării, lichidul de digestie trebuie să se învîrtă cu o viteză suficient de mare pentru a forma un vîrtej central profund, fără să provoace stropi.

h) Se agită lichidul de digestie pînăcînd particulele de carne dispar (aproximativ 30 de minute). În continuare, se opreşte agitatorul, se filtrează lichidul de digestie printr-o sită şi se pune filtratul într-un tub de decantare. Pot fi necesare perioade de digestie mai lungi (care nu depăşesc 60 de minute) pentru tratarea anumitor tipuri de carne (limbă, vînat etc.).

i) Procedeul de digestie se consideră satisfăcător în cazul în care maximum 5% din greutatea eşantionului iniţial rămîne pe sită.

j) Se lasă lichidul de digestie în tubul de decantare timp de 30 de minute.

k) După 30 de minute, se transferă rapid un eşantion de 40 ml din lichidul de digestie în eprubeta gradată sau în tubul de centrifugare.

l) Se păstrează lichidele de digestie şi celelalte lichide reziduale pe o tavă pînă la încheierea citirii rezultatelor.

m) Se lasă să se odihnească eşantionul de 40 ml timp de 10 minute. Se aspiră apoi cu grijă 30 ml de lichid plutitor, astfel încît să se înlăture straturile superioare şi să se lase un volum maxim de 10 ml.

n) Se varsă eşantionul de 10 ml de sediment rămas într-un bazin pentru numărarea larvelor sau într-o placă Pétri.

o) Se clăteşte eprubeta gradată sau tubul de centrifugare cu maximum 10 mlde apă de la robinet, care se adaugă eşantionului în bazinul sau în placa Pétri pentru numărarea larvelor. Se recurge apoi la examenul trichineloscopic al eşantionului mărit de 15-20 de ori. Se permite vizualizarea cu ajutorul altor tehnici, cu condiţia ca examinarea de eşantioane martori pozitivi să dovedească că aceste tehnici dau un rezultat la fel de bun sau mai bun ca metodele de vizualizare tradiţionale. În toate cazurile în care există zone suspecte sau forme asemănătoare paraziţilor, se utilizează o mărire mai semnificativă (de 60-100 de ori).

p) Lichidele de digestie trebuie examinate de îndată ce sînt pregătite. În niciun caz examinarea nu trebuie amînată pentru a doua zi.

În cazul în care lichidele de digestie nu sînt examinate în termen de 30 de minute de la prepararea lor, acestea trebuie limpezite după cum urmează.

Se varsă eşantionul final de aproximativ 40 ml într-o eprubetă gradată şi se lasă să se sedimenteze timp de 10 minute. Apoi se iau 30 ml din lichidul de la suprafaţă pentru a obţine un volum de 10 ml. Se măreşte acest volum la 40 ml cu ajutorul apei de la robinet.

După o nouă perioadă de repaus de 10 minute, se iau 30 ml din lichidul de la suprafaţă, prin aspirare, pentru a obţine un volum maxim de 10 ml, care urmează să fie examinat într-o placă Pétri sau într-un bazin pentru numărarea larvelor.

Se spală eprubeta gradată cu maximum 10 ml de apă de la robinet şi se adaugă lichidul obţinut la eşantionul din placa Pétri sau din bazinul pentru numărarea larvelor, în vederea examinării. În cazul în care examinarea dovedeşte că sedimentul nu este suficient de limpede, eşantionul va trebui vărsat într-o eprubetă gradată, iar volumul său va trebui adus la 40 ml cu ajutorul apei de la robinet.

În continuare, se repetă încă o dată etapele descrise în prezenta secţiune. Procedura se poate repeta de 2-4 ori pînă ce lichidul este suficient de limpede pentru a permite o citire fiabilă.

2) Pentru eşantioane combinate mai mici de 100 g, după caz, se poate adăuga un maxim de 15 gla un eşantion combinat complet de 100 gexaminat în acelaşi timp cu aceste eşantioane, în conformitate cu pct. 3subpct. 1) din prezenta anexă.

În cazul în care se adaugă mai mult de 15 gde eşantioane, trebuie realizată o nouă digestie. În cazul grupelor cîntărindpînă la 50 g, lichidele de digestie şi ingredientele pot ajunge pînă la 1 litru de apă, 8 ml de acid clorhidric şi 5 gde pepsină.

3) Rezultate pozitive sau incerte:

Atunci cînd examinarea unui eşantion colectiv are un rezultat pozitiv sau incert, se prelevă un nou eşantion de 20 gpe fiecare porc, în conformitate cu pct. 2subpct. 1)-3) din prezentaanexă.

Eşantioanele de 20 gprovenite de la cinci porci sînt adunate şi examinate conform metodei descrise în prezentul capitol. În acest mod vor fi examinate eşantioane de 20 de grupe a cîte cinci porci.

În cazul în care *Trichinella* este detectată într-o grupă de eşantioane de cinci porci, se prelevă noi eşantioane de 20 gpe fiecare animal care aparţine acestei grupe şi fiecare din acestea este examinat separat conform metodei descrise în prezentul capitol.

Eşantioanele care conţin paraziţi sînt păstrate în alcool etilic de 90% în vederea conservării lor şi identificării speciilor în laboratorul naţional de referinţă.

La sfîrşitul prelevării paraziţilor, lichidele pozitive (lichid de digestie, de suprafaţă, de limpezire etc.) trebuie decontaminate prin încălzire la cel puţin 60°C.

4) Procedura de curăţare şi de decontaminare după un rezultat pozitiv sau incert:

 Atunci cînd, în urma examinării unui eşantion colectiv sau individual, se obţine un rezultat pozitiv sau incert, toate materialele care au intrat în contact cu carnea (bolul şi cuţitul mixerului, paharul de laborator, agitatorul magnetic, senzorul de temperatură, pîlnia conică de filtrare, sita şi pensa) trebuie să fie decontaminate cu precauţie, prin spălarea în apă caldă (65-90°C).

Deasemenea, se recomandă să se clătească fiecare element cu grijă pentru a îndepărta detergentul, în cazul în care se utilizează un detergent în timpul operaţiunii de spălare.

**II. Metode echivalente**

**Secţiunea 1**

**Metoda digestiei eşantioanelor combinate**

**cu asistenţă mecanică/tehnică a sedimentării**

**4.**Utilaj şi consumabile:

 1) Un cuţit sau foarfeci pentru decuparea eşantioanelor.

2) Tăvi împărţite în 50 de pătrate care să poată conţine fiecare eşantioane de carne de aproximativ 2 gsau alte ustensile cu garanţii echivalente privind trasabilitatea eşantioanelor.

3) Un aparat de tocat carnea sau mixer electric.

4) Un omogenizator lab-blender 3 500, model termic.

5) Pungi din plastic adaptate la omogenizatorul lab-blender.

6) Tuburi conice pentru decantare cu o capacitate de 2 l, prevăzute, de preferinţă, cu robinete de siguranţă din teflon.

7) Suporturi cu inele și dispozitive de fixare.

8) Site cu fineţea ochiului 180, cu un diametru exterior de 11 cm, prevăzute cu o plasă din oţel inoxidabil sau din alamă.

9) Pîlnii cu un diametru interior de cel puţin 12 cm, destinate sitelor.

10) Eprubete gradate de 100 ml.

11) Un termometru cu o precizie de 0,5°C, de la 1 la 100°C.

12) Un vibrator, de exemplu un aparat de ras electric fără cap.

13) Un releu care se aprinde şi se stinge la fiecare minut.

14) Un trichineloscop prevăzut cu o placă orizontală sau un stereomicroscop cu lumină transmisă diascopic, cu intensitate reglabilă.

15) Un bazin pentru numărarea larvelor şi mai multe plăci Pétri cu un diametru de 9 cm, identice cu cele prevăzute înpct. 1subpct. 11) şi 12) din prezenta anexă.

16) Acid clorhidric de 17,5%.

17) Pepsină, concentrație: 1:10 000 NF (US National Formulary) corespunzînd la 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia), corespunzînd la 2 000 FIP (Fédérationinternationale de pharmacie), sau pepsină lichidă stabilizată cu minimum 660 de unități din Farmacopeea Europeană pe ml.

18) Mai multe pubele de 10 l care se folosesc în cursul decontaminării aparaturii cu ajutorul, de exemplu, al formolului şi pentru sucurile digestive rămase în caz de rezultat pozitiv.

19) Un cîntar cu o precizie de 0,1 g.

**5.** Prelevarea de eşantioane şi cantitatea care urmează să fie digerată trebuie să corespundă cu pct. 2 din anexa nr. 1 la prezentul Regulament.

**6.** Procedura metodei de digestie a eşantioanelor combinate cu asistenţă mecanică/tehnică a sedimentării ca metodă de echivalenţă constă în tocarea prealabilă a cărnii, procedeul de digestie a acesteia şi izolarea larvelor prin sedimentare.

**7.** Procedura de tocare prealabilă a eşantioanelor de carne într-un aparat de tocat carnea va îmbunătăţi calitatea digestiei. În cazul utilizării unui mixer electric, se lasă aparatul să funcţioneze de trei sau patru ori timp de aproximativ o secundă de fiecare dată.

**8.** Procedeul de digestie se utilizează pentru grupe complete de eşantioane (100 de eşantioane în acelaşi timp) sau pentru grupe de cel mult 100 g, delimitate după cum urmează în:

 1)Eşantioane combinate complete (100 gîn acelaşi timp), care sînt elaborate prin respectarea următoarelor etape:

a) Se căptuşeşte omogenizatorul lab-blender 3 500 cu o pungă dublă din plastic şi se reglează temperatura la 40-41°C.

b) Se varsă un litru şi jumătate de apă încălzită la 40-41°C în punga interioară.

c) Se transferă în pungă 25 ml din soluţia de acid clorhidric de 17,5%.

d) Se adaugă apoi 100 de eşantioane cîntărind aproximativ 1 gfiecare (la 25-30°C), prelevate pe fiecare eşantion individual, în conformitate cu pct. 5 din prezenta anexă.

e) Se adaugă în final 6 g de pepsină sau 18 ml de pepsină lichidă. Se respectă cu rigurozitate această ordine pentru a se evita descompunerea pepsinei.

f) Se zdrobeşte conţinutul pungii în tocător timp de 25 de minute.

g) Se scoate punga din plastic din tocător, se filtrează lichidul de digestie cu ajutorul sitei şi se lasă să se scurgă într-un pahar de laborator de 3 l.

h) Se spală punga din plastic cu aproximativ 100 ml de apă, care se foloseşte apoi pentru limpezirea sitei, şi se adaugă la filtratul conţinut în paharul de laborator.

i) Se poate adăuga un maxim de 15 eşantioane individuale la grupa completă de 100 de eşantioane şi se pot examina în acelaşi timp cu cele din urmă.

 2) Eşantioane combinate mai mici (mai puţin de 100 g de eşantioane), care sînt elaborate prin respectarea următoarelor etape:

 a) Se căptuşeşte omogenizatorul lab-blender 3 500 cu o pungă dublă din plastic şi se reglează temperatura la 40-41°C.

b) Se pregăteşte un lichid de digestie amestecînd aproximativ un litru şi jumătate de apă cu 25 ml de acid clorhidric de 17,5%. Se adaugă 6 g de pepsină şi se amestecă totul la o temperatură de 40-41°C. Se respectă cu rigurozitate această ordine pentru a se evita descompunerea pepsinei.

c) Se determină un volum de lichid de digestie corespunzînd la 15 ml pe gram de eşantion (de exemplu, pentru 30 de eşantioane, se prelevă 30 × 15 ml = 450 ml) şi se transferă în punga din plastic interioară în acelaşi timp cu eşantioanele de carne cîntărind aproximativ 1 g (la 25-30°C), prelevate pe fiecare eşantion individual, în conformitate cu pct. 5 din prezenta anexă.

d) Se varsă apă la aproximativ 41°C în punga exterioară pînă la obţinerea unui volum total în amîndouă pungile de un litru şi jumătate. Se zdrobeşte conţinutul pungii în tocător timp de 25 de minute.

e) Se scoate punga din plastic din omogenizator, se filtrează lichidul de digestie cu ajutorul sitei şi se lasă să se scurgă într-un pahar de laborator de 3 l.

f) Se spală punga din plastic cu aproximativ 100 ml de apă (la 25-30°C), care se foloseşte apoi pentru limpezirea sitei, şi se adaugă la filtratul conţinut în paharul de laborator.

**9.** Izolarea larvelor prin sedimentare constă în respectarea următoarelor etape după cum urmează:

1) Se adaugă la lichidul de digestie 300-400 gde gheaţă sub formă de paiete sau pulbere pentru a se obţine un volum de aproximativ 2 l, apoi se agită lichidul de digestie pînă la topirea gheţii. În cazul grupelor mai mici cantitatea de gheaţă trebuie în consecinţă redusă, în conformitate cu dispoziţiile prevederilor pct. 8subpct. 2) din prezenta anexă.

2) Se transferă lichidul de digestie răcit într-un tub de decantare de 2 l prevăzut cu un vibrator fixat printr-o pensă suplimentară.

3) Pentru sedimentare, se lasă lichidul în tubul de decantare timp de 30 de minute, alternînd un minut de vibraţie şi un minut de oprire.

4) După 30 de minute, se introduc rapid 60 ml de sediment într-o eprubetă gradată de 100 ml (după utilizare, se clătește pîlnia cu o soluţie de detergent).

5) Se lasă eşantionul de 60 ml în repaus timp de cel puţin 10 minute, se scoate apoi lichidul plutitor prin aspirare pînărămîne în eprubetă un volum de 15 ml, care va fi examinat în vederea cercetării prezenţei larvelor.

6) Pentru aspirare, se poate folosi o seringă de unică folosinţă alcătuită dintr-un tub din plastic, acăruilungime trebuie să fie astfel încît cei 15 ml de lichid să rămînă în eprubeta gradată atunci cînd marginea seringii se află la nivelul marginii eprubetei.

7) Se introduc cei 15 ml rămaşi într-un bazin pentru numărarea larvelor sau în două plăci Pétri şi se examinează la trichineloscop sau la stereomicroscop.

8) Se spală eprubeta gradată cu 5-10 ml de apă de la robinet şi se adaugă lichidul obţinut la eşantion.

9) Lichidele de digestie trebuie examinate de îndată ce acestea sînt pregătite şi în niciun caz examinarea nu trebuie amînată pentru a doua zi, iar atunci cînd lichidele de digestie sînt insuficient de limpezi sau nu sînt examinate în termen de 30 de minute după prepararea lor, acestea trebuie limpezite după cum urmează:

a) Se varsă eşantionul final de 60 ml într-o eprubetă gradată şi se lasă să se sedimenteze timp de 10 minute, apoi se scot 45 ml din lichidul de la suprafaţă prin aspirare şi se adaugă la cei 15 ml rămaşi apă de la robinet pînă la obţinerea unui volum total de 45 ml;

b) După o nouă perioadă de repaus de 10 minute, se scot 30 ml din lichidul de la suprafaţă prin aspirare şi se varsă cei 15 ml rămaşi pe o placă Pétri sau într-un bazin pentru numărarea larvelor şi în vederea examinării acestora;

c) Se spală eprubeta gradată cu 10 ml de apă de la robinet şi se adaugă lichidul obţinut la eşantionul de pe placa Pétri sau din bazinul pentru numărarea larvelor în vederea examinării.

**10.** În cazul unui rezultat pozitiv sau incert se aplică dispoziţiile prevăzute la pct. 3 subpct. 3) din prezenta anexă.

**Secţiunea a 2-a**

**Metoda digestiei de eşantioane colective**

**cu asistenţă mecanică/tehnică de izolare prin filtrare**

**11.** Aparatele şi reactivele folosite în metoda digestiei de eşantioane colective cu asistenţă mecanică/tehnică de izolare prin filtrare sînt stabilite în conformitate cu dispoziţiile prevederilor pct. 4 din prezenta anexă.

**12.** Aparatură suplimentară:

 1) O pîlnieGelman de un litru cu suport pentru filtru (diametrul suportului: 45 mm).

2) Discuri filtrante compuse dintr-o plasă rotundă din oţel inoxidabil, cu fineţea ochiului 35 (diametrul discului: 45 mm), și două inele din cauciuc cu o grosime de 1 mm (diametru exterior: 45 mm, diametru interior: 38 mm).Plasa trebuie să fie amplasată între cele două inele şi fixată cu ajutorul unui lipici cu doi componenţi adaptat celor două materiale.

3) Un Erlenmeyer de 3 l prevăzut cu un tub lateral pentru aspirare.

4) O pompă de apă.

5) Pungi din plastic cu o capacitate minimă de 80 ml.

6) O pungă sudată.

7) Renilază, 1:150 000 unităţi Soxlet pe gram.

**13.** Prelevarea eşantioanelor se efectuează în conformitate cu dispoziţiile prevederilor pct. 2 din prezentaanexă.

**14.** Procedura metodei digestiei de eşantioane colective cu asistenţă mecanică/tehnică de izolare prin filtrareca metodă de echivalenţă constă în tocarea prealabilă a cărnii, procedeul de digestie a acesteia şi izolarea larvelor prin sedimentare.

**15.** Procedura de tocare prealabilă a eşantioanelor de carne într-un aparat de tocat carnea va îmbunătăţi calitatea digestiei. În cazul utilizării unui mixer electric se lasă aparatul să funcţioneze de trei sau patru ori timp de aproximativ o secundă de fiecare dată.

**16.** Procedeul de digestie se utilizează pentru grupe complete de eşantioane (100 gde eşantioane în acelaşi timp) sau pentru grupe de cel mult 100 g, delimitate după cum urmeză în:

 1) grupe combinate complete de eşantioane (100 de eșantioane în acelaşi timp) sînt structurate în conformitate cu dispoziţiile prevederilor pct. 8 subpct. 1) din prezenta anexă;

2) grupe combinate mai mici (mai puţin de 100 de eşantioane) sînt structurate în conformitate cu dispoziţiile prevederilor pct. 8 subpct. 2) din prezentaanexă.

**17.** Izolarea larvelor prin filtrare constă în respectarea următoarelor etape:

1) La lichidul de digestie se adaugă 300-400 gde gheaţă sub formă de paiete sau pulbere pentru a se obţine un volum de aproximativ 2 l. În cazul de grupelor mai mici cantitatea de gheaţă trebuie redusă.

2) Se agită lichidul de digestie pînăcînd gheaţa se topeşte. Se lasă în repaus lichidul de digestie răcit timp de cel puţin 3 minute pentru ca larvele să se poată încolăci.

3) Se montează pîlniaGelman prevăzută cu un suport pentru filtru, în care se află un disc filtrant, pe un flacon Erlenmeyer legat la pompa de apă.

4) Se introduce lichidul de digestie în pîlniaGelman şi se filtrează. Spre sfîrşit, trecerea lichidului prin filtru se poate uşura recurgînd la o aspirare cu ajutorul pompei de apă. Se termină aspirarea exact înainte ca filtrul să se usuce, adică atunci cînd mai rămîn 2-5 ml de lichid în pîlnie.

5) După filtrarea întregului lichid de digestie, se îndepărtează discul filtrant şi se pune într-o pungă de plastic de 80 ml, adăugîndu-se 15-20 ml de soluţie de renilază. Pentru obţinerea soluţiei de renilază, se introduc 2 gde renilază în 100 ml de apă de la robinet.

6) Se efectuează o dublă sudură a pungii din plastic şi se plasează în omogenizator între punga interioară şi punga exterioară.

7) Se zdrobeşte în omogenizator timp de 3 minute, de exemplu în timp ce aparatul este utilizat pentru analiza unei grupe complete sau incomplete de eşantioane.

8) După 3 minute, se scoate din omogenizator punga din plastic conţinînd discul filtrant şi soluţia de renilază şi se deschide cu ajutorul foarfecii. Se introduce lichidul într-un bazin pentru numărarea larvelor sau într-o placă Pétri. Se spală punga cu 5-10 ml de apă, care se varsă apoi în bazin, în vederea examenului trichineloscopic, sau pe o placă Pétri, în vederea examinării stereomicroscopice.

9) Lichidele de digestie trebuie să fie examinate de îndată ce sînt pregătite. În niciun caz examinarea nu trebuie să fie amînată pentru a doua zi.

10) Nu se utilizează niciodată discuri filtrante care nu sînt perfect curate.

11) Nu se lasă niciodată să se usuce discurile filtrante care nu sînt curate.

12) Este posibil să se cureţe discurile lăsîndu-le să se înmoaie într-o soluţie de renilază timp de o noapte.

13) Înaintea utilizării lor, acestea trebuie spălate în omogenizator cu ajutorul unei soluţii de renilază proaspătă.

**18.** În caz de rezultat pozitiv sau incert se aplică dispoziţiile prevăzute lapct. 3 subpct. 3) din prezentaanexă.

**Secţiunea a 3-a**

**Metoda de digestie automată pentru eşantioane colective**

**pînă la 35 de grame**

**19.** Utilaj şi consumabile:

1) Un cuţit sau foarfeci pentru decuparea eşantioanelor.

2) Tăvi împărţite în 50 de pătrate care să poată conţine fiecare eşantioane de carne de aproximativ 2 gsau alte ustensile cu garanţii echivalente privind trasabilitatea eşantioanelor.

3) Un mixer Trichomatic 35® cu dispozitiv de filtrare.

4) Soluţie de acid clorhidric de 8,5% ± 0,5% în greutate.

5) Filtre cu membrane de policarbonat transparent cu un diametru de 50 mm, ai căror pori măsoară 14 microni.

6) Pepsină în concentraţie 1:10 000 NF (US National Formulary) corespunzînd la 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) şi la 2 000 FIP (Fédérationinternationale de pharmacie) sau pepsină lichidă stabilizată cu minimum 660 de unităţi Farmacopee Europeană per ml.

7) Un cîntar cu o precizie de 0,1 g.

8) Pensete cu capetele plate.

9) Mai multe lamele pentru obiecte cu o lăţime de cel puţin 5 cm sau mai multe plăci Pétri cu un diametru de cel puţin 6 cm al căror fund a fost împărţit în pătrate de 10 × 10 mm cu ajutorul unui instrument ascuţit.

10) Un (stereo)microscop cu lumină transmisă (mărire: de 15-60 de ori) sau un trichineloscop cu masa orizontală.

11) O pubelă pentru recoltarea lichidelor reziduale.

12) Mai multe pubele de 10 l care se folosesc atîtîn cursul decontaminării aparaturii cu ajutorul, de exemplu, al formolului, cîtşi pentru sucurile digestive rămase în caz de rezultat pozitiv.

13) Un termometru cu o precizie de 0,5°C, cu o scară de la 1 la 100°C.

**20.** Prelevarea de eşantioane se efectuează în conformitate cu dispoziţiile prevederilor pct. 2 din prezentaanexă.

**21.** Procedeul de digestie automată pentru eşantioane colective pînă la 35 g presupune respectarea următoarelor etape:

1) Se plasează mixerul echipat cu un dispozitiv de filtrare, se leagă tubul de evacuare şi se introduce în pubelă.

2) Atunci cînd mixerul este pornit, începe încălzirea.

3) Înainte de a începe, se deschide valva situată sub incinta de reacţie şi se închide.

4) Se adaugă apoi pînă la 35 de eşantioane, fiecare cîntărind aproximativ 1 g(la 25-30°C), prelevate pe fiecare eşantion individual, în conformitate cu pct. 2 din prezentaanexă.

Se asigură că nu mai există bucăţi mari de tendoane care ar putea să adere la filtrul cu membrană.

5) Se varsă apa în recipientul legat de mixer (aproximativ 400 ml).

6) Se varsă aproximativ 30 ml de acid clorhidric (8,5%) în recipientul mai mic legat de mixer.

7) Se pune un filtru cu membrană sub filtrul ordinar din dispozitivul de filtrare.

8) Se adaugă, în final, 7 gde pepsină sau 21 ml de pepsină lichidă. Această ordine se respectă cu rigurozitate pentru a se evita descompunerea pepsinei.

9) Se închide capacul incintei de reacţie şi al recipientelor.

10) Se selecţionează perioada de digestie. Se alege o perioadă scurtă de digestie (5 minute) pentru porcii cu vîrstă normală pentru sacrificare şi o durată de digestie mai lungă (8 minute) pentru celelalte eşantioane.

11) Atunci cînd se apasă pe butonul de pornire al mixerului, procedeul de umplere şi de digestie începe automat, urmat de filtrare. După 10-13 minute procedeul se termină şi se opreşte automat.

12) Se deschide capacul dispozitivului de reacţie după ce s-a verificat că acesta este gol. În cazul în care există spumă sau resturi ale lichidului de digestie în dispozitiv, se repetă procedura în conformitate cu pct. 25 din prezenta anexă.

**22.** Izolarea larvelorprin metoda de digestie automată pentru eşantioane colective pînă la 35 g constă în respectarea următoarelor etape:

 1) Se îndepărtează suportul pentru filtru şi se transferă filtrul cu membrană pe o lamelă pentru obiecte sau pe o placă Pétri.

2) Se examinează filtrul cu membrană la (stereo)microscop sau la trichineloscop.

**23.** Pentru curăţarea echipamentului, în caz de rezultat pozitiv, se respectă următoarea procedură:

1) Se umple cu apă clocotită incinta de reacţie a mixerului pînă la nivelul a două treimi.

2) Se varsă apă de la robinet în recipientul legat de mixer pînă la nivelul de acoperire a captatorului inferior, astfel încît curăţarea se face automat.

3) Se decontaminează suportul pentru filtru şi orice alt echipament cu ajutorul, de exemplu, al formolului.

4) La sfîrşitul zilei de lucru se umple cu apă recipientul de lichid al mixerului şi se porneşte un program normal.

**24.** Niciun filtru cu membrană din policarbonat nu se poate utiliza mai mult de cinci ori. Se întoarce filtrul după fiecare folosire. De asemenea, se verifică filtrul după fiecare folosire pentru a se stabili dacă a suferit vreo defectare care îl face impropriu pentru o nouă utilizare.

**25.** În situaţia în care digestia este incompletă şi filtrarea nu se poate pune în aplicare, iar mixerul şi-a încheiat programul automat în conformitate cu pct. 21 din prezenta anexă, se deschide capacul incintei de reacţie şi dacă în urma verificării acesteiase confirmă faptul că a rămas spumă sau lichid, urmează să fie utilizată următoarea procedură:

1) Se închide valva situată sub incinta de reacţie.

2) Se înlătură suportul pentru filtru şi se transferă filtrul cu membrană pe o lamelă pentru obiecte sau pe o placă Pétri.

3) Se pune un nou filtru cu membrană pe suportul pentru filtru şi se montează suportul pentru filtru.

4) Se varsă apă în recipientul de lichid al mixerului pînă la acoperirea captatorului inferior.

5) Se pune în funcţiune programul de curăţare automată.

6) Odată ce programul de curăţare automată este terminat, se deschide capacul incintei de reacţie şi se verifică dacă a rămas lichid.

7) În cazul în care incinta este goală, se demontează suportul pentru filtru şi se transferă filtrul cu membrană pe o lamelă pentru obiecte sau pe o placă Pétri cu ajutorul unei pensete.

8) Se examinează cele două filtre cu membrană în conformitate cu prevederile stabilite în pct. 22 din prezenta anexă. În cazul în care filtrele nu pot fi examinate, se repetă întregul procedeu de digestie pe o perioadă mai lungă, în conformitate cu prevederile stabilite în pct. 21 din prezenta anexă.

**26.** În caz de rezultat pozitiv sau incert se aplică dispoziţiile prevăzute lapct. 3 subpct. 3)din prezenta anexă.

**Secţiunea a 4-a**

**Metoda agitatorului magnetic pentru digestia eşantioanelor combinate/„izolare prin filtrare” şi depistare de larve printr-un test de aglutinare cu latex**

**27.** Utilaj şi consumabile:

1) Un cuţit sau foarfeci şi pensete pentru prelevarea eşantioanelor.

2) Tăvi împărţite în 50 de pătrate care să poată conţine fiecare eşantioane de carne de aproximativ 2 gsau alte ustensile cu garanţii echivalente privind trasabilitatea eşantioanelor.

3) Un mixer dotat cu o lamă ascuţită de tocat. Atunci cînd eşantioanele cîntăresc mai mult de 3 g, se utilizează un tocător de carne prevăzut cu orificii de 2-4 mm sau foarfeci. În cazul cărnii congelate sau al limbii (după îndepărtarea stratului superficial, care nu se poate digera) este necesară utilizarea unui tocător de carne şi prelevarea unui eşantion cu dimensiuni considerabil mai mari.

4) Agitatori magnetici dotaţi cu o placă pentru încălzire cu temperatură controlată şi cu bare magnetice acoperite cu teflon cu o lungime de aproximativ 5 cm.

5) Pahare de laborator din sticlă cu o capacitate de 3 l.

6) Site cu dimensiunea orificiilor de 180 de microni, cu un diametru exterior de 11 cm, prevăzute cu o plasă din oţel inoxidabil.

7) Dispozitiv de filtrare cu pîlnie de oţel pentru filtre cu sită de 20 μm.

8) Pompă de vid.

9) Rezervoare din metal sau din material plastic cu o capacitate de 10-15 l pentru colectarea sucurilor digestive.

10) Un agitator cu mişcare giratorie tridimensională.

11) Folie de aluminiu.

12) Acid clorhidric 25%.

13) Pepsină, concentraţie: 1:10 000 NF (US National Formulary) corespunzînd la 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) şi la 2 000 FIP (Fédérationinternationale de pharmacie), sau pepsină lichidă stabilizată cu minimum 660 de unităţi Farmacopee Europeană per ml.

14) Apă de robinet încălzită la 46-48°C.

15) Un cîntar cu o precizie de 0,1 g.

16) Pipete de diferite mărimi (1, 10 şi 25 ml), conform instrucţiunilor producătorului testelor de aglutinare cu latex, şi suporturi pentru pipete.

17) Filtre de nailon cu orificii de 20 de microni cu un diametru care se potriveşte cu sistemul de filtrare.

18) Pensă din material plastic sau din oţel de 10-15 cm.

19) Flacoane conice de 15 ml.

20) Un pistil cu un vîrf conic din teflon sau din oţel adaptat flacoanelor conice.

21) Un termometru cu o precizie de 0,5°C, cu o scară de la 1 la 100°C.

22) Plachete pentru aglutinarea cu latex a setului de testare pentru identificarea antigenului Trichin-L validat cu codul nr. EURLP\_D\_001/2011.

23) Soluţie tampon cu agent de conservare (diluant de eşantion) a setului de testare pentru identificarea antigenuluiTrichin-L validat cu codul nr. EURLP\_D\_001/2011.

24) Tampon completat cu un agent de conservare (control negativ) a setului de testare pentru identificarea antigenuluiTrichin-L validat cu codul nr. EURLP\_D\_001/2011.

25) Tampon completat cu antigeni aparţinîndTrichinellaspiralis şi un agent de conservare (control pozitiv) a setului de testare pentru identificarea antigenului Trichin-L validat cu codul nr. EURLP\_D\_001/2011.

26) Tampon cu particule de polistiren acoperite cu anticorpi completat cu un agent de conservare (mărgele din latex) a setului de testare pentru identificarea antigenului Trichin-L validat cu codul nr. EURLP\_D\_001/2011.

27) Bastonaşe de unică folosinţă.

**28.** Prelevarea de eşantioane se efectuează în conformitate cu dispoziţiile prevederilor stabilite în pct. 2 din anexa nr. 1 la prezentul Regulament.

**29.** Pentru eşantioane combinate complete (100 gde eşantioane în acelaşi timp) se respectă următoarele etape:

1) Se introduc 16 ± 0,5 ml de acid clorhidric 25% (0,2% din volumul final) într-un pahar de laborator de 3 l conţinînd 2,0 l ± 200 ml de apă de robinet încălzită la 46-48°C; se introduce o bară magnetică în paharul de laborator, se pune paharul pe placa preîncălzită şi se începe agitarea.

2) Se adaugă 10 ± 1 gde pepsină (sub formă de pulbere) sau 30 ± 3 mlde pepsină lichidă.

3) 100-115 gdin eşantioanele prelevate în conformitate cu prevederile stabilite în pct. 28 din prezenta anexăse toacă în mixer, cu 150 ± 15 ml de tampon de digestie preîncălzit.

4) Se transferă carnea tocată în paharul de laborator de 3 lconţinînd apă, pepsină şi acid clorhidric.

5) Se înmoaie de mai multe ori dispozitivul de tocare al mixerului în lichidul de digestie care se află în paharul de laborator şi se clătește bolul mixerului cu o cantitate mică de lichid de digestie pentru a îndepărta carnea rămasă.

6) Se acoperă paharul de laborator cu o folie de aluminiu.

7) Agitatorul magnetic trebuie reglat astfel încît să se menţină o temperatură constantă de 44-46°C pe durata funcţionării. În timpul agitării lichidul de digestie trebuie să se învîrte cu o viteză suficient de mare pentru a forma un vîrtejadînc, fără să stropească.

8) Se agită lichidul de digestie pînăcînd particulele de carne dispar (aproximativ 30 de minute). În continuare, se opreşte aparatul, se filtrează lichidul de digestie printr-o sită şi se pune filtratul într-un tub de decantare. Pot fi necesare perioade de digestie mai lungi (care nu depăşesc 60 de minute) pentru procesarea anumitor tipuri de carne (limbă, vînat etc.).

9) Procedeul de digestie se consideră satisfăcător în cazul în care maximum 5% din greutatea eşantionului iniţial rămîne pe sită.

10) Se plasează filtrul din nailon cu orificii de 20 de microni pe suportul de filtrare. Pîlnia conică de filtrare din oţel se fixează pe suport cu ajutorul sistemului de blocare, iar sita din oţel cu orificii de 180 de microni se plasează în pîlnie. Pompa de vid se conectează la suportul de filtrare şi la rezervorul din metal sau din material plastic în vederea colectării fluidului de digestie.

11) Se opreşte agitarea şi se toarnă lichidul de digestie prin sită în pîlnia de filtrare. Se clăteşte paharul de laborator cu aproximativ 250 ml de apă caldă. Lichidul de clătire se toarnă în rampa de filtrare după ce lichidul de digestie a fost filtrat cu succes.

12) Membrana de filtrare se manevrează cu ajutorul penselor, fiind ţinută de o margine. Membrana de filtrare se pliază cel puţin în patru şi se introduce în tubul conic de 15 ml. Tubul conic trebuie să fie adaptat la pistil.

13) Membrana de filtrare este împinsă în partea de jos a tubului conic de 15 ml cu ajutorul pistilului şi este presată puternic prin aproximativ 20 de mişcări succesive înainte şi înapoi cu pistilul care trebuie să fie poziţionat în interiorul membranei de filtrare pliate, în conformitate cu instrucţiunile producătorului.

14) 0,5 ± 0,01 ml de diluant de eşantion se adaugă cu pipeta în tubul conic de 15 ml, iar membrana de filtrare se omogenizează cu pistilul prin mişcări succesive înainte şi înapoi cu amplitudine mică, timp de aproximativ 30 de secunde, evitînd mişcările bruşte pentru reducerea stropirii, în conformitate cu instrucţiunile producătorului.

15) Fiecare eşantion, controlul negativ şi controlul pozitiv sînt repartizate cu ajutorul unei pipete în zone distincte ale plachetei de aglutinare, în conformitate cu instrucţiunile producătorului.

16) mărgelele de latex se adaugă cu ajutorul unei pipete în fiecare zonă a plachetei de aglutinare, în conformitate cu instrucţiunile producătorului, fără ca acestea să intre în contact cu eşantionul (eşantioanele) şi controalele. În fiecare zonă, mărgelele de latex se amestecă uşor cu un bastonaş de unică folosință, pînăcînd lichidul omogen acoperă întreaga zonă.

17) placheta de aglutinare este pusă pe agitatorul tridimensional şi se agită timp de 10 ± 1 minute, în conformitate cu instrucţiunile producătorului.

18) la sfîrşitul perioadei de timp stabilite în instrucţiunile producătorului, agitarea se opreşte, placheta de aglutinare se pune pe o suprafaţă plană şi rezultatele reacţiei se citesc imediat, în conformitate cu instruc­ţiunile producătorului. În cazul unui eşantion pozitiv, trebuie să apară agregate sub formă de mărgele. În cazul unui eşantion negativ, suspensia rămîne omogenă fără agregate sub formă de mărgele.

**30.** Pentru eşantioanele combinate mai mici de 100 g, trebuie urmată procedura stabilită în pct. 3 subpct. 2) din prezenta anexă.

**31.** Atunci cînd examinarea unui eşantion combinat are un rezultat pozitiv sau incert la testul aglutinării cu latex, se prelevă un nou eşantion de 20 gde la fiecare porcină, în conformitate cu prevederilestabilite în pct. 2 subpct. 1)-3) din prezenta anexă.

**32.** Eşantioanele de 20 gprovenite de la cinci porci se comasează şi se examinează conform metodei descrise în pct. 29 din prezenta anexă. În acest fel, trebuie să fie analizate eşantioanele de la 20 de grupuri a cîte cinci porcine.

**33.** Atunci cînd se obţine un rezultat pozitiv la testul de aglutinare cu latex de la un grup de cinci porci, se prelevă noi eşantioane de 20 gde la fiecare porcină din grup şi fiecare eşantion se examinează separat utilizînd metoda descrisă în pct. 29 din prezenta anexă.

**34.** Atunci cînd se obţine un rezultat pozitiv sau incert la testul de aglutinare cu latex, cel puţin 20 gde muşchi de porc trebuie trimise la laboratorul naţional de referinţă pentru confirmare, utilizîndu-se metoda descrisă în capitolul I din prezenta anexă.

**35.** Eşantioanele care conţin paraziţi trebuie să fie păstrate în alcool etilic 90%în vederea conservării lor şi a identificării speciilor în laboratorul de referinţă naţional. După prelevarea paraziţilor, lichidele pozitive trebuie să fie decontaminate prin încălzire la cel puţin 60°C.

**36.** Atunci cînd, în urma examinării unui eşantion colectiv sau individual, se obţine un rezultat pozitiv sau incert la testul de aglutinare cu latex, toate materialele care au intrat în contact cu carnea (bolul şi cuțitul mixerului, pistilul, paharul de laborator, agitatorul magnetic, senzorul de temperatură, pîlnia conică de filtrare, sita şi pensa) trebuie să fie decontaminate cu atenţie, prin înmuierea timp de cîteva secunde în apă caldă (de la 65°Cpînă la 90°C).

**37.** Reziduurile de carne sau larvele inactivate care ar putea rămîne pe suprafaţa acestora pot fi eliminate cu un burete curat şi apă de robinet. Dacă este necesar, pot fi adăugate cîteva picături de detergent pentru a degresa echipamentul. Se recomandă apoi să se clătească fiecare instrument cu grijă pentru a îndepărta orice urmă de detergent.

**38.** Metoda agitatorului magnetic pentru digestia eşantioanelor combinate/„izolare prin filtrare” şi depistare de larve printr-un test de aglutinare cu latexeste considerată echivalentă doar în cazul testelor realizate pe carne provenind de la porcine domestice.

**Secţiunea a 5-a**

**Test de digestie artificială pentru detectarea *in vitro* a larvelor de**

***Trichinellaspp.* în eşantioanele de carne, PrioCHECK®**

**Trichinella AAD Kit**

**39.**Această metodă este considerată echivalentă doar în cazul testelor realizate pe carne provenind de la animale domestice din specia porcină.

**40.**PrioCHECK® Trichinella AAD Kit trebuie să fie utilizat în conformitate cu manualul de instrucţiuni al setului, folosind pîlnii de separare (Lenz NS 29/32) şi o eprubetă de sticlă de 80 ml.

**Secţiunea a 6-a**

**Metoda trichineloscopică**

**41.** Aparatură:

 1) Un trichineloscop cu lampă incandescentă care să permită o mărire de 30-40 de ori şi de 80-100 de ori sau un stereomicroscop cu lumină transmisă diascopic cu intensitate reglabilă.

 2) Un compresor constituit din două plachete din sticlă (din care una este divizată în zone egale).

 3) Două foarfeci mici curbate.

 4) O pensetă mică.

 5) Un cuţit pentru decuparea eşantioanelor.

 6) Recipiente mici numerotate destinate strîngerii eşantioanelor separat.

 7) O pipetă.

 8) Un pahar conţinînd acid acetic şi un pahar conţinînd o soluţie de hidroxid de potasiu pentru limpezire în caz de calcificare eventuală sau pentru a face carnea uscată mai fragedă.

**42.** Prelevarea eşantioanelor

În cazul în care este vorba de carcase întregi, se prelevă mai multe eşantioane de mărimea unei alune pe fiecare animal:

 1) pe porcii domestici, se prelevă eşantioane pe fiecare pilier diafragmatic, în zona de tranziţie între partea musculară şi partea tendinoasă;

 2) pe porcii mistreţi, se prelevă eşantioane pe fiecare pilier diafragmatic, în zona de tranziţie între partea musculară şi partea tendinoasă, precum şi din maxilar, muşchii membrului anterior, muşchii intercostali şi muşchii limbii, astfel încît să se dispună de şase eşantioane în total pentru fiecare animal;

 3) în cazul în care nu se pot preleva eşantioane din anumiţi muşchi, care nu sînt disponibili, se prelevă în total patru eşantioane din muşchii disponibili;

 4) din bucățile de carne, se prelevă din fiecare bucată patru eşantioane de ţesut muscular striat de mărimea unei alune, pe cît posibil care să nu conţină grăsime şi să provină din diferite puncte din apropierea oaselor sau tendoanelor.

**43.** Procedură

 1) În general, se umple un compresor cu 1,0 ± 0,1 gde carne, corespunzînd în mod normal la 28 de fragmente de mărimea unui bob de ovăz. După caz, se pot umple două compresoare pentru examinarea a 56 de fragmente de mărimea unui bob de ovăz.

 2) În cazul în care sînt prezente ambele piliere diafragmatice la un porc domestic, controlorul de *Trichinella* tranşează, din fiecare eşantion prelevat de pe carcasele întregi descrise anterior, 28 de fragmente de mărimea unui bob de ovăz, respectiv 56 de fragmenteîn total.

 3) În cazul în care este prezent numai un pilier diafragmatic, se tranşează 56 de fragmente din diferite locuri, pe cît posibil din zona intermediară între muşchi şi tendon.

 4) Eşantioanele prelevate din ceilalţi patru muşchi ai porcilor mistreţi sînt tranşate fiecare în şapte fragmente de mărimea unui bob de ovăz, ceea ce dă 28 de fragmente suplimentare în total.

 5) Controlorul de *Trichinella* presează apoi cele 56 (sau 84) de fragmente între plachetele de sticlă ale compresorului, astfel încît caracterele normale de imprimerie să poată fi citite uşor printre bucăţile preparate.

 6) În cazul în care carnea din bucăţile care urmează să fie examinate este uscată şi bătrînă, bucăţile preparate trebuie înmuiate timp de 10-20 de minute într-o soluţie de hidroxid de potasiu diluată cu două volume de apă înainte de a fi presate.

 7) Din fiecare din eşantioanele prelevate din bucăţile de carne, controlorul de *Trichinella* tranşează 14 fragmente de mărimea unui bob de ovăz, respectiv 56 de fragmente în total.

 8) Examinarea microscopică constă într-o examinare atentă şi riguroasă a fiecărei bucăţi preparate mărite de 30-40 de ori.

 9) În cazul în care examenul trichineloscopic dovedeşte prezenţa de zone suspecte, acestea trebuie reexaminate cu trichineloscopul, la care se selectează mărirea maximă (80-100 de ori).

 10) În cazul în care rezultatul este incert, examinarea se repetă cu alte eşantioane şi cu alte bucăţi preparate pînăcînd se obţin rezultate precise. Examenul trichineloscopic trebuie să dureze minimum şase minute.

 11) Timpul minim fixat pentru examinare nu cuprinde timpul necesar pentru prelevarea eşantioanelor şi pentru confecţionarea bucăților preparate.

 12) În general, un controlor nu trebuie să examineze la trichineloscop mai mult de 840 de fragmente pe zi, ceea ce corespunde examinării a 15 porci domestici sau 10 porci mistreţi.

Anexa nr. 2

la Regulamentul sanitar-veterinar

cu privire la stabilirea normelor specifice

aplicabile controalelor oficiale privind

prezenţa de *Trichinella* în carne

**Tratamente prin congelare**

**1.** Metoda de congelare nr. 1 necesită respectarea următoarelor cerinţe:

1) Carnea intrată în stare de congelare trebuie conservată în această stare.

2) Echipamentul tehnic şi alimentarea cu energie a camerei frigorifice trebuie să fie astfel concepute încît să se poată atinge temperatura dorită foarte repede şi să se menţină în toate părţile camerei frigorifice, precum şi ale cărnii.

3) Toate ambalajele izolante trebuie îndepărtate înaintea congelării, exceptînd carnea care, în cursul introducerii în camera frigorifică, a atins deja, în toate părţile sale, temperatura dorită sau carnea care este ambalată astfel încît ambalajul nu împiedică atingerea de către aceasta a temperaturii dorite în termenul prevăzut.

4) Loturile trebuie conservate separat şi sub cheie în camera frigorifică.

5) Data şi ora sosirii lotului în camera frigorifică trebuie înregistrate.

6) Temperatura din camera frigorifică nu poate fi mai mare de minus 25°C. Aceasta trebuie măsurată cu ajutorul aparatelor termoelectrice etalonate şi înregistrată în mod constant. Temperatura nu se poate măsura direct în curentul de aer rece. Instrumentele trebuie păstrate sub cheie. Graficele cu temperaturi trebuie să conţină indicaţia datelor corespunzătoare registrului de inspecţie a cărnii la import, precum şi a zilei şi orei începerii şi terminării congelării şi să fie păstrate un an.

7) Bucăţile de carne al căror diametru sau grosime nu depăşeşte 25 cm trebuie congelate timp de cel puţin 240 de ore consecutive, iar cele al căror diametru sau grosime este cuprins între 25 şi 50 cm– timp de cel puţin 480 de ore consecutive. Bucăţile de carne al căror diametru sau grosime este mai mare decît aceste dimensiuni nu trebuie supuse acestui procedeu de congelare.

În camera de congelare durata congelării cărnii se calculează din momentul în care este atinsă temperatura menţionată la pct. 1 subpct. 6) din prezenta anexă.

**2.** Metoda de congelare nr. 2 necesită respectarea dispoziţiilor generale stabilite lapct. 1 subpct. 1)-5) din prezenta anexă, aplicîndu-se următoarele combinaţii de timp şi de temperatură:

 1) bucăţile de carne cu un diametru sau o grosime care nu depăşeşte 15 cm se congelează conform uneia dintre următoarele combinaţii de timp şi de temperatură:

a) 20 de zile la minus 15°C;

b) 10 zile la minus 23°C;

c) 6 zile la minus 29°C;

2) carnea al cărei diametru sau grosime este cuprinsă între 15 şi 50 cm se congelează conform uneia dintre următoarele combinaţii de timp şi de temperatură:

a) 30 de zile la minus15°C;

b) 20 de zile la minus 25°C;

c) 12 zile la minus 29°C.

 Temperatura din camera frigorifică nu poate fi mai mare de nivelul temperaturii de inactivare alese. Aceasta trebuie măsurată cu ajutorul aparatelor termoelectrice etalonate şi înregistrată în mod constant. Temperatura nu trebuie înregistrată direct în curentul de aer rece.

Instrumentele trebuie păstrate sub cheie. Graficele cu temperaturi trebuie să conţină indicaţia datelor corespunzătoare registrului de inspecţie a cărnii la import, precum şi ziua şi ora începerii şi terminării congelării şi trebuie păstrate un an.

În cazul în care se utilizează tuneluri de congelare şi nu se urmează în mod riguros procedurile descrise în pct. 1-2 din prezenta anexă, operatorii din businessul alimentar trebuie să fie capabili să dovedească Agenţiei că metoda de înlocuire utilizată este eficace pentru a ucide paraziţii din genul *Trichinella* din carnea de porc.

**3.** Metoda de congelare nr. 3 constă într-o congelare sau o liofilizare comercială a cărnii, în conformitate cu combinaţiile de timp şi de temperatură prevăzute, astfel încît temperatura să fie controlată în mijlocul fiecărei bucăţi de carne după cum urmează:

 1) Se respectă dispoziţiile generale stabilite lapct. 1 subpct. 1)-5) din prezenta anexă,aplicîndu-se următoarele combinaţii de timp şi de temperatură:

a) 106 ore la minus 18°C;

b) 82 de ore la minus 21°C;

c) 63 de ore la minus 23,5°C;

d) 48 de ore la minus 26°C;

e) 35 de ore la minus 29°C;

f) 22 de ore la minus 32°C;

g) 8 ore la minus 35°C;

h) ½ oră la minus 37°C.

2) Temperatura trebuie măsurată cu ajutorul aparatelor termoelectrice etalonate şi înregistrată în mod constant. Sonda termometrului este plasată în centrul bucăţii de carne cu o dimensiune care nu este mai mică decît bucata de carne cea mai groasă care urmează să fie congelată. Această bucată de carne trebuie plasată în locul cel mai puţin favorabil din camera frigorifică, nici în proximitatea imediată a echipamentului de răcire, nici direct în curentul de aer rece. Instrumentele trebuie păstrate sub cheie.

Graficele cu temperaturi trebuie să conţină indicaţia numerelor de date ale registrului de inspecţie a cărnii la import, precum şi ziua şi ora începerii şi terminării congelării şi trebuie păstrate un an.

Anexa nr. 3

la Regulamentul sanitar-veterinar

cu privire la stabilirea normelor specifice

aplicabile controalelor oficiale privind

prezenţa de *Trichinella* în carne

**Examinarea unor animale care nu aparţin speciei porcine**

Carnea de cal, carnea de vînat şi celelalte tipuri de carne care pot conţine paraziţi din genul *Trichinella* trebuie examinate în conformitate cu una dintre metodele de digestie prezentate la capitolul I sau II din anexa nr. 1 la Regulament, cărora li se aduc următoarele modificări:

 1) eşantioane cîntărind cel puţin 10 gdin musculatura limbii sau din muşchii masticatori ai cailor şi dintr-un membru anterior, limba sau diafragma mistreţilor;

 2) în lipsa acestor muşchi la cal, se prelevă un eşantion mai important dintr-un pilier diafragmatic, din zona de tranziţie între partea musculară şi partea tendinoasă. Muşchiul trebuie curăţat de ţesutul conjunctiv şi de grăsime;

 3) se supun cel puţin 5 gdin eşantion metodei de detectare de referinţă prezentate la capitolul I sau unei metode echivalente prezentate la capitolul II din anexa nr. 1 la Regulament. Pentru fiecare lichid de digestie, greutatea totală a muşchiului examinat nu poate depăşi 100 gpentru metoda prezentată la capitolul I şi metodele descrise în secţiunile 1 şi 2, prezentate la capitolul II din anexa nr. 1 la Regulament, şi 35 gpentru metoda descrisă în secţiunea a 3-a, prezentată la capitolul II dinanexa nr. 1 la Regulament;

 4) în caz de rezultat pozitiv, se prelevă un nou eşantion de 50 gîn vederea unei analize ulterioare separate;

 5) fără a aduce atingere normelor de conservare a speciilor animale, întreaga carne provenită de la vînat, altul decît mistreţ, precum urşi, mamifere carnivore (inclusiv mamifere marine) şi reptile trebuie supusă unor teste care necesită prelevarea de eşantioane de 10 gde muşchi de pe locuri de predilecţie sau a unor cantităţi mai mari, în cazul în care aceste locuri nu sînt disponibile;

 6) locurile de predilecţie sînt:

 a) la urs – diafragma, muşchiul maseter şi limba;

 b) la morsă – limba;

 c) la crocodil – muşchiul maseter, pterigoidian şi intercostal;

 d) la păsări – muşchii capului (precum maseter şi muşchii gîtului);

 7) perioada de digestie trebuie să fie suficient de lungă pentru a garanta o digestie suficientă a ţesuturilor acestor animale, dar nu poate depăşi 60 de minute.

Anexa nr. 4

la Regulamentul sanitar-veterinar

cu privire la stabilirea normelor specifice

aplicabile controalelor oficiale privind

prezenţa de *Trichinella* în carne

**Modelde declarație**

Către Agenția Națională pentru Siguranța Alimentelor

**D E C L A R A Ţ I E**

Subsemnatul \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_,

titular al autorizaţiei sanitar-veterinare nr.\_\_\_\_\_\_\_din \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 20\_\_\_\_,

domiciliat în raionul\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_, municipiul/oraşul\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_,

sectorul\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_, comuna/satul \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_,

strada \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_,

declar pe proprie răspundere că îndeplinesc toate condiţiile prevăzute în pct. 34 din Regulamentul sanitar-veterinar cu privire la stabilirea normelor specifice aplicabile controalelor oficiale privind prezenţa de *Trichinella* în carneşi că datele menţionate în prezenta declaraţie sînt veridice.

Semnătura \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_