Anexa nr. 5

la Regulile specifice de igienă a

produselor alimentare de origine animală

**Metodele recunoscute de detectare a biotoxinelor marine**

**1. Metoda de detectare a toxinelor paralizante (PSP)**

În cazul în care se recurge la metode biologice, se utilizează animale cel mai puțin sensibile și metode care cauzează cele mai puține suferințe.

Conținutul de toxine paralizante (paralytic shellfish poison – PSP) al părților comestibile ale moluștelor (corp întreg sau orice parte care poate fi consumată separat) se determină în conformitate cu metoda de analiză biologică sau cu orice altă metodă recunoscută la nivel internațional. În cazul contestării rezultatelor, metoda de referință este metoda biologică.

**2. Metoda de detectare a toxinelor amneziante (ASP)**

Conținutul total de toxine amneziante (amnesic shellfish poison – ASP) al părților comestibile ale moluștelor (corp întreg sau orice parte care poate fi consumată separat) se determină prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC) sau prin orice altă metodă recunoscută la nivel internațional. În cazul contestării rezultatelor, metoda de referință este metoda HPLC.

**3. Metode chimice de detectare a toxinelor lipofile**

1) Metoda LR-UE LC-MS/MS este metoda de referință pentru detectarea toxinelor marine. Această metodă determină următoarele substanțe:

a) toxine din grupa acidului ocadaic: OA, DTX1, DTX2, DTX3, inclusiv esterii lor;

b) grupa pectenotoxine: PTX1 și PTX2;

c) grupa iesotoxine: YTX, 45 OH YTX, homo YTX și 45 OH homo YTX;

d) grupa azaspiracidelor: AZA1, AZA2 și AZA3.

2) Echivalența toxică totală este calculată prin intermediul factorilor de echivalență toxică (toxicity equivalent factors – TEF) recomandați de EFSA.

3) În cazul în care sînt descoperiți noi analogi importanți pentru sănătatea publică, aceștia trebuie să fie incluși în analiză. Echivalența toxică totală este calculată prin intermediul factorilor de echivalență toxică (TEF) recomandați de EFSA.

4) Cromatografia lichidă (LC), spectrometria de masă (MS), cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) cu detectare adecvată, imunodozările și testele funcționale, precum testul de inhibare a fosfatazei pot fi utilizate în locul metodei LR-UE LC-MS/MS sau pot să o completeze, cu condiția ca:

a) singure sau combinate, acestea să permită detectarea cel puțin a analogilor menționați în subpunctul 1) din prezentul punct; dacă este necesar, se definesc criterii mai adecvate;

b) să îndeplinească criteriile de performanță a metodei stabilite de LR- UE;

c) aplicarea acestora să asigure un grad echivalent de protecție a sănătății publice.

**4. Metode biologice de detectare a toxinelor lipofile**

1) Poate fi utilizată o singură dozare biologică pe șoarece cu extracție cu acetonă pentru a detecta acidul ocadaic, dinofisistoxinele, azaspiracidele, pectenotoxinele și iesotoxinele. Acest test poate fi completat, după caz, prin operațiuni de separare lichid/lichid cu acetat de etil/apă sau diclorometan/apă pentru a elimina interfețele potențiale.

2) Pentru fiecare test se utilizează trei șoareci. Moartea a doi șoareci din trei în cele douăzeci și patru de ore care urmează inoculării unui extract echivalent cu 5 g de hepatopancreas sau 25 g de corp întreg trebuie considerată drept indiciu al prezenței, în proporții superioare limitelor stabilite, a toxinelor lipofile.

3) Dozarea biologică pe șoarece cu extracție cu acetonă urmată de o separare lichid/lichid cu eter dietilic poate fi utilizată pentru a detecta acidul ocadaic, dinofisistoxinele, pectenotoxinele și azaspiracidele, dar nu poate fi utilizată pentru a detecta iesotoxinele, deoarece acestea pot fi eliminate în cursul fazei de separare. Trebuie utilizați trei șoareci pentru fiecare test. Moartea a doi șoareci din trei în cele douăzeci și patru de ore care urmează inoculării unui extract echivalent cu 5 g de hepatopancreas sau 25 g de corp întreg trebuie considerată drept indiciu al prezenței acidului ocadaic, dinofisistoxinelor, pectenotoxinelor și azaspiracidelor în proporții superioare limitelor stabilite pentru acidul ocadaic, dinofizistoxine și pectenotoxine luate împreună, 160 micrograme de echivalent acid ocadaic la kilogram; și pentru azaspiracide, 160 micrograme de echivalent azaspiracide la kilogram.

4) O dozare biologică pe șobolan poate fi utilizată pentru a detecta acidul ocadaic, dinofisistoxinele, pectenotoxinele și azaspiracidele. Se utilizează trei șobolani pentru fiecare test. O reacție diareică la unul dintre cei trei șobolani este considerată drept indiciu al prezenței acidului ocadaic, dinofisistoxinelor și azaspiracidelor în proporții superioare limitelor stabilite.

5) Dozarea biologică pe șoarece este utilizată doar în cursul monitorizării periodice a zonelor de producție și a zonelor de relocare în vederea detectării unor toxine marine noi sau necunoscute pe baza programelor de control naționale elaborate de statele-membre.”