Приложение № 1

к Постановлению Правительства №1086 от 14 декабря 2017 г.

**Ветеринарно-санитарное положение об установлении**

**специфических норм, применяемых к официальным**

**проверкам мяса на наличие трихинелл**

Ветеринарно-санитарное положение об установлении специфических норм, применяемых к официальным проверкам мяса на наличие трихинелл (в дальнейшем *– Положение*), перелагает положения Регламента о введении в действие (ЕС) 2015/1375 Комиссии от 10 августа 2015 года об установлении специфических норм, применяемых к официальным проверкам мяса на наличие трихинелл (Официальный журнал Европейского союза, 11 августа 2015 г., L 212, стр. 7-34).

1. **ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ**

1. Настоящее Положение устанавливает специфические нормы, применяемые к официальным проверкам мяса на наличие трихинелл, с целью предупреждения, исключения или снижения рисков заражения трихинеллами до уровня, приемлемого для здоровья человека и животных.

2. В смысле настоящего Положения применяются следующие понятия:

*трихинелла* – любая нематода, принадлежащая к видам рода Trichinella;

*трихинеллез* – паразитарная болезнь, характерная для человека и некоторых животных, вызванная нематодой рода Trichinella посредством потребления сырого мяса или приготовленного с недостаточной тепловой обработкой, содержащего его инвазионные личинки, которая клинически проявляется мышечными болями, температурой и нарушениями пищеварения;

*контролируемые условия содержания* – тип выращивания животных, при котором свиньи находятся в условиях постоянного контроля со стороны предпринимателей продовольственного сектора в отношении питания, выращивания и условий их содержания;

*объединение* – группа объектов, применяющих контролируемые условия содержания. Все объекты, применяющие контролируемые условия содержания в Республике Молдова, могут представляться как объединение;

*животное, выращиваемое в условиях фермы* – любое животное, которое содержится, выращивается или откармливается с целью получения продуктов и субпродуктов, предназначенных для потребления человеком или для промышленного использования либо для получения воспроизводящего материала животного происхождения;

*дикое животное* – любое не домашнее или прирученное человеком животное;

*туша* - целое тело животного, предназначенного для убоя, после обескровливания, потрошения, удаления конечностей на уровне запястья и заплюсны, головы, хвоста и молочной железы и обесшкуривания для крупного рогатого скота, овец, коз и однокопытных;

*клеймо (марка) здоровья*– клеймо указывает на факт, что его нанесение на тушу было осуществлено в ходе официальных проверок в соответствии с настоящим Положением;

*санитарно-ветеринарный контроль*– деятельность по предупреждению, обнаружению и устранению нарушений со стороны физических и юридических лиц санитарно-ветеринарных требований к наличию трихинелл в мясе;

*объект* – любое подразделение. предприятие, строение, или в случае ферм под открытым небом, любое обустроенное или не обустроенное место, где выращиваются, содержатся животные или с ним проводятся манипуляции;

*официально свободный от трихинеллы объект*– предприятие, где выращиваются, содержатся животные, или с ними проводятся манипуляции, на территории которого не выявлено наличие трихинеллы в мясе в течение последних 10 лет, и оно официально признано компетентным органом, свободным от трихинеллы;

*компетентный ветеринарно-санитарный орган* – Национальное агентство по безопасности пищевых продуктов (в дальнейшем - *Агентство*), территориальные подразделения по безопасности пищевых продуктов и пункты ветеринарно-санитарного контроля Агентства, организованные на таможенных постах, в пределах законных компетенций;

*национальная референтная лаборатория* **–** Публичное учреждение Республиканский ветеринарно-диагностический центр.

**II. ОТБОР ПРОБ С ТУШ, ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ВЫЯВЛЕНИЮ
НАЛИЧИЯ ТРИХИНЕЛЛ В МЯСЕ, САНИТАРНО-ВЕТЕРИНАРНАЯ ИНСПЕКЦИЯ, А ТАКЖЕ РАЗРАБОТКА ПЛАНОВ СРОЧНЫХ МЕР И МЕР ПО НАДЗОРУ**

**Часть 1**

**Отбор проб с туш**

3. При посмертном обследовании туш для обнаружения наличия трихинелл ветеринарный врач, в обязательном порядке, отбирает пробы c туш на бойне или на объектах по обработке дичи, а именно, исследуются:

1) все туши воспроизводящих свиноматок и хряков или минимум 10% туш животных, отправляемых ежегодно для убоя с каждого объекта, включенного в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания;

2) все туши животных, отправляемые на убой с объектов, не включенных в Список объектов, применяющих контролируемые условия места нахождения;

3) все туши лошадей, диких кабанов и других видов выращенных или диких животных, чувствительных к заражению трихинеллами.

4. Все пробы, отобранные из каждой туши, подвергаются исследованию на наличие трихинелл в лаборатории с применением одного из методов по выявлению наличия трихинелл, указанных в приложении № 1 к настоящему Положению.

5. До получения результатов исследования по выявлению наличия трихинеллы и при условии, что предприниматели продовольственного сектора обеспечивают полную прослеживаемость, туши домашних свиней и лошадей могут быть разделены не более чем на 6 частей на бойне или в разделочном цехе, находящемся в том же здании.

6. В отступление от пункта 3, и вследствие утверждения Агентством, эти туши могут быть разделены в разделочном цехе, находящемся в данной бойне, или в отдельном цехе, при условии, что:

 1) процедура проводилась под надзором официального ветеринарного врача;

 2) туша или ее части поступили по назначению только в один разделочный цех;

 3) разделочный цех находится на территории Республики Молдова;

 4) при положительном результате все части объявляются непригодными для употребления в пищу людям.

7. В отступление от подпунктов 1) и 2) пункта 3, исследованию на наличие трихинелл не подвергаются:

1) свинина, полученная от домашних животных, которая подвергалась замораживанию под надзором официального ветеринарного врача, в соответствии с приложением № 1 к настоящему Положению;

2) туши и свинина, полученная от домашних животных младше пяти недель, которые еще не были отлучены от свиноматки;

3) туши и свинина, полученная от домашних животных, происходящих из одного объекта или объединения, включенного в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, в соответствии с пунктами 34-37, в случае если:

a) последние три года не были выявлены случаи заражения трихинеллами домашних свиней, выращенных на объектах, включенных в Список объектов, применяющих контролируемые условия их содержания, и в это время постоянно отбирались пробы из туш в соответствии с пунктом 3;

b) исторические данные относительно непрерывного тестирования популяции свиней для убоя достоверно указывают, по меньшей мере, что на уровне 95%, в рамках соответствующей популяции, случаи наличия трихинелл не превышают одного случая выявления трихинелл на миллион проведенных исследований.

**Раздел 2**

**Подготовка персонала, методы обнаружения и исследования по выявлению наличия трихинелл в тушах, а также нанесение на них клейма здоровья**

8. Туши, указанные в пункте 3, или их части не отпускаются из помещения до получения и подтверждения отрицательного результата исследования по выявлению наличия трихинеллы, за исключением случаев, указанных в пункте 6.

Остальные части животного, предназначенного для употребления в пищу людям или животным, содержащие поперечно-полосатую мышцу, не могут быть отправлены из помещения до получения и подтверждения отрицательного результата исследования по выявлению наличия трихинелл.

9. Остатки животных и субпродукты животного происхождения, которые не предназначены для потребления человеком и не содержат поперечно-полосатые мышцы, могут быть отправлены из помещения до получения результатов исследования по выявлению наличия трихинеллы.

Официальный ветеринарный врача может потребовать проведение исследования по выявлению наличия трихинеллы или предварительной обработки субпродуктов животного происхождения до разрешения их вывоза с места нахождения.

10. Если на бойне существует процедура, утвержденная официальным Агентством, достоверно гарантирующая, что ни одна часть исследованных туш не будет вывезена с места содержания до подтверждения, что результаты исследования по выявлению наличия трихинеллы отрицательные, то можно наносить клеймо здоровья, подтверждающее, что животные здоровы или изготовленные из них продукты безопасны.

Агентство обеспечивает, чтобы все члены персонала, вовлеченного в исследование проб по выявлению наличия трихинеллы, имели сертификат, подтверждающий, что они были подготовлены и приняли участие:

1) в программе контроля качества тестов, используемых для выявления наличия трихинеллы;

2) в периодической оценке процедур тестирования, регистрации и анализа, проводимых в лаборатории.

11. Методы выявления, представленные в главах I и II приложения № 1 к настоящему Положению, используются для исследования проб, указанных в пункте 3, в случае наличия подозрения о заражении трихинеллой.

 Все положительные пробы отправляются в национальную референтную лабораторию, Публичное учреждение Республиканский ветеринарно-диагностический центр для выявления видов данной трихинеллы.

**Раздел 3**

**План срочных мер**

12. Агентство устанавливает план вмешательства относительно всех мер, которые необходимо предпринять, в случае если исследование проб, указанных в пункте 3, подтвердит наличие трихинеллы.

13. План предусматривает следующие задачи:

1) обеспечение прослеживаемости зараженных туш и их частей, содержащих мышечную ткань;

2) проведение мер по обработке зараженных туш и их частей;

3) выявление источника заражения и любого заражения дикой фауны;

4) проведение всех мер, которые следует принимать на уровне оптовой или розничной торговли;

5) применение мер, которые следует принимать, если зараженные туши не могут быть идентифицированы на бойне;

6) идентификация видов данной трихинеллы.

**Раздел 4**

**Санитарно-ветеринарная инспекция и Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания**

14. Агентство по письменной декларации предпринимателя продовольственного сектора (приложение № 4 к настоящему Положению) включает объект или объединение в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, в случае соблюдения всех требований, предусмотренных в пункте 34.

15. Предприниматели продовольственного сектора, ответственные за объекты, включенные в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, незамедлительно сообщают Агентству о невыполнении какого-либо из условий, указанных в пунктах 34-37, или относительно любого другого изменения, которое может навредить статусу объектов относительно трихинелл.

16. Агентство осуществляет надзор за домашними свиньями, лошадьми и другими видами животных, чувствительных к виду Trichinella, на объектах, официально признанных свободными от трихинеллы, или в регионах, где риск наличия трихинеллы у домашних свиней признан незначительным, в целях проверки, на самом ли деле эти животные свободны от трихинелл, уточняя частоту исследований, численность животных, подлежащих тестированиям и исследованиям по выявлению наличия паразитов Trichinella.

17. Агентство проводит периодические ветеринарно-санитарные инспекции объектов, признанных свободными от трихинеллы, в соответствии с Законом № 50 от 28 марта 2013 года об официальном контроле с целью проверки соответствия кормовому и пищевому законодательству и правилам, касающимся здоровья и благополучия животных.

18. Частота периодических ветеринарно-санитарных проверок, проводимых Агентством, прямо пропорциональна существующему риску на объекте, с учетом истории и распространенности болезни, предыдущих случаев болезни, географической зоны, чувствительности местной дикой фауны и флоры, способов выращивания, ветеринарного надзора и доказательств, представленных животноводами относительно соблюдения требований настоящего Положения.

19. Агентство проводит контроль, чтобы все домашние свиньи, которые происходят из свободных от трихинеллы объектов, были исследованы в соответствии с пунктом 3.

**Раздел 5**

**Программа надзора**

20. Агентство внедряет программу надзора за популяцией домашних свиней на объекте или в объединении, включенных в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, для проверки, действительно ли в соответствующей популяции отсутствует трихинелла.

21. Программа по надзору определяет частоту тестирований, количество животных, подвергаемых тестированиям, и программу отбора проб. В этих целях отбираются пробы мяса и подвергаются исследованиям на выявление наличия паразитов Trichinella в соответствии с главой I или II приложения № 1 к настоящему Положению.

Программа по надзору может дополнительно предусматривать проведение серологических методов сразу же после утверждения национальной референтной лабораторией соответствующего теста.

**Раздел 6**

**Объекты, применяющие контролируемые условия содержания**

22. Если результаты ветеринарно-санитарной инспекции, проводимой в соответствии с пунктом 17, указывают на несоблюдение требований пунктов 34-37, а результаты серологических исследований, полученные национальной референтной лабораторией в результате отбора проб от забитых свиней, подтверждают, что объект или категория объектов не могут считаться свободными от трихинеллы, Агентство исключает объекты из Списка объектов, применяющих контролируемые условия содержания.

23. В случае если домашние свиньи, происходящие с объекта, включенного в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, представляют положительные результаты исследования на выявление наличия трихинеллы, Агентство незамедлительно принимает следующие меры:

1) исключает объект из Списка объектов, применяющих контролируемые условия содержания;

2) исследует всех домашних свиней соответствующего объекта к моменту убоя;

3) следит и исследует всех репродуктивных животных, поступивших на объект и, по возможности, всех выбывших с объекта животных, по меньшей мере, в течение шести месяцев до получения положительного результата, для этой цели отбираются пробы мяса и подвергаются исследованию на выявление наличия паразитов Trichinella с помощью методов, указанных в главах I и II приложения № 1 к настоящему Положению;

4) исследует распространение заражения паразитами, вызванного мясом, полученным от забитых домашних свиней, до получения положительного результата;

5) открывает эпизоотическое расследование для выявления причины заражения;

6) увеличивает частоту тестирований, проведенных в соответствии с положениями пункта 16, и расширяет область применения настоящего Положения;

7) если инфицированная туша не может быть выявлена на бойне, устанавливает следующие обязательные меры:

a) обирает пробы мяса больших размеров с целью тестирования подозрительных туш на выявление трихинеллы;

b) объявляет туши не пригодными для потребления в пищу;

c) устраняет подозрительные туши или их части, а также туши с положительными результатами серологических тестирований, полученных национальной референтной лабораторией.

24. В случае если результаты инспекции устанавливают несоблюдение положений пункта 15, или зарегистрированы положительные результаты тестирований, проведенных на объекте из объединения, соответствующий объект подлежит исключению из объединения до восстановления соответствия.

25. Объекты или категория объектов вновь включаются Агентством в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, в случае если:

1) выполняются все условия, предусмотренные в пунктах 34-37;

2) лабораторные результаты серологических исследований, полученные национальной референтной лабораторией в результате отбора проб от забитых свиней, подтверждают, что объект или категория объектов являются свободными от трихинеллы.

**III. ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ**

**ПРИ ИМПОРТЕ**

26. Мясо видов животных, которые могут быть носителями трихинеллы, может быть импортировано в Республику Молдова, только если в стране-экспортере, в которой были забиты животные до экспорта, оно было подвергнуто исследованию на выявление наличия трихинеллы, в соответствии с условиями, эквивалентными условиям, предусмотренным в пунктах 3-6 или в пункте 7.

27. Исследование по выявлению наличия трихинеллы в мясе осуществляется в целой туше, и, по необходимости, в каждой половине туши или каждой четверти, каждой части или куске туши.

 28. В ветеринарно-санитарный сертификат, установленный Постановлением Правительства № 48 от 27 января 2009 г. «Об утверждении Ветеринарно-санитарной нормы, устанавливающей условия для здоровья животных и общественного здоровья и санитарно-ветеринарной сертификации при импорте в Республику Молдова живых животных и сырого мяса, происходящего от них» при осуществлении импорта живых животных домашних свиней из экспортирующей страны компетентный орган экспортирующей страны включает информацию относительно объекта происхождения, применяющего контролируемые условия содержания, эквивалентные условиям, предусмотренным в пунктах 34-37.

29. В Ветеринарно-санитарный сертификат, сопровождающий транспорт с мясом, для осуществления импорта из экспортирующей страны, компетентный орган экспортирующей страны включает подтверждение общественного здоровья в результате исследования по выявлению наличия трихинелл, проведенного в стране происхождения мяса, в соответствии с пунктами 26-27.

30. Ветеринарно-санитарный сертификат, сопровождающий транспорт с изделиями из мяса, для осуществления импорта из экспортирующей страны включает подтверждение общественного здоровья в результате исследования по выявлению наличия трихинелл, проведенного в стране происхождения, в соответствии с пунктами 26-27.

31. В Ветеринарно-санитарный сертификат, сопровождающий транспорт с определенными продуктами из мяса и обработанными желудками, пузырями и кишками, предназначенными для импорта, для осуществления импорта из экспортирующей страны компетентный орган экспортируемой страны включает подтверждение общественного здоровья в результате исследования по выявлению наличия трихинелл, проведенного в стране происхождения мяса, в соответствии с пунктами 26-27.

32. Агентство позволяет использование трихинеллоскопического метода только для мяса, предназначенного для внутренней реализации.

33. Все мясо должно исследоваться методами ферментации.

**IV. ТРЕБОВАНИЯ ДЛЯ ВКЛЮЧЕНИЯ В СПИСОК
ОБЪЕКТОВ, ПРИМЕНЯЮЩИХ КОНТРОЛИРУЕМЫЕ
УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ**

 34. Для включения объектов или объединений в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, предприниматели продовольственного сектора должны выполнять следующие требования:

 1) принять все меры предосторожности относительно строительства и содержания помещений для выращивания животных, которые необходимы для предотвращения проникновения в эти помещения грызунов, любых других млекопитающих и плотоядных птиц;

 2) применять программу контроля за вредителями, в частности, за грызунами, в целях предупреждения какого-либо заражения свиней;

 3) хранить документацию о внедрении программы контроля за вредителями;

 4) гарантировать, чтобы все корма были получены с предприятий по производству кормов в соответствии с принципами, предусмотренными в Постановлении Правительства № 1405 от 10 декабря 2008 г. «Об утверждении Ветеринарно-санитарной нормы по гигиене кормов и содержанию нежелательных веществ в кормах»;

5) корма, предназначенные для животных, чувствительных к трихинелле, должны храниться в закрытых зернохранилищах или недоступных для грызунов контейнерах;

 6)  обеспечить сбор, идентификацию, транспортировку и сжигание мертвых животных без задержек под ветеринарно-санитарным надзором;

 7) при наличии хранилища отходов вблизи объекта необходимо информировать об этом Агентство. Агентство оценивает риски, связанные с наличием хранилища, и принимает решение, если объект следует включить в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания;

 8) обеспечить, чтобы домашние животные вида свиней были идентифицированы таким образом, чтобы обеспечить прослеживаемость каждого животного до объекта;

 9) обеспечить, чтобы все домашние животные вида свиней ввозились на объект, только если они происходят с объектов, включенных в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания;

 10) обеспечить, чтобы у домашних животных вида свиней не было доступа к внешним установкам, за исключением случая, когда предприниматели продовольственного сектора могут доказать посредством анализа риска, что период времени, установки и обстоятельства доступа к внешним установкам не представляют собой риск для ввоза трихинеллы на объект;

 11) обеспечить, чтобы ни одна из свиней для воспроизводства и производства после отправки с объекта происхождения не была выгружена в центре сбора, за исключением случая, когда центр сбора отвечает требованиям настоящего пункта, и все домашние животные вида свиней, объединенные для транспортировки в центр сбора, происходят и получены с объектов или объединений, включенных в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания.

 35. Предприниматели продовольственного сектора, ответственные за объекты, включенные в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, подают в Агентство декларацию под личную ответственность о соблюдении требований, предусмотренных в пункте 34.

Предприниматели продовольственного сектора, ответственные за объекты, включенные в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, обязаны информировать Агентство в случае, если не выполняется какое-либо из условий, предусмотренных в пункте 34, или в случае, когда любое другое изменение может навредить статусу объекта.

 36. Агентство включает объект, категорию объектов или объединение в Список объектов, применяющих контролируемые условия содержания, только после проверки соблюдения требований, предусмотренных в пункте 34.

**V. ОТЧЕТНОСТЬ О СИТУАЦИИ ОТНОСИТЕЛЬНО НАЛИЧИЯ *TRICHINELLA***

 37. О количестве случаев (импортированные и отечественные продукты) выявления наличия трихинеллы у человека, в том числе эпизоотические данные, доводятся до сведения Агентства.

38. Информация о количестве проверок и о результатах проверок относительно выявления наличия трихинеллы у домашних свиней, диких кабанов, лошадей, дичи и других восприимчивых животных, представляется Агентству в соответствии с пунктами 26-29 Постановления Правительства № 264 от 12 апреля 2011 года «Об утверждении Положения по мониторингу зоонозов и зоонозных агентов».

 Данные о домашних свиньях должны предоставлять специфическую информацию, по меньшей мере, относительно:

 1) проведенных проверок животных, выращенных при контролируемых условиях содержания;

 2) проверок воспроизводящих свиноматок, хряков и свиней на откорм.

Приложение № 1

к Ветеринарно-санитарному положению

об установлении специфических норм,

применяемых к официальным проверкам

мяса на наличие трихинелл

**МЕТОД**

**выявления наличия Trichinella в мясе**

**I. Метод ферментации комбинированных проб с использованием магнитной мешалки как эталонного метода выявления**

1. Оборудование и расходные материалы:

1) Нож или ножницы и пинцеты для отбора проб.

2) Поддоны, размеченные на 50 квадратов, в каждый из которых можно поместить пробу мяса весом приблизительно 2 г, или другие инструменты с эквивалентной гарантией для прослеживаемости проб.

3) Миксер, оснащенный острым рубящим лезвием. Если пробы весят больше 3 г, то необходимо использовать мясорубку с отверстиями 2-4 мм или ножницы. В случае с замороженным мясом или языком (после удаления поверхностного слоя, который не поддается перевариванию), необходимо использовать мясорубку, а размер пробы должен быть значительно увеличен.

4) Магнитные мешалки с термопластинами, регулирующими температуру, и магнитными палочками с тефлоновым покрытием длиной приблизительно 5 см.

5) Конические стеклянные сепарационные воронки, объемом минимум 2 литра, снабженные предохранительными пробками с тефлоновым покрытием.

6) Стойки с кольцами и устройства с зажимами.

7) Сетчатые фильтры, размеры ячеек 180 микрон, внешний диаметр 11 см, с ячейками из нержавеющей стали.

8) Воронки, с внутренним диаметром не менее 12 см, предназначены для сетчатых фильтров.

9) Лабораторные стаканы вместимостью 3 литра.

10) Стеклянные градуированные пробирки вместимостью 50-100 мл или пробирки для центрифуги.

11) Трихинеллоскоп с горизонтальной пластинкой или стереомикроскоп с платформой проходящего света регулируемой интенсивности.

12) Несколько чашек Петри диаметром 9 см (для использования стереомикроскопа), дно которых размечено на квадраты 10 х 10 мм с использованием острого инструмента.

13) Лоток для подсчета личинок (с использованием трихинеллоскопа), сделанный из акриловых пластин толщиной 3 мм, имеет следующие параметры:

a) дно лотка размером 180 х 40 мм размечено на квадраты;

b) боковые стороны: 230 х 20 мм;

c) фронтальные стороны: 40 х 20 мм. Дно и фронтальные стороны необходимо зафиксировать между боковыми сторонами, чтобы образовать две небольшие рукоятки у краев. Верхняя часть дна должна быть поднята на 7-9 мм от основания установки, сформированной боковыми и фронтальными сторонами. Компоненты должны быть скреплены вместе клеем, подходящим для материала.

14) Алюминиевая фольга.

15) 25% соляная кислота.

16) Пепсин, концентрация: 1:10 000 КБ (Национальный формуляр США), соответствующий 1:12 500 ВР (Британская фармакопея) и 2 000 FIP (Международная федерация фармацевтов), или стабилизированный жидкий пепсин с минимум 660 единицами Европейской фармакопеи на мл.

17) Нагретая водопроводная вода 46-48 °C.

18) Весы с точностью до 0,1 г.

19) Металлические лотки вместимостью 10-15 литров для сбора остатков желудочного сока.

20) Пипетки разных размеров (1,10 и 25 мл) и держатели для пипеток.

21) Термометр с точностью до 0,5 °C в пределах от 1 до 100 °C.

22) Сифон для водопроводной воды.

2. Отбор проб и количество, которое необходимо подвергнуть перевариванию:

1) В случае работы с целыми тушами домашних свиней, необходимо отобрать пробу весом минимум 1 г из ножки диафрагмы в месте перехода мышечной ткани в сухожилие. Можно использовать специальный пинцет для точности в диапазоне между 1,00 и 1,15 г.

2) В случае работы с воспроизводящими свиноматками и хряками, из ножки диафрагмы необходимо отобрать более крупную пробу весом минимум 2 г в месте перехода ножки диафрагмы в сухожилие.

3) Если ножки диафрагмы отсутствуют, то необходимо отобрать пробу в два раза больше 2 г (или 4 г в случае с воспроизводящими свиноматками и хряками) из реберной или грудной части диафрагмы или из мышц челюсти, языка или мышц брюшной полости.

4) В случае работы с частями туши, необходимо отобрать пробы поперечно-полосатой мышечной ткани весом минимум 5 г, содержащие мало жира, и, если возможно, то из близко расположенных к ребрам или сухожилиям участков. Пробу такого же размера необходимо брать из мяса, которое не предназначено для тщательного приготовления или других видов послеубойной обработки.

5) Что касается замороженных проб, то для анализа отбирается проба весом минимум 5 г поперечно-полосатой мышечной ткани.

6) Вес проб мяса относится к пробе мяса без жира и оболочки. Особое внимание следует обратить при отборе проб из мышц языка, исключая любое заражение поверхностным слоем языка, который не поддается перевариванию и препятствует анализу осадка.

3. Процедура составления проб предусматривает:

1) Для полных комбинированных проб (100 г проб в то же время), которые составлены посредством соблюдения следующих этапов, а именно:

a) 16 ± 0,5 мл соляной кислоты добавляют в лабораторный стакан объемом 3 литра, содержащий 2 литра водопроводной воды, предварительно нагретой до температуры 46- 48 °C; в стакан кладут магнитную палочку, а сам стакан помещают на предварительно нагретую пластину и начинают размешивать.

b) Добавляют 10 ± 0,2 г пепсина или 30 ± 0,5 мл жидкого пепсина.

c) 100 г проб, отобранных в соответствии с пунктом 2, измельчают в миксере.

d) Измельченное мясо помещают в лабораторный стакан объемом 3 литра, содержащий воду, пепсин и соляную кислоту.

e) Насадку для измельчения в миксере несколько раз помещают в пищеварительную жидкость в лабораторном стакане, чашу миксера ополаскивают небольшим количеством пищеварительной жидкости, чтобы удалить остатки мяса.

f) Лабораторный стакан накрывают алюминиевой фольгой.

g) Магнитную мешалку необходимо установить таким образом, чтобы поддерживать постоянную температуру в пределах 44 - 46 °C на протяжении всего функционирования. Во время перемешивания пищеварительная жидкость должна вращаться на довольно высокой скорости в виде водоворота без разбрызгивания.

h) Пищеварительную жидкость размешивают, пока не исчезнут частицы мяса (приблизительно 30 минут). Затем мешалку выключают, и пищеварительную жидкость пропускают через сетчатый фильтр в воронку для выпадения осадка. Могут потребоваться более длительные периоды переваривания (не превышающие 60 минут) при обработке некоторых видов мяса (язык, мясо дичи и пр.).

i) Процесс переваривания считают удовлетворительным, если не более 5% от исходного веса пробы остается на сетчатом фильтре.

j) Пищеварительной жидкость отстаивают в воронке в течение 30 минут.

k) После 30 минут 40 мл пищеварительной жидкости быстро переливают в градуированную пробирку или воронку для центрифуги.

l) Пищеварительные жидкости или другие жидкие отходы хранят в поддоне, пока не завершится считывание результатов.

m) Пробу объемом 40 мл отстаивают в течение 10 минут. 30 мл надосадочной жидкости аккуратно снимают путем отсасывания, чтобы удалить верхние слои и оставить объем не более 10 мл.

n) Оставшиеся 10 мл пробы осадка выливают в лоток для подсчета личинок или чашку Петри.

o) Градуированную пробирку или воронку для центрифугирования ополаскивают водопроводной водой объемом не более 10 мл, которую необходимо добавить к пробе в лоток для подсчета личинок или в чашку Петри. Далее пробу проверяют при помощи трихинеллоскопа или стереомикроскопа при 15- 20-кратном увеличении. Допускается визуальное наблюдение с использованием других методик, если рассмотрение положительных контрольных проб показало равнозначные или лучшие результаты по сравнению с традиционными методами визуального наблюдения. Во всех случаях обнаружения подозрительных участков или форм, напоминающих паразитов, необходимо использовать более сильное увеличение (60-100-кратное);

p) Пищеварительные жидкости необходимо проверить, как только они будут готовы. Ни в коем случае нельзя откладывать проверку на следующий день.

Если пищеварительные жидкости не будут проверены в течение 30 минут после приготовления, то их необходимо очистить следующим образом.

Итоговую пробу объемом приблизительно 40 мл выливают в градуированную пробирку и дают отстояться в течение 10 минут. Затем 30 мл надосадочной жидкости удаляют, оставляя объем 10 мл. Этот объем разводят до 40 мл водопроводной водой.

После следующего периода отдыха 10 минут 30 мл надосадочной жидкости удаляют отсасыванием, оставляя объем не более 10 мл для проверки в чашке Петри или лотке для подсчета личинок.

Градуированную пробирку промывают не более чем 10 мл водопроводной воды, эту воду после промывания добавляют для исследования к пробе в чашку Петри или в лоток для подсчета личинок. Если в ходе проверки осадок оказывается недостаточно прозрачным, то пробу выливают в градуированную пробирку и разводят до 40 мл водопроводной водой.

Далее проводят процедуру, описанную в настоящем разделе. Процедуру можно повторить от 2 до 4 раз, пока жидкость не станет достаточно прозрачной для проведения точного считывания результатов.

2) Для комбинированных проб весом менее 100 г, при необходимости, можно добавить максимум 15 г к полной комбинированной пробе весом 100 г, исследуемой в то же время, что и данные пробы, в соответствии с подпунктом 1) пункта 3 настоящего приложения.

В случае добавления более 15 г проб, необходимо проводить новое пищеварение. В случае групп весом до 50 г, пищеварительные жидкости и ингредиенты могут достигать до 1 литра воды, 8 мл соляной кислоты и 5 г пепсина.

3) Положительные или сомнительные результаты: Если в итоге проверки общей пробы получают положительный или неясный результат, то от каждой свиньи отбирают новую пробу весом 20 г в соответствии с подпунктами 1)-3) пункта 2 настоящего приложения.

20 г пробы, полученные от пяти свиней, объединяют и проверяют с использованием метода, описанного в настоящей главе. Таким способом проверяют пробы из 20 групп по 5 свиней в каждой.

В случае, если в группе проб от пяти свиней обнаруживают трихинеллы, то отбирают новые пробы по 20 г от каждого животного, которое принадлежит данной группе, и проверяют каждую отдельно, используя метод, описанный выше в настоящей главе.

Пробы, содержащие паразитов, следует хранить в 90% этиловом спирте для сохранения и идентификации видов в национальной референтной лаборатории.

После сбора паразитов положительные жидкости (пищеварительная жидкость, надосадочная жидкость, промывная вода и пр.) необходимо обеззаразить путем подогревания до температуры минимум 60 °С.

4) Процедура очистки и обеззараживания после положительного или сомнительного результата, в случае если вследствие исследования общей или индивидуальной пробы получен положительный или сомнительный результат, все материалы, которые вступали в контакт с мясом (чаша и нож миксера, лабораторный стакан, магнитная мешалка, сенсор температуры, коническая фильтрационная воронка, сито и пинцет), должны быть с осторожностью обеззаражены путем промывания в теплой воде (65 °- 90 °C). Также рекомендуется промывать каждый элемент осторожно, чтобы смыть моющее средство, в случае его использования во время мойки.

**II. Эквивалентные методы**

**Раздел 1**

**Метод ферментации комбинированных проб**

**с использованием механических/технических способов осаждения**

4. Оборудование и расходные материалы:

1) Нож или ножницы для разрезания проб.

2) Поддоны, размеченные на 50 квадратов, в каждый из которых можно поместить пробы мяса весом приблизительно 2 г, или другие инструменты, дающие эквивалентные гарантии для прослеживаемости проб.

3) Мясорубка или электрический миксер.

4) Гомогенизатор лабораторный блендер 3 500, термомодель.

5) Пластиковые мешки, подходящие для гомогенизатора лабораторного блендера.

6) Конические сепарационные воронки, объемом 2 литра, снабженные предохранительными пробками с тефлоновым покрытием.

7) Стойки с кольцами и устройства для зажима.

8) Сетчатые фильтры, размеры ячеек 180 микрон, внешний диаметр 11 см, с ячейками из нержавеющей стали или из латуни.

9) Воронки с внутренним диаметром не менее 12 см, предназначены для сетчатых фильтров.

10) Градуированные пробирки вместимостью 100 мл.

11) Термометр с точностью до 0,5 °C в пределах от 1 до 100 °C.

12) Вибратор, например, электробритва со снятой головкой.

13) Реле, которое включается и отключается с интервалом в одну минуту.

14) Трихинеллоскоп с горизонтальной пластинкой или стереомикроскоп с платформой проходящего света регулируемой интенсивности.

15) Лоток для подсчета личинок и несколько чашек Петри диаметром 9 см, идентичных тем, которые предусмотрены в подпунктах 11) и 12) пункта 1 настоящего приложения.

16) Раствор 17,5 % соляной кислоты.

17. Пепсин, концентрация: 1:10 000 КБ (Национальный формуляр США), соответствующий 1:12 500 ВР (Британская фармакопея) и 2 000 FIP (Международная федерация фармацевтов), или стабилизированный жидкий пепсин с минимум 660 единицами Европейской фармакопеи на мл.

18) Несколько 10-литровых ведер для обеззараживания устройств, например, формальдегидом, и для пищеварительного сока, оставшегося после тестирования положительных проб.

19) Весы с точностью до 0,1 г.

5. Отбор проб и количество, которое необходимо подвергнуть перевариванию, осуществляется в соответствии с пунктом 2 приложения № 1 к настоящему Положению.

6. Процедура метода ферментации комбинированных проб с помощью механических/технических способов осаждения в качестве эквивалентного метода состоит в предварительном измельчении мяса, процессе его переваривания и изоляции личинок посредством осаждения.

7. Процедура предварительного измельчения проб мяса в мясорубке улучшит качество процесса переваривания. Если используют электрический миксер, то его необходимо приводить в действие три или четыре раза, каждый раз приблизительно в течение одной секунды.

8. Процедура переваривания используется для полных групп проб (100 проб за один раз) или для групп с максимальным весом 100 г, разграниченных следующим образом:

1) Полные комбинированные пробы (100 г одновременно), которые составлены посредством соблюдения следующих этапов:

a) Гомогенизатор лабораторный блендер 3 500 оснащается двойным пластиковым мешком и прибором для контроля температуры в диапазоне 40- 41 °С.

b) Полтора литра воды, предварительно нагретой до 40-41°С, выливают во внутренний пластиковый мешок.

c) Добавляют в мешок 25 мл 17,5% соляной кислоты.

d) Добавляют 100 проб весом приблизительно 1 г каждая (при 25- 30 °С), отобранных от каждой отдельной пробы в соответствии с пунктом 5 настоящего приложения.

e) В конце добавляют 6 г пепсина или 18 мл жидкого пепсина. Необходимо строго соблюдать данный порядок, во избежание распада пепсина.

f) Размельчают содержимое мешка в измельчителе в течение 25 минут.

g) Пластиковый мешок извлекают из измельчителя, и пищеварительный сок фильтруют через сетчатый фильтр в лабораторный стакан объемом 3 литра.

h) Пластиковый мешок промывают приблизительно 100 мл воды, которую затем используют для ополаскивания сетчатого фильтра, и добавляют в фильтрат, содержащийся в лабораторном стакане.

i) До 15 отдельных проб можно добавить в полную группу из 100 проб и осуществить проверку вместе с этими пробами.

2) Меньшие комбинированные пробы (менее 100 г проб), которые составлены посредством соблюдения следующих этапов:

a) Гомогенизатор лабораторный блендер 3 500 оснащается двойным пластиковым мешком и прибором для контроля температуры в диапазоне 40 - 41 °С.

b) Пищеварительную жидкость готовят путем смешивания полутора литров воды и 25 мл 17,5% соляной кислоты. Добавляют 6 г пепсина, и все перемешивают при температуре 40 - 41 °С. Необходимо строго следовать этому порядку, во избежание разложения пепсина.

c) Определяют объем пищеварительной жидкости, соответствующий 15 мл на грамм пробы (например, для 30 проб требуется объем 30 х 15 мл = 450 мл), который переносят во внутренний пластиковый мешок вместе с пробами мяса каждая весом приблизительно 1 г (при температуре 25- 30 °С), отобранными от каждой отдельной пробы в соответствии с пунктом 5 настоящего приложения.

d) Во внешний мешок наливают воду, температура которой приблизительно 41°С, чтобы общий объем в двух мешках достиг пол-литра и литра. Измельчают в измельчителе содержимое мешка в течение 25 минут.

e) Пластиковый мешок извлекают из гомогенизатора, пищеварительную жидкость пропускают через сетчатый фильтр и выливают в лабораторный стакан объемом 3 литра.

f) Пластиковый мешок промывают приблизительно 100 мл воды (при температуре 25- 30 °С), которую затем используют для ополаскивания сетчатого фильтра и в итоге добавляют к фильтрату, содержащемуся в лабораторном стакане.

9. Изоляция личинок посредством осаждения состоит в соблюдении следующих этапов:

1) К пищеварительной жидкости добавляют лед 300 - 400 г в форме чешуйчатого или дробленого льда для достижения общего объема до 2 литров. Затем пищеварительная жидкость смешивается, пока не растает лед. В случае небольших групп, количество льда в результате сокращается в соответствии с требованиями положений подпункта 2) пункта 8 настоящего приложения.

2) Охлажденную пищеварительную жидкость переносят в 2-х литровую разделительную воронку, оборудованную вибратором с дополнительным зажимом.

3) Для осаждения жидкость оставляют в воронке на 30 минут, в течение которых воронка подвергается вибрациям, т.е. одна минута вибрации следует за одной минутой простоя.

4) Через 30 минут 60 мл осадка следует быстро перелить в 100 мл градуированную пробирку (после использования ополаскивается моющим средством).

5) 60 мл пробы необходимо оставить минимум на 10 минут, после чего надосадочную жидкость извлекают посредством отсасывания и оставляют 15 мл для исследования на наличие личинок.

6) Для отсасывания можно использовать одноразовый шприц с пластиковой трубкой. Длина трубки должна быть такой, чтобы в градуированной пробирке осталось 15 мл, в то время, как ободок шприца находится на краях пробирки.

7) Оставшиеся 15 мл выливают в лоток для подсчета личинок или в две чашки Петри и проводят исследование с помощью трихинеллоскопа или стереомикроскопа.

8) Градуированную пробирку ополаскивают 5-10 мл водопроводной воды и полученную жидкость добавляют в пробу.

9) Пищеварительные жидкости следует исследовать, как только они будут готовы. Ни в коем случае нельзя откладывать исследование на следующий день. Если пищеварительные жидкости непрозрачные или не были исследованы в течение 30 минут после их приготовления, они должны быть осветлены следующим образом:

a) Конечную пробу, состоящую из 60 мл, выливают в градуированную пробирку и оставляют на 10 минут, затем 45 мл надосадочной жидкости удаляют посредством отсасывания, а в оставшиеся 15 мл добавляют водопроводную воду до объема 45 мл.

b) После следующего периода отдыха в течение 10 минут 30 мл надосадочной жидкости удаляют посредством отсасывания, а оставшиеся 15 мл выливают в чашку Петри или лоток для подсчета личинок с целью исследования.

c) Градуированную пробирку ополаскивают 10 мл водопроводной воды, и полученную жидкость добавляют в пробу в чашку Петри или лоток для подсчета личинок для исследования.

10. В случае положительного или сомнительного результата, применяются положения, предусмотренные в подпункте 3) пункта 3 настоящего приложения.

**Раздел 2**

**Метод ферментации общих проб с помощью механического/технического способа изоляции посредством фильтрации**

11. Оборудование и реактивы, используемые при проведении метода ферментации общих проб, с применением механического/технического способа изоляции посредством фильтрации, установлены в соответствии с требованиями положений пункта 4 настоящего приложения.

12. Дополнительное оборудование:

1) 1-литровая воронка Гельмана с держателем фильтра (диаметр держателя: 45 мм).

2) Фильтровальные диски, состоящие из круглой сетки из нержавеющей стали с отверстиями в 35 микрон (диаметр диска: 45 мм), двух резиновых колец толщиной 1 мм (внешний диаметр - 45 мм, внутренний диаметр - 38 мм), круглая сетка должна быть расположена между двумя резиновыми кольцами и прикреплена к ним с помощью двухкомпонентного клея, подходящего для обоих материалов.

3) Колба Эрленмейера вместимостью 3 литра, снабженная боковой трубкой для отсасывания.

4) Водяной насос.

5) Пластиковые мешки вместимостью минимум 80 мл.

6) Запечатанный мешок.

7) Реннилаза, концентрация 1:150 000 единиц Soxlet на грамм.

13. Отбор проб осуществляется в соответствии с требованиями положений пункта 2 настоящего приложения.

14. Процедура метода ферментации общих проб с использованием механического/технического способа изоляции посредством фильтрации, как эквивалентного метода, состоит в предварительном измельчении мяса, процессе его переваривания и изоляции личинок посредством осаждения.

15. Процедура предварительного измельчения проб мяса в мясорубке улучшит качество процесса переваривания. В случае если используют электрический миксер, то его необходимо приводить в действие три или четыре раза, или, приблизительно, в течение одной секунды.

16. Процедура переваривания используется для полных групп проб (100 г проб одновременно) или для групп с максимальным весом 100 г, разграниченных следующим образом:

1) полные комбинированные группы проб (100 г одновременно) структурированы в соответствии с требованиями положений подпункта 1) пункта 8 настоящего приложения;

2) комбинированные группы меньшего размера (менее 100 проб) структурированы в соответствии с требованиями положений подпункта 2) пункта 8 настоящего приложения.

17. Изоляция личинок посредством фильтрации состоит в соблюдении следующих этапов:

1) 300-400 г чешуйчатого или дробленого льда добавляют в пищеварительную жидкость до получения объема приблизительно 2 литра. В случае групп меньшего размера, количество льда должно быть сокращено.

2) Пищеварительную жидкость перемешивают, пока не растает лед. Охлажденную пищеварительную жидкость оставляют на три минуты, чтобы личинки свернулись.

3) Воронка Гельмана, снабженная держателем фильтра и фильтровальным диском, устанавливается на колбу Эрленмейера, соединенную с водяным насосом.

4) Пищеварительную жидкость выливают в воронку Гельмана и фильтруют. К концу фильтрации прохождение пищеварительной жидкости через фильтр можно облегчить путем применения отсасывания водяным насосом. Отсасывание необходимо прекратить до того, как фильтр высохнет, т.е. пока 2-5 мл жидкости не останется полностью в воронке;

5) После того, как пищеварительная жидкость была отфильтрована, фильтрационный диск изымают и помещают в пластиковый мешок вместимостью 80 мл вместе с 15-20 мл раствора реннилазы. Для получения раствора реннилазы добавляют 2 г реннилазы в 100 мл водопроводной воды.

6) Пластиковый мешок дважды запечатывают и помещают между внешним и внутренним мешками гомогенизатора.

7) Дробление в гомогенизаторе происходит в течение 3 минут, например, в то время, пока аппарат используется для анализа полной или неполной группы проб.

8) Через три минуты пластиковый мешок, содержащий фильтрационный диск и раствор реннилазы, извлекают из гомогенизатора и открывают с помощью ножниц. Жидкое содержимое выливают в лоток для подсчета личинок или чашку Петри. Мешок ополаскивают 5-10 мл воды, которые потом добавляют в лоток для подсчета личинок с целью исследования трихинеллоскопом или в чашку Петри для исследования стереомикроскопом.

9) Пищеварительные жидкости необходимо исследовать сразу по мере их готовности. Ни в коем случае нельзя откладывать исследование на следующий день.

10) Фильтровальные диски нельзя использовать, если они не являются абсолютно чистыми.

11) Грязные фильтровальные диски ни в коем случае нельзя сушить.

12) Фильтровальные диски можно очистить, оставив их в растворе реннилазы на ночь.

13) Перед использованием их необходимо помыть в гомогенизаторе с помощью свежего раствора реннилазы.

18. В случае положительного или сомнительного результата, применяются положения, предусмотренные в подпункте 3) пункта 3 настоящего приложения.

**Раздел 3**

**Автоматический метод ферментации для общих
проб до 35 грамм**

19. Оборудование и расходные материалы:

1) Нож или ножницы для разрезания проб.

2) Поддоны, размеченные на 50 квадратов, в каждый из которых можно поместить пробы мяса весом приблизительно 2 г или другие инструменты, дающие эквивалентные гарантии для прослеживаемости проб.

3) Миксер Trichomatic 35® с фильтровальным устройством.

4) Раствор соляной кислоты 8,5% ± 0,5% веса.

5) Прозрачные поликарбонатные мембранные фильтры диаметром 50 мм и порами, размер которых 14 микрон.

6) Пепсин, концентрация: 1:10 000 КБ (Национальный формуляр США), соответствующая 1:12 500 ВР (Британская фармакопея) и 2 000 FIP (Международная федерация фармацевтов), или стабилизированный жидкий пепсин с минимум 660 единицами Европейской фармакопеи на мл.

7) Весы с точностью до 0,1 г.

8) Пинцеты с плоским наконечником.

9) Несколько предметных стекол шириной минимум 5 см или несколько чашек Петри диаметром минимум 6 см, дно которых размечено на квадраты 10 х 10 мм с помощью острого инструмента.

10) Один (стерео)микроскоп с проходящим светом (увеличение от 15 до 60 раз) или трихинеллоскоп с горизонтальным столиком.

11) Ведро для сбора жидких отходов.

12) Несколько 10-литровых ведер, которые используются для обеззараживания устройств, например, формальдегидом, и для пищеварительного сока, оставшегося после тестирования положительных проб.

13) Термометр с точностью до 0,5 °С в диапазоне 1-100 °С.

20. Отбор проб осуществляется в соответствии с требованиями положений пункта 2 настоящего приложения.

21. Процедура автоматического переваривания для общих проб до 35 г предполагает соблюдение следующих этапов:

1) Устанавливается миксер с фильтровальным устройством, подсоединяются трубки для отходов, который помещается в ведро.

2) Когда миксер включен, начинается нагревание.

3) До начала открывается нижний клапан, расположенный под реакторной камерой, который потом закрывается.

4) Затем дополняют до 35 проб, каждая из которых весит приблизительно 1 г (при 25-30 °С), отобранная от каждой отдельной пробы в соответствии с пунктом 2 настоящего приложения.

Необходимо обеспечить, чтобы более крупные куски сухожилий были удалены, так как они могут засорить мембранный фильтр.

5) Наливают воду в сосуд, соединенный с миксером (приблизительно 400 мл).

6) Наливают примерно 30 мл соляной кислоты (8,5%) в меньший сосуд, соединенный с миксером.

7) Мембранный фильтр помещают под рядовой фильтр фильтровального устройства.

8) В конце добавляют 7 г пепсина или 21 мл жидкого пепсина. Необходимо строго соблюдать данный порядок, во избежание распада пепсина.

9) Закрывают крышки реакторной камеры и сосудов.

10) Выбирают период переваривания. Короткий период переваривания (5 минут) должен быть установлен для свиней, подвергшихся убою в обычном возрасте, а более долгий период (8 минут) - для других проб.

11) Когда кнопка старта включена на миксере, то автоматически запускается процесс заполнения и переваривания, который переходит в фильтрование. Через 10-13 минут процесс завершается и останавливается автоматически.

12) Крышку реакторной камеры открывают, чтобы проверить, что камера пуста. Если в камере осталась пена или пищеварительная жидкость, процедуру следует повторить в соответствии с пунктом 25 настоящего приложения.

22. Изоляция личинок методом автоматической ферментации для общих проб до 35 г состоит в соблюдении следующих этапов:

1) Извлекается держатель фильтра и переносится мембранный фильтр на предметное стекло или чашку Петри.

2) Исследуется мембранный фильтр с помощью стерео(микроскопа) или трихинеллоскопа.

23. Для очистки оборудования, в случае положительного результата, соблюдается следующая процедура:

1) Реакторную камеру миксера наполняют на две трети кипящей водой.

2) В сосуд, соединенный с миксером, наливают водопроводной воды до уровня покрытия нижнего датчика. Затем происходит автоматическая очистка.

3) Обеззараживается держатель фильтра и любое другое оборудование, например, с помощью формалина.

4) В конце рабочего дня наполняют жидкостную камеру миксера и включают его на стандартную программу.

24. Ни один поликарбонатный мембранный фильтр нельзя использовать более пяти раз. Фильтр необходимо переворачивать после каждого использования. К тому же фильтр нужно проверять после каждого использования для установления, если имеются повреждения, которые не способствуют его новому использованию.

25. Если переваривание не полное и невозможно провести фильтрацию, а миксер завершил программу автоматически в соответствии с пунктом 21 настоящего приложения, необходимо открыть крышку реакторной камеры, и если в результате проверки подтверждается наличие остатков пены или жидкости в камере, необходимо применить следующую процедуру:

1) Закрыть нижний клапан реакторной камеры.

2) Извлечь держатель фильтра и перенести мембранный фильтр на предметное стекло или чашку Петри.

3) Поставить новый мембранный фильтр в держатель фильтра и прикрепить держатель фильтра.

4) Наполнить жидкостную камеру миксера водой до покрытия нижнего датчика.

5) Включить автоматический цикл очистки.

6) После окончания программы автоматической очистки открыть крышку реакторной камеры и проверить на наличие остатков жидкости.

7) Если камера пуста, следует извлечь держатель фильтра и перенести мембранный фильтр на предметное стекло или чашку Петри с помощью пинцета.

8) Исследовать два мембранных фильтра в соответствии с положениями, установленными в пункте 22 настоящего приложения. В случае если фильтры не могут быть исследованы, то повторяется весь процесс переваривания, с более долгим периодом, в соответствии с положениями, установленными в пункте 21 настоящего приложения.

26. В случае положительного или сомнительного результата, применяются положения, предусмотренные в подпункте 3) пункта 3 настоящего приложения.

**Раздел 4**

**Метод магнитной мешалки для ферментации комбинированных проб/«изоляции посредством фильтрации» и выявления личинок посредством теста латексной агглюцинации**

27. Оборудование и расходные материалы:

1) Нож или ножницы и пинцеты для отбора проб.

2) Поддоны, размеченные на 50 квадратов, в каждый из которых можно поместить пробы мяса весом приблизительно 2 г, или другие инструменты, дающие эквивалентные гарантии для прослеживаемости проб.

3) Миксер, оснащенный острым рубящим лезвием. Если пробы больше 3 г, то необходимо использовать мясорубку с отверстиями 2-4 мм или ножницы. В случае с замороженным мясом или языком (после удаления поверхностного слоя, который не поддается перевариванию), потребуется использование мясорубки, и размер отобранной пробы необходимо будет значительно увеличить.

4) Магнитные мешалки с термопластинами, регулирующими температуру, и магнитными палочками с тефлоновым покрытием длиной приблизительно 5 см.

5) Стеклянные лабораторные стаканы вместимостью 3 литра.

6) Сетчатые фильтры, размеры ячеек 180 микрон, внешний диаметр 11 см, с ячейками из нержавеющей стали.

7) Устройство для фильтрации со стальной воронкой для фильтров и ситом в размере 20 μm.

8) Вакуумный насос.

9) Металлические или пластмассовые сосуды объемом 10-15 литров для сбора пищеварительного сока.

10) Мешалка с трехмерным вращательным движением.

11) Алюминиевая фольга.

12) Раствор 25% соляной кислоты.

13) Пепсин, концентрация: 1:10 000 КБ (Национальный формуляр США), соответствующий 1:12 500 ВР (Британская фармакопея) и 2 000 FIP (Международная федерация фармацевтов), или стабилизированный жидкий пепсин с минимум 660 единицами Европейской фармакопеи по мл.

14) Водопроводная вода, подогретая до 46-48 °C.

15) Весы с точностью до 0,1 г.

16) Пипетки разных размеров (1, 10 и 25 мл) согласно инструкциям производителя тестов латексной агглютинации и держатели для пипеток.

17) Нейлоновые фильтры размер ячеек которых 20 микрон и диаметр, подходящий для системы фильтрации.

18) Пинцет из пластмассы или стали с размером 10-15 см.

19) Конические флаконы объемом 15 мл.

20) Пестик с коническим наконечником из тефлона или стали, подходящий для конических флаконов.

21) Термометр с точностью до 0,5 °C пределах 1 - 100 °C.

22) Пластинка для латексной агглютинации набора тестов для идентификации антигена Trichin-L, утвержденного кодом № EURLP\_D\_001/2011.

23) Буферный раствор со стабилизатором (растворитель пробы) набора тестов для идентификации антигена Trichin-L, утвержденного кодом № EURLP\_D\_001/2011.

24) Буферный раствор, дополненный стабилизатором (отрицательная проверка) набора тестов для идентификации антигена Trichin-L, утвержденного кодом № EURLP\_D\_001/2011.

25) Буферный раствор, дополненный антигенами, принадлежащими Trichinella spiralis, и стабилизатором (положительная проверка) набора тестов для идентификации антигена Trichin-L, утвержденного кодом № EURLP\_D\_001/2011.

26) Буферный раствор с частицами полистирола, покрытыми антителами, дополненный стабилизатором (латексные шары) набора тестов для идентификации антигена Trichin-L, утвержденного кодом № EURLP\_D\_001/2011.

27) Одноразовые палочки.

28. Отбор проб осуществляется в соответствии с требованиями положений, установленных в пункте 2 приложения № 1 к настоящему Положению.

29. Для полных комбинированных проб (100 г проб одновременно) соблюдаются следующие этапы:

1) Добавляют 16 ± 0,5 соляной кислоты в лабораторный стакан объемом 3 литра, содержащий 2 литра ± 200 мл водопроводной воды, предварительно нагретой до температуры 46-48°C; в лабораторный стакан кладут магнитную палочку, а сам стакан помещают на предварительно нагретую пластину и начинают размешивание.

2) Добавляют 10 ± 1 г пепсина (в виде порошка) или 30 ± 3 мл жидкого пепсина.

3) 100-115 г проб, отобранных в соответствии с положениями, установленными в пункте 28 настоящего приложения, измельчают в миксере с 150 ± 15 мл предварительно нагретого буферного раствора.

4) Измельченное мясо помещают в лабораторный стакан объемом 3 литра, содержащий воду, пепсин и соляную кислоту.

5) Насадку для измельчения в миксере несколько раз помещают в пищеварительную жидкость, которая находится в лабораторном стакане, чашу миксера ополаскивают небольшим количеством пищеварительной жидкости для удаления остатков мяса.

6) Лабораторный стакан накрывают алюминиевой фольгой.

7) Магнитную мешалку необходимо установить таким образом, чтобы поддерживать постоянную температуру в пределах 44 - 46 °C на протяжении всего функционирования. Во время перемешивания пищеварительная жидкость должна вращаться на довольно высокой скорости наподобие водоворота без разбрызгивания.

8) Пищеварительную жидкость размешивают, пока не исчезнут частицы мяса (приблизительно 30 минут). Затем мешалку выключают, и пищеварительную жидкость пропускают через сетчатый фильтр в воронку для выпадения осадка. Могут потребоваться более длительные периоды переваривания (не превышающие 60 минут) при обработке некоторых видов мяса (язык, мясо дичи и пр.).

9) Процесс переваривания считают удовлетворительным, если на сетчатом фильтре остается не более 5% от исходного веса пробы.

 10) Нейлоновый фильтр с размером ячеек 20 микрон размещается на держателе фильтра. Коническую воронку для фильтрации устанавливают на держателе с помощью системы блокирования, а стальное сито с размером ячеек 180 микрон помещают в воронку. Вакуумный насос подключается к держателю фильтра и к металлическому или пластмассовому сосуду для сбора пищеварительной смеси.

11) Вращение останавливается, и пищеварительную жидкость пропускают через сито в воронку для фильтрации. Лабораторный стакан промывается 250 мл теплой воды. Ополаскивающую жидкость выливают в установку для фильтрации после успешной фильтрации пищеварительной жидкости.

12) Фильтровальная мембрана с помощью пинцетов размещается по краю. Фильтровальная мембрана складывается минимум в четыре раза и помещается в 15 мл коническую воронку. Коническая воронка должна подходить к пестику.

13) Фильтровальная мембрана размещается в нижней части 15 мл конической воронки с помощью пестика и сильно сжимается посредством примерно 20 последовательных движений туда-обратно с помощью пестика, который должен быть размещен внутри сложенной фильтровальной мембраны, в соответствии с инструкциями производителя.

14) 05 ± 0,01 мл растворителя пробы добавляется с помощью пипетки в 15мл коническую воронку, а фильтровальная мембрана гомогенизируется пестиком посредством последовательных движений туда-обратно небольшой амплитуды, примерно, 30 секунд, избегая резких движений для снижения разбрызгивания, в соответствии с инструкциями производителя.

15) Каждая проба, положительная и отрицательная проверка, распределяются с помощью пипетки в разделенные зоны пластинки для агглютинации, в соответствии с инструкциями производителя.

16) Латексные шары добавляют с помощью пипетки в каждую зону пластинки для агглютинации в соответствии с инструкциями производителя, без вступления их в контакт с пробой (пробами) и проверками. В каждой зоне латексные шары слегка перемешиваются с помощью одноразовых палочек до тех пор, пока однородная жидкость не покроет всю зону.

17) Пластинку для агглютинации размещают на трехмерную мешалку и вращают в течение 10 ± 1 минут в соответствии с инструкциями производителя.

18) В конце периода, установленного в инструкциях производителя, вращение останавливается, пластинка для агглютинации размещается на плоской поверхности, и сразу считываются результаты реакции, в соответствии с инструкциями производителя. В случае положительной пробы, должны появиться агрегаты в виде бусинок. В случае отрицательной пробы, суспензия остается однородной без агрегатов в виде бусинок.

30. Для комбинированных проб весом менее 100 г необходимо соблюдать процедуру, установленную в подпункте 2) пункта 3 настоящего приложения.

31. В случае положительного или сомнительного результата при исследовании комбинированной пробы посредством теста латексной агглютинации, обирается новая проба весом 20 г от каждой свиньи, в соответствии с положениями подпунктов 1)-3) пункта 2 настоящего приложения.

32. Пробы весом 20 г, полученные от пяти свиней, объединяются и исследуются согласно методу, описанному в пункте 29 настоящего приложения. Таким образом следует проанализировать пробы от 20 групп, в которых по пять свиней.

33. В случае положительного результата при проведении теста латексной агглютинации, из каждой группы, в которой по пять свиней, отбираются новые пробы весом 20 г, и каждая проба исследуется отдельно с использованием метода, описанного в пункте 29 настоящего приложения.

34. В случае получения положительного или сомнительного результата на тест латексной агглютинации, минимум 20 г свинных мышц должны быть отправлены в национальную референтную лабораторию для подтверждения, с использованием метода, описанного в главе I настоящего приложения.

35. Пробы, которые содержат паразитов, следует хранить в 90% этиловом спирте для сохранения и идентификации видов в национальной референтной лаборатории. После отбора паразитов положительные жидкости необходимо обеззаразить путем нагревания до температуры минимум 60 °С.

36. В случае если вследствие исследования общей или индивидуальной пробы получен положительный или сомнительный результат теста, все материалы, вступавшие в контакт с мясом (чаша и нож миксера, пестик, лабораторный стакан, магнитная мешалка, сенсор температуры, коническая фильтровальная воронка, сито и пинцет), должны быть осторожно обеззаражены путем мойки в теплой воде (65 - 90 °C).

37. Остатки мяса или неактивные личинки, которые могли бы остаться на их поверхности, должны удаляться с помощью чистой губки и водопроводной воды. При необходимости, можно добавить несколько капель моющего средства для обезжиривания оборудования. Затем рекомендуется тщательно ополоснуть каждый инструмент для удаления любого следа моющего средства.

38. Метод магнитной мешалки для переваривания комбинированных проб/«изоляции посредством фильтрации» и выявления личинок посредством теста латексной агглютинации считается эквивалентным только в случае тестов, проведенных в отношении мяса, происходящего от домашних свиней.

**Раздел 5**

**Тест искусственного пищеварения для выявления in vitro личинок Trichinella spp. в пробах мяса, PrioCHECK® Trichinella AAD Kit**

39. Данный метод считается эквивалентным только в случае тестов, выполненных с мясом, происходящим от домашних животных вида свиней.

40. PrioCHECK® Trichinella AAD Kit должен использоваться в соответствии с руководством по использованию пакета, с применением разделительных воронок (Lenz NS 29/32) и 80 мл стеклянной пробирки.

**Раздел 6**

**Трихинеллоскопический метод**

41. Оборудование:

1) Трихинеллоскоп с лампой накаливания с увеличением 30-40 и 80-100 раз или стереомикроскоп с платформой проходящего света регулируемой интенсивности.

2) Компрессор, состоящий из двух стеклянных пластин (одна из них разделена на две равные части).

3) Две пары небольших изогнутых ножниц.

4) Небольшой пинцет.

5) Нож для проб.

6) Небольшие пронумерованные сосуды, предназначенные для сбора отдельных проб.

7) Пипетка.

8) Стакан уксусной кислоты и стакан раствора гидроокиси калия для возможного осветления, в случае кальцификаций или для размягчения сухого мяса.

42. Отбор проб

В случае целых туш, от каждого животного отбираются несколько проб размером с лесной орех:

1) у домашних свиней такие пробы отбираются из каждой ножки диафрагмы в месте перехода мышечной ткани в сухожилие;

2) у диких кабанов пробы отбираются из обеих ножек диафрагмы в месте перехода мышечной ткани в сухожилие, а также из челюсти, мышц нижней конечности, межреберных мышц и мышц языка, итого шесть проб от каждого животного;

3) в случае, если из определенных мышц невозможно отобрать пробу, то необходимо отобрать четыре пробы из мышц, где это возможно;

4) в случае кусочков мяса, из каждого кусочка отбираются четыре пробы размером с лесной орех из поперечно-полосатой мышечной ткани, по возможности, не содержащей жира, взятой из различных точек как можно ближе к костям или сухожилиям.

43. Процедура

1) В целом, компрессор наполняют 1,0 ± 0,1 г мяса, что обычно соответствует 28 кусочкам размером с овсяное зерно. Если необходимо, то наполняют два компрессора для исследования 56 кусочков размером с овсяное зерно.

2) Если имеются обе ножки диафрагмы от домашней свиньи, инспектор проводит исследование на наличие трихинеллы, отделяет 28 кусочков размером с овсяное зерно от каждой из вышеперечисленных проб, взятых от целой туши, в целом, соответственно, 56 кусочков.

3) Если в наличии имеется только одна ножка диафрагмы, отрезают 56 кусочков из различных мест, по возможности, в месте перехода мышечной ткани в сухожилие.

4) Пробы, отбираемые из других четырех мышц дикого кабана разрезаются каждая на семь кусочков размером с овсяное зерно,что составляет 28 дополнительных кусочков.

5) Инспектор, который проводил исследование на наличие тринихеллы, зажимает 56 (или 84) кусочков между стеклянными пластинами компрессора таким образом, чтобы можно было легко прочитать отпечатанные знаки между кусочками.

6) Если мясо из кусочков, подлежащих исследованию, сухое и застарелое, его необходимо размягчить в течение 10-20 минут перед прессованием в смеси раствора гидроокиси калия и воды.

7) От каждой пробы, отобранной из кусочков мяса, инспектор, проводящий исследование на наличие трихинеллы, отрезает 14 кусочков размером с овсяное зерно, что составляет в целом 56 кусочков.

8) Исследование с помощью микроскопа необходимо проводить посредством медленного и тщательного сканирования каждого кусочка при увеличении 30-40 раз;

9) Если посредством трихинеллоскопического исследования обнаруживаются подозрительные участки, их необходимо исследовать при наибольшем увеличении трихинеллоскопа (80-100 раз).

10) Если результат достаточно сомнительный, исследование повторяют на других пробах и с другими приготовленными кусочками, до тех пор, пока не будет получена точная информация. Трихинеллоскопическое исследование необходимо проводить в течение не менее шести минут.

11) Минимальное время, установленное для исследования, не включает время, необходимое для отбора проб и приготовления кусочков.

12) Инспектор, проводящий трихинеллоскопическое исследование, не должен исследовать более 840 кусочков в день, что соответствует исследованию 15 домашних свиней или 10 диких кабанов.

Приложение № 2

к Ветеринарно-санитарному положению

об установлении специфических норм,

применяемых к официальным проверкам

мяса на наличие трихинелл

**Обработка посредством замораживания**

1. Метод замораживания № 1 требует соблюдения следующих требований:

1) Мясо, привезенное в замороженном виде, необходимо хранить в этом состоянии;

2) Техническое оборудование и источник энергии холодильной камеры должны быть такими, чтобы обеспечивать быстрое достижение необходимой температуры и ее поддержание во всех частях холодильной камеры, а также в отношении мяса.

3) Все изолирующие упаковки необходимо удалить до замораживания, за исключением тех случаев, когда мясо уже достигло необходимой температуры по всей толщине при помещении в холодильную камеру, или мясо упаковано таким образом, что упаковка не препятствует достижению необходимой температуры в течение предусмотренного срока.

4) Партии в холодильной камере необходимо хранить отдельно и взаперти.

5) Дату и время, когда каждая партия помещается в холодильную камеру, необходимо регистрировать.

6) Температура в холодильной камере должна составлять максимум – 25 °С. Температуру необходимо измерять с помощью откалиброванных термоэлектрических приборов и постоянно регистрировать. Температуру нельзя измерять непосредственно в потоке холодного воздуха. Инструменты должны храниться взаперти. Графики температур должны включать соответствующие данные из журнала по инспектированию мяса при импорте, а также дату и время начала и завершения замораживания в течение года после сбора данных.

7) Кусочки мяса диаметром или толщиной до 25 см необходимо замораживать в течение минимум 240 последовательных часов, а мясо диаметром или толщиной от 25 до 50 см необходимо замораживать в течение минимум 480 последовательных часов. Этот процесс замораживания нельзя применять к кусочкам мяса, которые по толщине или диаметру больше.

В морозильной камере время замораживания рассчитывается с момента, когда температура достигает значений, установленных в подпункте 6) пункта 1 настоящего приложения.

2. Метод замораживания № 2 требует соблюдения общих положений, установленных в подпунктах 1)-5) пункта 1 настоящего приложения, с применением следующих комбинаций времени и температур:

1) кусочки мяса диаметром или толщиной до 15 см необходимо замораживать в течение одной из следующих комбинаций времени и температур:

a) 20 дней при минус 15 °С;

b) 10 дней при минус 23 °С;

c) 6 дней при минус 29 °С;

2) мясо диаметром или толщиной от 15 до 50 см необходимо замораживать в течение одной из следующих комбинаций времени и температуры:

a) 30 дней при минус 15 °С;

b) 20 дней при минус 25 °С;

c) 12 дней при минус 29 °С.

Температура в холодильной камере не должна превышать уровень выбранной температуры инактивации. Ее необходимо измерять с помощью откалиброванных термоэлектрических приборов и постоянно регистрировать. Ее нельзя измерять непосредственно в потоке холодного воздуха.

Инструменты необходимо хранить взаперти. Температурные графики должны включать соответствующие данные из журнала по инспектированию мяса при импорте, а также дату и время начала и завершения замораживания, графики необходимо хранить в течение года.

Если используются морозильные туннели, и не соблюдаются в строгости процедуры, описанные в пунктах 1-2 настоящего приложения, предприниматели продовольственного сектора должны быть способны доказать Агентству, что используемый альтернативный метод эффективен для уничтожения паразитов вида Trochinella в свинине.

3. Метод замораживания № 3 заключается в заморозке или сухой заморозке мяса в соответствии с предусмотренными комбинациями времени и температуры, таким образом, чтобы температура контролировалась в центре каждого кусочка мяса:

1) Соблюдаются общие положения, установленные в подпунктах 1)-5) пункта 1 настоящего приложения, с применением следующих комбинаций времени и температур:

a) 106 часов при минус 18 °С;

b) 82 часа при минус 21 °С;

c) 63 часа при минус 23,5 °С;

d) 48 часов при минус 26 °С;

e) 35 часов при минус 29 °С;

f) 22 часа при минус 32 °С;

g) 8 часов при минус 35 °С;

h) ½ часа при минус 37 °С.

2) Температуру необходимо измерять с помощью откалиброванных термоэлектрических приборов и постоянно регистрировать. Датчик термометра вставляется в центр куска мяса размером не меньше, чем самый толстый кусок мяса, подлежащий заморозке. Этот кусок мяса необходимо поместить в наименее благоприятное место в холодильной камере, вдали от холодильного оборудования и холодного потока воздуха. Инструменты необходимо хранить взаперти.

Температурные графики должны содержать соответствующие данные из журнала по инспектированию мяса при импорте, а также дату и время начала и завершения замораживания и должны храниться в течение года.

Приложение № 3

к Ветеринарно-санитарному положению

об установлении специфических норм,

применяемых к официальным проверкам

мяса на наличие трихинелл

**Исследование некоторых животных, которые не относятся к виду свиней**

Мясо лошадей, мясо диких животных и другие виды мяса, в которых могут содержаться паразиты рода Trichinella, необходимо исследовать в соответствии с одним из методов переваривания, указанных в главе I или II приложения № 1 к настоящему Положению, со следующими изменениями:

1) пробы весом минимум 10 г отбираются из мышц языка или челюсти лошадей или передней ноги, языка, или диафрагмы дикого кабана;

2) при отсутствии таких мышц у лошадей, более крупную пробу необходимо отобрать из ножки диафрагмы в месте перехода мышечной ткани в сухожилие. Мышца должна быть очищена от соединительной ткани и жира;

3) минимум 5 г пробы подвергают эталонному методу выявления, указанному в главе I, или эквивалентному методу, представленному в главе II приложения № 1 к настоящему Положению. Для каждой пищеварительной жидкости общий вес мышцы, подлежащий исследованию, не должен превышать 100 г для метода, указанного в главе I, и методов, описанных в разделах 1 и 2 главы II приложения № 1 к настоящему Положению, и 35 г для метода, описанного в разделе 3 главы II приложения № 1 к настоящему Положению;

4) если результат положительный, необходимо отобрать еще 50 г пробы для последующего отдельного анализа;

5) без ущерба для правил по сохранению видов животных, все мясо от диких животных, за исключением кабанов, а также медведей, хищных млекопитающих (включая морских млекопитающих) и рептилий, необходимо исследовать посредством отбора 10 г пробы из мышц в предрасположенных местах, или большего объема, если такие места не доступны;

6) предрасположенными местами являются:

a) у медведя– диафрагма, жевательные мышцы и язык;

b) у моржа– язык;

c) у крокодила– жевательная мышца, крыловидные и межреберные мышцы;

d) у птиц– мышцы головы (а также жевательные мышцы и мышцы шеи);

7) период переваривания должен быть достаточно длинным для обеспечения надлежащего переваривания тканей этих животных, но не должен превышать 60 минут.

Приложение № 4

к Ветеринарно-санитарному положению

об установлении специфических норм,

применяемых к официальным проверкам

мяса на наличие трихинелл

**Модель декларации**

Национальному агентству по безопасности пищевых продуктов

**Д Е К Л АР А Ц И Я**

Нижеподписавшийся\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_,

владелец ветеринарно-санитарной авторизации № \_\_\_\_\_от \_\_\_\_\_\_ 201\_\_г.,

местонахождение в районе \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ , муниципии/городе \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

сектор\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ , коммуна/село \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

улица \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_,

 заявляю под собственную ответственность, что выполняю все требования, предусмотренные в пункте 34 Ветеринарно-санитарного положения об установлении специфических норм, применяемых к официальным проверкам мяса на наличие Trichinella, и указанные выше данные являются подлинными.

Подпись \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_