Il presente testo è un semplice strumento di documentazione e non produce alcun effetto giuridico. Le istituzioni dell'Unione non assumono alcuna responsabilità per i suoi contenuti. Le versioni facenti fede degli atti pertinenti, compresi i loro preamboli, sono quelle pubblicate nella Gazzetta ufficiale dell'Unione europea e disponibili in EUR-Lex. Tali testi ufficiali sono direttamente accessibili attraverso i link inseriti nel presente documento

►B

REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2015/1375 DELLA COMMISSIONE

del 10 agosto 2015

che definisce norme specifiche applicabili ai controlli ufficiali relativi alla presenza di *Trichine* nelle carni

(codificazione)

(Testo rilevante ai fini del SEE)

(GU L 212 dell'11.8.2015, pag. 7)

Modificato da:

		Gazzetta ufficiale		
		n.	pag.	data
►M1	Regolamento di esecuzione (UE) 2020/1478 della Commissione del 14 ottobre 2020	L 338	7	15.10.2020
►M2	Regolamento di esecuzione (UE) 2021/519 della Commissione del 24 marzo 2021	L 104	36	25.3.2021
►M3	Regolamento di esecuzione (UE) 2022/1418 della Commissione del 22 agosto 2022	L 218	7	23.8.2022
►M4	Regolamento di esecuzione (UE) 2023/2156 della Commissione del 17 ottobre 2023	L 2156	1	18.10.2023

▼B

REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2015/1375 DELLA COMMISSIONE

del 10 agosto 2015

che definisce norme specifiche applicabili ai controlli ufficiali relativi alla presenza di *Trichine* nelle carni

(codificazione)

(Testo rilevante ai fini del SEE)

CAPO I

DISPOSIZIONI GENERALI

Articolo 1

Definizioni

Ai fini del presente regolamento si applicano le seguenti definizioni:

1) per «*Trichina*» si intende qualsiasi nematode appartenente alla specie del genere *Trichinella*;

2) per «condizioni di stabulazione controllata» si intende un tipo di allevamento nell'ambito del quale i suini sono sottoposti a titolo permanente a controlli da parte dell'operatore alimentare per quanto riguarda l'alimentazione e le condizioni di stabulazione;

3) per «comparto» si intende un gruppo di aziende che applicano condizioni di stabulazione controllata. Tutte le aziende che applicano condizioni di stabulazione controllata in uno Stato membro possono essere considerate come un singolo comparto.

CAPO II

OBBLIGHI DELLE AUTORITÀ COMPETENTI E DEGLI OPERATORI DEL SETTORE ALIMENTARE

Articolo 2

Campionamento delle carcasse

1. Si prelevano campioni dalle carcasse di suini domestici, nei mattatoi, nell'ambito degli esami post mortem secondo le modalità descritte qui di seguito:

a) ogni anno sono sottoposte ad esame per accertare la presenza di *Trichine* tutte le carcasse di scrofe riproduttrici e verri riproduttori o almeno il 10 % delle carcasse di animali destinati alla macellazione provenienti da ciascuna azienda ufficialmente riconosciuta per l'applicazione delle condizioni di stabulazione controllata;

b) sono sottoposte ad esame sistematico per accertare la presenza di *Trichine* tutte le carcasse provenienti da aziende non ufficialmente riconosciute per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata.

Al fine di individuare la presenza di *Trichine*, in un laboratorio designato dall'autorità competente viene prelevato un campione da ciascuna carcassa, utilizzando uno dei seguenti metodi:

▼B

a) metodo di rilevamento di riferimento di cui all'allegato I, capitolo I; o

b) metodo di individuazione equivalente di cui all'allegato I, capitolo II.

2. ►M2 Le carcasse di solipedi, cinghiali e altre specie animali d'allevamento o selvatiche a rischio di contaminazione da Trichine sono sottoposte sistematicamente a campionamento nei mattatoi o negli stabilimenti di trattamento della selvaggina, nell'ambito dell'esame post mortem. ◄

Viene prelevato un campione da ciascuna carcassa e viene esaminato conformemente a quanto disposto negli allegati I e III, in un laboratorio designato dall'autorità competente.

▼M2

3. In attesa dei risultati dell'esame atto ad individuare la presenza di Trichine, e purché la piena tracciabilità sia garantita dall'operatore del settore alimentare, le carcasse di suini domestici e di solipedi possono essere sezionate in sei parti al massimo, nel mattatoio o in un laboratorio di sezionamento situato negli stessi locali.

▼B

Articolo 3

Deroghe

1. In deroga all'articolo 2, paragrafo 1, le carni di suini domestici sottoposte a trattamento di congelazione conformemente all'allegato II, sotto il controllo dell'autorità competente sono esenti dall'esame atto ad individuare la presenza di *Trichine*.

2. In deroga all'articolo 2, paragrafo 1, le carcasse e le carni di suini domestici non svezzati di età inferiore a 5 settimane sono esenti dall'esame atto ad individuare la presenza di *Trichine*.

3. In deroga all'articolo 2, paragrafo 1, le carcasse e le carni di suini domestici possono essere esentate dall'esame atto ad individuare la presenza di *Trichine* nel caso in cui gli animali provengano da un azienda o da un comparto ufficialmente riconosciuti per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata conformemente all'allegato IV, qualora:

a) nello Stato membro non siano state rilevate contaminazioni autoctone da *Trichine* nei suini domestici allevati in aziende ufficialmente riconosciute per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata nel corso degli ultimi tre anni, periodo durante il quale gli animali sono stati costantemente sottoposti a controlli a norma dell'articolo 2; o

▼B

b) i dati storici sui controlli cui è stata costantemente sottoposta la popolazione suina macellata garantiscano con una probabilità di almeno il 95 % che la prevalenza delle *Trichine* non sia superiore a un caso per milione; o

c) le aziende che applicano le condizioni di stabulazione controllata siano ubicate in Belgio e Danimarca.

▼M4

4. Nel caso in cui uno Stato membro applichi la deroga di cui al paragrafo 3 del presente articolo, esso ne informa la Commissione e gli altri Stati membri nell'ambito del comitato permanente per le piante, gli animali, gli alimenti e i mangimi. La Commissione pubblica sul suo sito web l'elenco degli Stati membri che applicano tale deroga.

Nel caso in cui uno Stato membro non presenti, conformemente all'articolo 9, paragrafo 1, secondo comma, della direttiva 2003/99/CE, i dati relativi agli esami atti a individuare la presenza di *Trichine* di cui all'allegato IV, capitolo II, del presente regolamento, la deroga di cui al paragrafo 3 del presente articolo cessa di essere applicata allo Stato membro in questione.

▼M1

5. In deroga all'articolo 2, paragrafo 3, e previa approvazione dell'autorità competente:

a) le carcasse possono essere sezionate in un laboratorio di sezionamento annesso o distinto dal mattatoio, a condizione che:

i) la procedura sia approvata dall'autorità competente;

ii) la carcassa o le parti di carcassa siano destinate a un unico laboratorio di sezionamento;

iii) il laboratorio di sezionamento si trovi nel territorio dello Stato membro; e

iv) in caso di risultati positivi tutte le parti siano dichiarate inadatte al consumo umano;

b) le carcasse ottenute da suini domestici possono essere sezionate in più parti in un laboratorio di sezionamento situato negli stessi locali o annesso al mattatoio a condizione che:

i) la procedura sia approvata dall'autorità competente;

▼M3

ii) prima che sia stata raggiunta la temperatura di cui all'allegato III, sezione I, capitolo V, punto 2, lettera b), del regolamento (CE) n. 853/2004, il sezionamento o il disosso sia effettuato in conformità all'allegato III, sezione I, capitolo V, punto 4, di tale regolamento;

▼M1

iii) in caso di risultati positivi tutte le parti siano dichiarate inadatte al consumo umano.

▼B

Articolo 4

Esame destinato a individuare la presenza di *Trichine* e apposizione del bollo sanitario

1. ►M1 Le carcasse di cui all'articolo 2 o parti delle stesse, fatta eccezione per quelle di cui all'articolo 3, paragrafo 5, non possono lasciare i locali prima che il risultato dell'esame destinato a individuare la presenza di *Trichine* si riveli negativo. ◄

Analogamente, altre parti dell'animale destinate al consumo umano o animale, che contengono tessuto muscolare striato, non sono autorizzate a lasciare i locali prima che i risultati dell'esame destinato ad individuare la presenza di *Trichine* siano negativi.

2. I rifiuti di origine animale e i sottoprodotti di origine animale non destinati al consumo umano e non contenenti muscoli striati possono lasciare i locali prima che siano disponibili i risultati destinati ad individuare la presenza di *Trichine*.

Le autorità competenti possono tuttavia richiedere un esame per individuare la presenza di *Trichine* o un trattamento preventivo dei sottoprodotti di origine animale prima di autorizzarli a lasciare i locali.

▼M1

3. Qualora nel mattatoio sia adottata una procedura per garantire che nessuna parte delle carcasse esaminate lasci i locali prima che siano disponibili i risultati negativi degli esami per l'individuazione delle *Trichine* e tale procedura sia ufficialmente approvata dall'autorità competente, oppure nel caso in cui si applichi la deroga di cui all'articolo 3, paragrafo 5, il bollo sanitario di cui all'articolo 18, paragrafo 4, del regolamento (UE) 2017/625 può essere apposto prima che siano disponibili i risultati dell'esame per l'individuazione delle *Trichine*.

▼B

Articolo 5

Formazione

Le autorità competenti dispongono che tutto il personale che partecipa all'esame dei campioni destinati ad individuare la presenza di *Trichine* sia adeguatamente formato e partecipi a:

a) un programma di controllo della qualità delle analisi utilizzate per individuare la presenza di *Trichine*;

b) una valutazione regolare delle procedure di valutazione, di registrazione e di analisi utilizzate nel laboratorio.

▼B

Articolo 6

Metodi di individuazione

1. Metodi di individuazione di cui all'allegato I, capitoli I e II, vengono utilizzati per esaminare i campioni di cui all'articolo 2 nei casi in cui vi sia motivo di sospettare una contaminazione da *Trichine*.

2. Tutti i campioni positivi vengono inviati al laboratorio nazionale di riferimento o al laboratorio di riferimento dell'Unione al fine di identificare le specie di *Trichine* interessate.

Articolo 7

Piani d'emergenza

Le autorità competenti degli Stati membri definiscono un piano d'emergenza, nel quale sono indicate tutte le misure da adottare nel caso in cui l'esame dei campioni di cui all'articolo 2 confermi la presenza di *Trichine*. Il piano in questione comprende i seguenti aspetti:

a) tracciabilità della/e carcassa/e contaminata/e e parti delle stesse contenenti tessuto muscolare;

b) misure destinate al trattamento della/e carcassa/e contaminata/e e delle relative parti;

c) ricerca della fonte di contaminazione e di un'eventuale diffusione presso la fauna selvatica;

d) qualsiasi altra misura da adottare a livello di commercianti al dettaglio o consumatori;

e) misure da adottare nel caso in cui non sia possibile identificare nel mattatoio la carcassa contaminata;

f) identificazione della specie di *Trichinella* interessata.

Articolo 8

Riconoscimento ufficiale delle aziende che applicano condizioni di stabulazione controllata

1. Ai fini del presente regolamento laddove siano soddisfatte le prescrizioni di cui all'allegato IV l'autorità competente può riconoscere ufficialmente un'azienda o un comparto che applicano condizioni di stabulazione controllata.

2. Le aziende o un comparto che applicano condizioni di stabulazione controllata in Belgio o Danimarca conformemente all'articolo 3, paragrafo 3, lettera c), al 1º giugno 2014 sono considerati ufficialmente riconosciuti per l'applicazione delle condizioni di stabulazione controllata di cui all'allegato IV.

▼B

Articolo 9

Obbligo d'informazione da parte degli operatori del settore alimentare

Gli operatori del settore alimentare delle aziende ufficialmente riconosciute per l'applicazione di condizioni si stabulazione controllata informano le autorità competenti nel caso in cui una delle condizioni di cui all'allegato IV non sia più rispettata, ovvero nel caso in cui si verifichino cambiamenti che potrebbero avere conseguenze sulla qualifica dell'azienda rispetto alle *Trichine*.

Articolo 10

Ispezioni presso le aziende ufficialmente riconosciute per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata

L'autorità competente si assicura che le aziende ufficialmente riconosciute per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata vengano sottoposte periodicamente ad ispezione.

La frequenza delle ispezioni si basa sul rischio, prendendo in considerazione i precedenti per quanto riguarda la contaminazione e la prevalenza della stessa, le rilevazioni precedenti, la zona geografica, la fauna selvatica locale interessata, le pratiche di allevamento, il controllo veterinario e la conformità degli allevatori.

L'autorità competente si assicura che i suini domestici provenienti da tali da aziende siano esaminati conformemente alle disposizioni dell'articolo 2, paragrafo 1.

Articolo 11

Programmi di monitoraggio

L'autorità competente può attuare un programma di monitoraggio dei suini domestici provenienti da aziende o comparti ufficialmente riconosciuti per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata al fine di verificare che tale popolazione animale sia effettivamente esente da *Trichine*.

Nel programma di monitoraggio figurano la frequenza dei test, il numero di animali da sottoporre a controllo e il piano di campionamento. A questo scopo sono prelevati ed esaminati campioni di carni al fine di individuare la presenza di *Trichine* conformemente a quanto disposto all'allegato I, capitoli I o II.

Il programma di monitoraggio può comprendere metodi sierologici quale strumento supplementare, purché convalidati dal laboratorio di riferimento dell'Unione.

▼B

Articolo 12

Ritiro della qualifica ufficiale relativa all'applicazione di condizioni di stabulazione controllata

1. Nel caso in cui i risultati delle ispezioni condotte conformemente all'articolo 10 dimostrino che le condizioni di cui all'allegato IV non sono più soddisfatte, l'autorità competente revoca immediatamente la qualifica ufficiale delle aziende.

2. Nel caso in cui i suini domestici provenienti da un'azienda ufficialmente riconosciuta per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata risultino positivi al test di individuazione della presenza di *Trichine*, l'autorità competente procede immediatamente a:

a) revocare la qualifica ufficiale dell'azienda;

b) esaminare tutti i suini domestici di quell'azienda al momento della macellazione;

c) rintracciare e sottoporre ad analisi tutti gli animali riproduttori arrivati nell'azienda e, nella misura del possibile, tutti quelli che hanno lasciato l'azienda nei sei mesi precedenti il risultato positivo. A tale scopo sono prelevati campioni di carne da esaminare per individuare la presenza di *Trichine*, usando i metodi di individuazione di cui all'allegato I, capitoli I e II;

d) ove opportuno e possibile, studiare la diffusione della contaminazione da parassiti imputabile alla distribuzione delle carni di suini domestici macellati nel periodo precedente il risultato positivo;

e) informare la Commissione e gli altri Stati membri;

f) avviare, ove opportuno, un'indagine epidemiologica per individuare le cause della contaminazione;

g) adottare misure adeguate nel caso in cui non sia possibile identificare le carcasse contaminate nel mattatoio, tra cui:

   i) aumentare le dimensioni dei campioni di carni prelevati per le analisi delle carcasse sospette; o

   ii) dichiarare le carcasse non adatte al consumo umano; e

   iii) adottare misure adeguate per l'eliminazione delle carcasse sospette e delle relative parti, nonché di quelle risultate positive ai test.

▼B

3. A seguito della revoca del riconoscimento, è possibile per le aziende ottenere nuovamente il riconoscimento ufficiale una volta che i problemi identificati siano stati risolti e il rispetto delle prescrizioni di cui all'allegato IV sia stato comprovato dall'autorità competente.

4. Nel caso in cui dall'ispezione sia emersa un'inosservanza dell'articolo 9 o un risultato positivo in un'azienda facente parte di un comparto, quest'ultima deve essere rimossa da tale comparto finché non sia stata ristabilita la conformità.

CAPO III

IMPORTAZIONI

Articolo 13

Condizioni sanitarie per l'importazione

1. Le carni contenenti muscolatura striata di specie animali che possono essere portatrici di *Trichine* possono essere importate nell'Unione soltanto se, prima dell'esportazione, sono state sottoposte all'esame per l'individuazione della presenza di *Trichine* conformemente a norme equivalenti a quelle degli articoli 2 e 3 nel paese terzo in cui gli animali sono stati macellati.

▼M1

2. Solo i paesi terzi elencati nell'allegato VII possono applicare le deroghe di cui all'articolo 3, paragrafi 2 e 3, dopo aver informato la Commissione dell'applicazione di tali deroghe.

▼B

CAPO IV

ABROGAZIONE E DISPOSIZIONI FINALI

Articolo 15

Abrogazione

Il regolamento (CE) n. 2075/2005 è abrogato.

I riferimenti al regolamento abrogato si intendono fatti al presente regolamento e si leggono secondo la tavola di concordanza riportata all'allegato VI.

Articolo 16

Entrata in vigore

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

▼B

ALLEGATO I

Metodi di rilevamento

▼M1

CAPITOLO I

METODO DI RILEVAMENTO DI RIFERIMENTO

Il metodo di rilevamento di riferimento per l'esame di campioni in relazione alla presenza di *Trichine* è costituito dalla norma ISO 18743:2015.

▼B

CAPITOLO II

METODI EQUIVALENTI

A. **Metodo di digestione artificiale di campioni aggregati/tecniche di sedimentazione**

1. *Attrezzature e reagenti*

a) Coltello o forbici per il prelievo di campioni.

b) Vassoi suddivisi in 50 riquadri, ciascuno dei quali in grado di contenere campioni di carne del peso di circa 2 g, ovvero altri strumenti che diano garanzie equivalenti per quanto riguarda la tracciabilità dei campioni.

c) Tritacarne o mixer elettrico.

d) Stomacher lab-blender 3 500, thermo model.

e) Sacchetti di plastica adatti allo Stomacher lab-blender.

f) Provette di decantazione di forma conica, con capacità di 2 litri, preferibilmente dotate di tappi in Teflon.

g) Supporti, anelli e morsetti.

h) Setacci, dimensione della maglia 180 micron, diametro esterno 11 cm, maglia in acciaio inossidabile o in ottone.

i) Imbuti, con diametro interno non inferiore a 12 cm, per sostenere i setacci.

j) Provette graduate da 100 ml.

▼M3

k) Termometro con precisione di 0,5 °C per temperature comprese fra 20 °C e 70 °C.

▼B

l) Vibratore, ad esempio rasoio elettrico senza testa.

m) Relè elettrico, acceso e spento a intervalli di 1 minuto.

n) Trichinoscopio, con tavola orizzontale o uno stereomicroscopio con sorgente luminosa di intensità regolabile, proveniente dal basso.

▼M3

o) Scatole petri di circa 90 mm di diametro, con reticolo suddiviso in quadrati di circa 1 cm di lato, o attrezzatura equivalente per il conteggio delle larve, secondo quanto indicato al punto 6.14 della norma ISO 18743:2015.

▼B

p) Acido cloridrico al 17,5 %.

▼M3

q) Pepsina con la concentrazione seguente:

— se in polvere o granulare: 1:10 000 NF (US National Formulary), corrispondente a 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) e a 2 000 FIP (Fédération internationale de pharmacie) o

— se liquida: pepsina liquida stabilizzata con una concentrazione minima di 660 unità EP (European Pharmacopoeia)/ml.

Possono essere utilizzate altre attività della pepsina, purché l'attività finale nel succo di digestione sia equivalente all'attività di 10 g di 1:10 000 NF, secondo quanto indicato al punto 5.3 della norma ISO 18743:2015.

▼B

r) Alcuni recipienti da 10 litri da usare per la decontaminazione di apparecchi, mediante, ad esempio, formalina, nonché per i succhi digestivi rimanenti nel caso di campioni positivi.

▼M3

s) Bilancia tarata per pesare campioni e/o pepsina (precisione di ± 0,1 g).

2. *Prelievo di campioni e quantitativi per la digestione*

Secondo quanto indicato al punto 4.2 della norma ISO 18743:2015 (cfr. anche i relativi allegati A e B per ulteriori dettagli).

▼B

3. *Procedura*

I. Triturazione

Triturando i campioni di carne in un tritacarne si migliora la qualità della digestione. Qualora si usi un tritacarne elettrico, occorre azionare l'apparecchio tre o quattro volte, ogni volta per un secondo.

II. Procedura della digestione

La procedura può essere applicata a aggregati completi (100 g di campioni per volta) o aggregati inferiori a 100 g.

a) Aggregati completi (100 campioni per volta):

i) Lo Stomacher lab-blender 3 500 viene dotato di un doppio sacchetto di plastica e la temperatura regolata tra 40 e 41 °C.

ii) Si versa un litro e mezzo d'acqua preriscaldata tra 40 e 41 °C nel sacchetto interno.

iii) Si aggiungono all'acqua nello Stomacher 25 ml di acido cloridrico al 17,5 %.

iv) Si aggiungono 100 campioni del peso di 1 g circa ciascuno (tra 25 e 30 °C) prelevati da ciascuno dei singoli campioni, conformemente a quanto indicato al punto 2.

v) Si aggiungono infine 6 g di pepsina o 18 ml di pepsina liquida. Rispettare rigorosamente l'ordine per evitare la decomposizione della pepsina.

vi) Il contenuto del sacchetto viene quindi mescolato nello Stomacher per 25 minuti.

vii) Il sacchetto viene rimosso dallo Stomacher e il succo di digestione viene filtrato attraverso il setaccio e versato in un becher da 3 litri.

viii) Il sacchetto di plastica viene risciacquato con circa 100 ml d'acqua utilizzata quindi per risciacquare il setaccio e infine aggiunta al contenuto del becher.

ix) Ad un aggregato completo di 100 campioni si può aggiungere un massimo di 15 campioni individuali per esaminarli contemporaneamente.

▼B

b) Aggregati di dimensioni inferiori (meno di 100 campioni):

i) Si dota lo Stomacher lab-blender 3 500 di un doppio sacchetto di plastica e la temperatura viene regolata tra 40 e 41 °C.

ii) Si prepara un succo di digestione mescolando circa un litro e mezzo d'acqua e 25 ml di acido cloridrico al 17,5 %. Si aggiungono 6 g di pepsina alla miscela ad una temperatura tra 40 e 41 °C. L'ordine delle operazioni va rispettato rigorosamente per evitare la decomposizione della pepsina.

iii) Si misura un volume del succo di digestione pari a 15 ml per grammo di campione (ad esempio, per 30 campioni, il volume necessario è pari a 30 × 15 ml = 450 ml) versandolo quindi nel sacchetto di plastica interno assieme ai campioni di carne del peso di circa 1 g (ad una temperatura tra 25 e 30 °C) prelevati da ciascun campione individuale, conformemente a quanto indicato al punto 2.

iv) Si versa acqua ad una temperatura di 41 oC circa nel sacchetto esterno, sino ad ottenere un volume totale dei due sacchetti pari a un litro e mezzo. Lo Stomacher mescola il contenuto del sacchetto per 25 minuti.

v) Il sacchetto viene rimosso dallo Stomacher e il succo di digestione viene filtrato attraverso il setaccio e versato in un becher da 3 litri.

vi) Il sacchetto di plastica viene risciacquato con circa 100 ml d'acqua (ad una temperatura tra 25 e 30 °C), usata quindi per risciacquare il setaccio e infine aggiunta al liquido filtrato contenuto nel becher.

▼M3

III. Isolamento delle larve mediante sedimentazione

— Si aggiungono al succo di digestione 300-400 g di ghiaccio (in scaglie o tritato) per ottenere un volume di circa 2 litri. Il succo di digestione viene quindi mescolato fino allo scioglimento del ghiaccio. Nel caso di aggregati di dimensioni inferiori (cfr. punto II.b), il quantitativo del ghiaccio deve essere ridotto di conseguenza.

— Si trasferisce il succo di digestione raffreddato in un imbuto di sedimentazione da 2 litri, dotato di un vibratore fissato con un morsetto supplementare.

— La sedimentazione procede per 30 minuti, nel corso dei quali il recipiente viene fatto vibrare in modo intermittente, alternando un minuto di vibrazione e un minuto di pausa.

— Dopo 30 minuti, 60 ml del campione del sedimento sono introdotti rapidamente in un cilindro graduato da 100 ml (l'imbuto viene risciacquato con una soluzione detergente dopo l'utilizzazione).

— Il campione di 60 ml viene lasciato riposare per almeno 10 minuti, dopo di che si aspira il liquido surnatante fino a lasciare nella provetta un volume di 15 ml che verrà esaminato per individuare la presenza di larve.

— Per l'aspirazione si può utilizzare una siringa monouso, dotata di un tubo di plastica. La lunghezza del tubo di plastica deve essere tale da consentire che un volume di 15 ml rimanga nel cilindro graduato quando le flange della siringa si trovano a livello del bordo del cilindro.

— I 15 ml restanti sono versati in una scatola petri o in attrezzatura equivalente per il conteggio delle larve ed esaminati con un trichinoscopio o uno stereomicroscopio.

— Il cilindro graduato viene risciacquato con 5-10 ml di acqua di rubinetto e il liquido ottenuto viene successivamente aggiunto al campione.

▼M3

— I succhi di digestione devono essere esaminati non appena pronti. L'esame non deve essere in alcun caso rinviato al giorno successivo.

Se i succhi di digestione non sono trasparenti, si deve procedere a una chiarificazione secondo la seguente procedura:

— il campione finale di 60 ml viene versato in un cilindro graduato e lasciato riposare per 10 minuti; 45 ml di liquido surnatante vengono quindi aspirati e i rimanenti 15 ml portati a 45 ml con l'aggiunta di acqua di rubinetto;

— dopo un ulteriore periodo di riposo di 10 minuti, si aspirano 30 ml di liquido surnatante e i rimanenti 15 ml sono versati in una scatola petri o in attrezzatura equivalente per il conteggio delle larve e sono esaminati con un trichinoscopio o uno stereomicroscopio;

— il cilindro graduato viene risciacquato con 10 ml di acqua di rubinetto e il liquido ottenuto viene aggiunto al campione nella scatola petri o nell'attrezzatura equivalente per il conteggio delle larve ed esaminato con un trichinoscopio o uno stereomicroscopio.

IV. Risultati positivi o incerti

Nel caso in cui l'esame di un campione aggregato dia un risultato positivo o incerto, si preleva da ciascun suino un ulteriore campione di 20 g, secondo quanto indicato al punto 4.2 della norma ISO 18743:2015 (cfr. anche i relativi allegati A e B per ulteriori dettagli). I campioni di 20 g provenienti da cinque suini vengono raggruppati ed esaminati mediante il metodo descritto nel presente capitolo. In questo modo saranno esaminati campioni provenienti da 20 gruppi di cinque suini ciascuno. Qualora venga individuata la presenza di *Trichine* in un campione aggregato proveniente da cinque suini, si prelevano ulteriori campioni da 20 g dai singoli suini del gruppo e ciascuno viene esaminato separatamente mediante il metodo descritto nel presente capitolo. I campioni contenenti parassiti devono essere conservati in alcool etilico al 70-90 % (concentrazione finale) per l'identificazione della specie presso il laboratorio di riferimento nazionale o dell'UE. Per la procedura di decontaminazione, cfr. il punto 12 della norma ISO 18743:2015.

▼B

B. **Metodo di digestione di campioni aggregati mediante assistenza meccanica/tecniche di isolamento mediante filtraggio**

1. *Attrezzature e reagenti*

Secondo quanto indicato nella sezione A.1.

Attrezzature supplementari:

a) imbuto Gelman da un litro, completo di supporto per filtro (diametro 45 mm);

b) dischi filtranti, composti da un reticolo in acciaio inossidabile, di forma circolare, con un'apertura di 35 micron (diametro del disco: 45 mm), due guarnizioni di gomma dello spessore di 1 mm (diametro esterno: 45 mm, diametro interno: 38 mm); reticolo circolare situato tra le due guarnizioni di gomma e ad esso saldato con una colla a doppio componente, adatta ai due materiali;

c) una beuta di Erlenmeyer, da 3 litri, dotata di un tubo laterale per l'aspirazione;

d) una pompa a filtro;

e) sacchetti di plastica con una capacità minima di 80 ml;

f) dispositivo per sigillare sacchetti di plastica;

g) rennilase, concentrazione pari a 1:150 000 unità Soxhlet per grammo.

▼M3

2. *Prelievo di campioni*

Secondo quanto indicato al punto 4.2 della norma ISO 18743:2015 (cfr. anche i relativi allegati A e B per ulteriori dettagli).

▼B

3. *Procedura*

I. Triturazione

Triturando i campioni di carne in un tritacarne si migliora la qualità della digestione. Qualora si usi un tritacarne elettrico, occorre azionare l'apparecchio tre o quattro volte, ogni volta per un secondo.

II. Procedura della digestione

La procedura può essere applicata ad aggregati completi (100 g di campioni per volta) o aggregati inferiori a 100 g.

a) Aggregati completi (100 campioni per volta)

Cfr. sezione A.3.II.a.

b) Aggregati piccolini dimensioni inferiori (meno di 100 campioni)

Cfr. sezione A.3.II.b.

III. Isolamento delle larve mediante filtraggio

a) Si aggiungono al succo di digestione tra i 300 e i 400 g di ghiaccio (in scaglie o tritato) per ottenere un volume di circa 2 litri. Nel caso di aggregati più piccoli, il quantitativo di ghiaccio va ridotto di conseguenza.

b) Si agita il succo di digestione fino allo scioglimento del ghiaccio. Il liquido di digestione raffreddato va quindi lasciato riposare per 3 minuti affinché le larve possano arrotolarsi.

c) L'imbuto Gelman, dotato di un supporto per filtro e un disco filtrante, viene montato su un contenitore Erlenmeyer collegato ad una pompa a filtro.

d) Il succo di digestione viene versato nell'imbuto Gelman e filtrato. Alla fine dell'operazione di filtraggio, il passaggio del liquido attraverso il filtro può essere facilitato procedendo ad una aspirazione mediante la pompa. Occorre interrompere l'aspirazione prima che il filtro si secchi, vale a dire quando rimangono ancora tra i 2 e i 5 ml di liquido nell'imbuto.

e) Dopo aver filtrato tutto il succo di digestione, il disco di filtraggio viene rimosso e introdotto in un sacchetto di plastica della capacità di 80 ml, assieme a 15-20 ml di soluzione di rennilase. La soluzione di rennilase si ottiene aggiungendo 2 g di rennilase a 100 ml di acqua di rubinetto.

f) Il sacchetto di plastica viene sigillato due volte e collocato tra il sacchetto interno e quello esterno nello Stomacher.

g) Lo Stomacher viene azionato per 3 minuti, vale a dire mentre l'apparecchio funziona per un aggregato completo o incompleto.

▼M3

h) Dopo tre minuti il sacchetto di plastica, con disco di filtraggio e soluzione di rennilase, viene rimosso dallo stomacher e aperto con delle forbici. Il liquido in esso contenuto viene versato in una scatola petri o in attrezzatura equivalente per il conteggio delle larve. Il sacchetto viene risciacquato con 5-10 ml d'acqua, che vengono quindi aggiunti alla scatola petri o all'attrezzatura equivalente per il conteggio delle larve ed esaminati con un trichinoscopio o uno stereomicroscopio.

▼B

i) I succhi di digestione devono essere esaminati non appena pronti. L'esame non deve essere in alcun caso rinviato al giorno successivo.

Nota: I dischi di filtraggio non devono essere utilizzati se non sono perfettamente puliti. Dischi non puliti non devono mai essere lasciati ad asciugare. I dischi di filtraggio si possono pulire lasciandoli per una notte in una soluzione di rennilase. Prima dell'uso devono essere risciacquati in una nuova soluzione di rennilase utilizzando lo Stomacher.

▼M3

IV. Risultati positivi o incerti

Secondo quanto stabilito alla sezione A.3, punto IV.

▼B

C. **Metodo di digestione automatica per campioni aggregati fino a 35 grammi**

1. *Attrezzature e reagenti*

a) Coltello o forbici per tagliare i campioni.

b) Vassoi suddivisi in 50 riquadri, ciascuno in grado di contenere campioni di carne di circa 2 g, ovvero altre attrezzature che forniscano garanzie equivalenti per quanto riguarda la tracciabilità dei campioni.

c) Un miscelatore Trichomatic 35® con dispositivo di filtraggio.

d) Acido cloridrico all'8,5 % ± 0,5 % di peso.

e) Filtri a membrana di policarbonato trasparente del diametro di 50 mm e pori da 14 micron.

▼M3

f) Pepsina con la concentrazione seguente:

— se in polvere o granulare: 1:10 000 NF (US National Formulary), corrispondente a 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) e a 2 000 FIP (Fédération internationale de pharmacie) o

— se liquida: pepsina liquida stabilizzata con una concentrazione minima di 660 unità EP (European Pharmacopoeia)/ml.

Possono essere utilizzate altre attività della pepsina, purché l'attività finale nel succo di digestione sia equivalente all'attività di 10 g di 1:10 000 NF, secondo quanto indicato al punto 5.3 della norma ISO 18743:2015.

g) Bilancia tarata per pesare campioni e/o pepsina (precisione di ± 0,1 g).

▼B

h) Pinzette con estremità piatta.

i) Diversi vetrini da microscopio con dimensioni minime di 5 cm, ovvero scatole petri con diametro minimo di 6 cm, contrassegnati sul fondo e suddivisi in riquadri da 10 × 10 mm mediante marcatore appuntito.

j) Stereo(microscopio) a luce trasmessa (ingrandimento da 15 a 60 volte) o trichinoscopio con tavolo orizzontale.

k) Recipiente per la raccolta di liquidi residui.

l) Alcuni recipienti da 10 litri da utilizzare per la decontaminazione di apparecchi, mediante, ad esempio, formalina, nonché per i succhi digestivi rimanenti nel caso di campioni positivi.

▼M3

m) Termometro con precisione di 0,5 °C per temperature comprese fra 20 °C e 70 °C.

▼M3

2. *Prelievo di campioni*

Secondo quanto indicato al punto 4.2 della norma ISO 18743:2015 (cfr. anche i relativi allegati A e B per ulteriori dettagli).

▼B

3. *Procedura*

I. Procedura della digestione

a) Collocare il miscelatore con il dispositivo di filtraggio, collegare il tubo di scarico e introdurlo nell'apposito recipiente.

b) Quando il miscelatore è acceso inizia il riscaldamento.

c) Prima di iniziare si apre e si richiude la valvola collocata sotto la camera di reazione.

d) Si aggiungono quindi un massimo di 35 campioni del peso di 1 g circa ciascuno (tra 25 e 30 °C) prelevati da ciascun campione individuale, conformemente a quanto disposto al punto 2. Occorre assicurarsi che vengano rimossi eventuali pezzi più grossi di tendini che potrebbero ostruire il filtro.

e) Si versa dell'acqua fino all'orlo del recipiente collegato al miscelatore (circa 400 ml).

f) Si versano circa 30 ml di acido cloridrico (all'8,5 %) fino all'orlo del recipiente più piccolo collegato al recipiente del liquido.

g) Si colloca un filtro a membrana sotto al filtro a grana grossa nel supporto per il filtro.

h) Si aggiungono infine 7 g di pepsina o 21 ml di pepsina liquida. Rispettare rigorosamente l'ordine per evitare la decomposizione della pepsina.

i) Si chiudono i coperchi della camera di reazione e della camera contenente i liquidi.

j) Si sceglie il periodo di digestione. Un periodo di digestione breve (5 minuti) va scelto per i suini in età normale per la macellazione, mentre per altri campioni si sceglie un periodo più lungo (8 minuti).

k) Quando si aziona il pulsante di avvio del miscelatore, inizia automaticamente il processo di erogazione e digestione, seguito dal filtraggio. Dopo circa 10-13 minuti, il processo è terminato e l'apparecchio si ferma automaticamente.

l) Si apre il coperchio della camera di reazione dopo aver verificato lo svuotamento della stessa. Se vi è della schiuma o se vi sono residui di liquido di digestione, si ripete la procedura conformemente al punto V.

II. Isolamento delle larve

a) Smontare il supporto del filtro e trasferire il filtro a membrana su un vetrino o una scatola petri.

b) Esaminare il filtro a membrana usando uno stereomicroscopio o un trichinoscopio.

▼B

III. Pulizia dell'attrezzatura

a) Nel caso di risultati positivi, riempire la camera di reazione del miscelatore con acqua bollente fino ad una capacità di due terzi. Versare acqua di rubinetto nel recipiente collegato al contenitore di liquidi fino a raggiungere il livello del sensore inferiore. Si procede quindi alla pulizia automatica. Decontaminare il supporto del filtro e qualsiasi altra attrezzatura, usando, ad esempio, formalina.

b) Al termine della giornata lavorativa, riempire il recipiente del miscelatore con acqua e avviare il programma standard.

IV. Utilizzazione di filtri a membrana

Ciascun filtro a membrana di policarbonato può essere usato un massimo di cinque volte. Il filtro va rigirato dopo ciascuna utilizzazione. Il filtro deve inoltre essere controllato dopo ciascuna utilizzazione per individuare eventuali danni che lo renderebbero inutilizzabile.

V. Metodo da seguire nel caso in cui la digestione risulti incompleta e non si possa pertanto procedere al filtraggio

Una volta avviato il ciclo automatico del miscelatore conformemente al punto I, si apre il coperchio della camera di reazione e si controlla se vi siano all'interno schiuma o liquido residuo. In caso affermativo, si procede come segue:

a) chiudere la valvola collocata sotto la camera di reazione;

b) smontare il supporto del filtro e collocare il filtro a membrana su un vetrino o una scatola petri;

c) inserire un nuovo filtro a membrana nel supporto montarlo;

d) riempire il recipiente del miscelatore con acqua fino al livello del sensore inferiore;

e) procedere al programma di pulizia automatica;

f) alla fine del programma in questione, aprire il coperchio della camera di reazione e controllare se vi siano residui di liquido;

g) se la camera risulta vuota, togliere il supporto del filtro e collocare il filtro a membrana su un vetrino o una scatola petri mediante una pinzetta;

h) esaminare i due filtri a membrana conformemente a quanto indicato al punto II. Se non è possibile esaminare i filtri, ripetere l'intero processo di digestione prolungando il tempo di digestione conformemente al punto I.

▼M3

VI. Risultati positivi o incerti

Secondo quanto stabilito alla sezione A.3, punto IV.

▼B

D. **Metodo dell'agitatore magnetico con digestione di campioni aggregati/ tecniche di isolamento mediante filtrazione e individuazione di larve mediante test di agglutinazione al lattice.**

Tale metodo è considerato equivalente esclusivamente per le analisi sulle carni di suini domestici.

▼B

1. *Attrezzatura e reagenti*

a) Coltello o forbici e pinzette per il prelievo di campioni.

b) Vassoi suddivisi in 50 riquadri, ciascuno dei quali può contenere campioni di carne del peso di circa 2 g, ovvero altri strumenti che diano pari garanzie per quanto riguarda la tracciabilità dei campioni.

c) Miscelatore dotato di lama sminuzzatrice affilata; qualora i campioni superino i 3 g, occorre usare un tritacarne con fori tra 2 e 4 mm o delle forbici; nel caso di carni congelate o lingua (previa rimozione dello strato superficiale che non può essere digerito), occorre utilizzare un tritacarne e aumentare notevolmente le dimensioni del campione.

d) Agitatori magnetici con piastra di riscaldamento dotata di termostato e barrette per rimescolare, rivestite in Teflon, della lunghezza approssimativa di 5 cm.

e) Becher in vetro da 3 litri.

f) Setacci aventi diametro esterno di 11 cm, con maglie in acciaio inossidabile (dimensioni della maglia 180 micron).

g) Dispositivo di filtrazione in acciaio per filtri con maglia di 20 μm, con imbuto in acciaio.

h) Pompa per vuoto.

i) Contenitori metallici o in plastica, con capacità tra 10 e 15 litri, per la raccolta del succo di digestione.

j) Agitatore a movimento giratorio tridimensionale.

k) Fogli di alluminio.

l) Acido cloridrico al 25 %.

▼M3

m) Pepsina con la concentrazione seguente:

— se in polvere o granulare: 1:10 000 NF (US National Formulary), corrispondente a 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) e a 2 000 FIP (Fédération internationale de pharmacie) o

— se liquida: pepsina liquida stabilizzata con una concentrazione minima di 660 unità EP (European Pharmacopoeia)/ml.

Possono essere utilizzate altre attività della pepsina, purché l'attività finale nel succo di digestione sia equivalente all'attività di 10 g di 1:10 000 NF, secondo quanto indicato al punto 5.3 della norma ISO 18743:2015.

▼B

n) Acqua di rubinetto riscaldata ad una temperatura tra 46 e 48 °C.

▼M3

o) Bilancia tarata per pesare campioni e/o pepsina (precisione di ± 0,1 g).

▼B

p) Pipette di dimensioni diverse (1, 10 e 25 ml), micropipette conformemente alle istruzioni del fabbricante dell'agglutinazione al lattice, con relativi supporti.

q) Filtri in nylon con maglia di 20 μm, di diametro adatto al dispositivo di filtrazione.

r) Pinze in acciaio o plastica tra 10 e 15 cm.

s) Fiale coniche da 15 ml.

t) Pestello in teflon o in acciaio con punta conica conformata alle fiale coniche.

▼M3

u) Termometro con precisione di 0,5 °C per temperature comprese fra 20 °C e 70 °C.

▼B

v) Cartine per agglutinazione al lattice del kit per il test dell'antigene Trichin-L convalidato con il codice n. EURLP_D_001/2011.

w) Soluzione tampone con conservante (diluente per campione) del kit per il test dell'antigene Trichin-L convalidato con il codice n. EURLP_D_001/2011.

x) Tampone integrato con conservante (controllo negativo) del kit per il test dell'antigene Trichin-L convalidato con il codice n. EURLP_D_001/2011.

y) Tampone integrato con antigeni di *Trichinella spiralis* e conservante (controllo positivo) del kit per il test dell'antigene Trichin-L convalidato con il codice n. EURLP_D_001/2011.

z) Tampone con particelle di polistirene rivestite con anticorpi, integrato con conservante (microsfere di lattice) del kit per il test dell'antigene Trichin-L convalidato con il codice n. EURLP_D_001/2011.

aa) Bastoncini monouso.

▼M3

2. *Prelievo di campioni*

Secondo quanto indicato al punto 4.2 della norma ISO 18743:2015 (cfr. anche gli allegati A e B per ulteriori dettagli).

▼B

3. *Procedura*

I. Per aggregati completi (100 g di campioni alla volta):

a) versare 16 ± 0,5 ml di acido cloridrico al 25 % (percentuale finale 0,2 %) in un becher da 3 litri contenente 2,0 litri ± 200 ml di acqua di rubinetto preriscaldata a 46-48 °C. Si inserisce nel becher una barra di agitazione, il becher viene collocato su una piastra preriscaldata e si inizia l'agitazione;

b) si aggiungono 10 ± 1 g di pepsina in polvere (o 30 ± 3 ml di pepsina liquida);

c) nel mixer si sminuzzano 100-115 g di campioni prelevati conformemente al punto 2, con 150 ml ± 15 ml di succo di digestione preriscaldato;

d) la carne sminuzzata viene trasferita nel becher da 3 litri contenente l'acqua, la pepsina e l'acido cloridrico;

e) il dispositivo di triturazione del mixer viene immerso ripetutamente nel succo di digestione nel becher e la vaschetta di miscelazione viene risciacquata con una piccola quantità di succo di digestione per eliminare eventuali particelle di carne rimaste;

f) il becher viene coperto con un foglio d'alluminio;

g) l'agitatore magnetico deve essere regolato in modo che mantenga una temperatura costante compresa tra i 44 ed i 46 °C durante tutta l'operazione. Durante l'agitazione, il succo di digestione deve ruotare a una velocità sufficientemente elevata da formare un vortice profondo senza che si producano schizzi;

h) il succo di digestione viene agitato fino a quando le particelle di carne scompaiono (30 minuti circa). L'agitatore viene quindi spento e il succo di digestione versato attraverso il setaccio nell'imbuto di sedimentazione. Per quanto riguarda alcuni tipi di carni (lingua, selvaggina ecc.) possono essere necessari periodi di digestione più lunghi (non superiori a 60 minuti);

▼B

i) il processo di digestione è considerato soddisfacente se nel setaccio rimane non più del 5 % del peso del campione iniziale;

j) il filtro in nylon con maglia di 20 µm è posizionato sul supporto di filtrazione; L'imbuto conico di filtrazione in acciaio viene fissato al supporto con il sistema di bloccaggio e sopra l'imbuto viene posto il setaccio di acciaio con maglia di 180 µm. La pompa per vuoto è collegata con il supporto di filtrazione e con il contenitore metallico o in plastica per la raccolta del succo di digestione;

k) il processo di agitazione viene concluso ed il succo di digestione viene versato attraverso il setaccio nell'imbuto di filtrazione. Il becher è lavato con circa 250 ml di acqua calda. Il liquido di risciacquo viene versato nel dispositivo di filtrazione dopo che il succo di digestione è stato filtrato con successo;

l) la membrana di filtrazione viene presa con le pinze, tenendola per un lato, viene piegata almeno in quattro e viene messa nel tubo conico da 15 ml. Il tubo conico scelto deve essere adeguato al pestello;

m) la membrana è spinta sul fondo del tubo conico da 15 ml con l'aiuto del pestello e pressata con forza mediante circa 20 movimenti successivi avanti e indietro del pestello, che dovrebbe essere posizionato all'interno delle pieghe della membrana conformemente alle istruzioni del fabbricante;

n) con una pipetta vengono aggiunti 0,5 ml ± 0,01 ml di diluente nel tubo conico da 15 ml e la membrana è omogeneizzata con il pestello con ripetuti brevi movimenti avanti e indietro per circa 30 secondi, evitando movimenti bruschi onde limitare gli spruzzi di liquido conformemente alle istruzioni del fabbricante;

o) ogni campione, il controllo negativo e il controllo positivo, viene distribuito mediante pipette in settori differenti della cartina per agglutinazione conformemente alle istruzioni del fabbricante;

p) le microsfere di lattice sono aggiunte mediante pipette in ciascun settore della cartina per agglutinazione conformemente alle istruzioni del fabbricante, evitando che entrino in contatto con il campione o i campioni e con i controlli. In ciascun settore le microsfere di lattice sono quindi mescolate delicatamente con un bastoncino monouso finché l'intero settore non sia coperto da un liquido omogeneo;

q) la cartina è inserita nell'agitatore tridimensionale e agitata per 10 ± 1 minuti conformemente alle istruzioni del fabbricante;

r) trascorso il termine fissato dal fabbricante, si spegne l'agitatore, si pone la cartina su una superficie piana e si procede alla lettura immediata dei risultati della reazione, conformemente alle istruzioni del fabbricante. Nel caso di un campione positivo le microsfere devono apparire aggregate. Nel caso di un campione negativo la sospensione resta omogenea senza aggregazioni di microsfere.

▼M3

II. Aggregati di campione di meno di 100 g come previsto al punto 8 della norma ISO 18743:2015

Se necessario, un massimo di 15 g possono essere aggiunti a un aggregato totale di campione di 100 g ed esaminati assieme ai campioni in questione, conformemente a quanto disposto al punto I. Più di 15 g devono essere esaminati come aggregato completo. Nel caso di aggregati di campioni fino a 50 g, i succhi di digestione e gli ingredienti possono essere ridotti a 1 litro di acqua, 8 ml di acido cloridrico e 5 g di pepsina.

▼M3

III. Risultati positivi o incerti

Nel caso in cui l'esame di un campione aggregato dia un risultato positivo o incerto relativamente all'agglutinazione al lattice, si preleva da ciascun suino un ulteriore campione di 20 g, conformemente al punto 4.2 della norma ISO 18743:2015 (cfr. anche i relativi allegati A e B per ulteriori dettagli). I campioni di 20 g provenienti da cinque suini vengono raggruppati ed esaminati mediante il metodo descritto alla sezione I. In questo modo devono essere esaminati campioni provenienti da 20 gruppi di cinque suini ciascuno.

Nel caso in cui la prova di agglutinazione al lattice sia positiva per un gruppo di cinque suini, si procede all'ulteriore prelievo di campioni di 20 g dai singoli suini del gruppo e ciascuno viene esaminato separatamente mediante il metodo descritto alla sezione I.

Nel caso in cui la prova di agglutinazione al lattice sia positiva o incerta, almeno 20 g di muscolo di suino devono essere inviati al laboratorio nazionale di riferimento per le analisi di conferma mediante il metodo di cui alla norma ISO 18743:2015 o uno dei metodi equivalenti sopra descritti.

I campioni contenenti parassiti devono essere conservati in alcool etilico al 70-90 % (concentrazione finale) per l'identificazione della specie presso il laboratorio di riferimento nazionale o dell'UE.

Una volta prelevati i parassiti, i liquidi positivi devono essere decontaminati mediante riscaldamento a una temperatura minima di 60 °C.

▼B

IV. Procedure di pulizia e decontaminazione applicate a seguito di un risultato positivo o incerto

Nel caso in cui la prova dell'agglutinazione al lattice di un campione aggregato o individuale dia un esito positivo o incerto, tutto il materiale a contatto con le carni (vaschetta e lama del miscelatore, pestello, becher, barretta per rimescolare, sensore di temperatura, imbuto di filtraggio conico, setaccio e pinze) deve essere accuratamente decontaminato mediante immersione per alcuni secondi in acqua calda (65 ^{o}C-90 ^{o}C). I residui di carne o le larve inattivate che dovessero restare sulla loro superficie possono essere rimossi con una spugna pulita e acqua corrente. Se necessario, è possibile aggiungere alcune gocce di detergente per sgrassare l'attrezzatura. Si raccomanda poi di risciacquare accuratamente ogni elemento per rimuoverne ogni traccia.

E. **Test di digestione artificiale per la ricerca in vitro di larve di Trichinella spp nei campioni di carne, Kit PrioCHECK® *Trichinella* AAD.**

Tale metodo è considerato equivalente esclusivamente per le analisi sulle carni di suini domestici.

Il kit PrioCHECK® *Trichinella* AAD è utilizzato attenendosi alle istruzioni contenute nel relativo manuale d'uso, servendosi di imbuti separatori (Lenz NS 29/32) e di una provetta di vetro da 80 ml.

▼B

ALLEGATO II

Trattamento mediante congelazione

A. *Metodo di congelazione 1*

a) Le carni pervenute già congelate devono essere mantenute in questo stato.

b) L'attrezzatura tecnica e l'alimentazione in energia della cella frigorifera devono essere tali da garantire che la temperatura necessaria sia raggiunta molto rapidamente e mantenuta in tutte le parti della cella frigorifera e all'interno delle carni.

c) L'imballaggio isolante deve essere rimosso prima della congelazione, salvo il caso in cui le carni siano già alla temperatura richiesta quando vengono introdotte nella cella frigorifera, ovvero nel caso in cui l'imballaggio sia tale da non impedire il raggiungimento della temperatura desiderata entro i termini specificati.

d) Le partite nella cella frigorifera devono essere tenute separate e sotto chiave.

e) Occorre registrare la data e l'ora di arrivo di ciascuna partita destinata alla cella frigorifera.

f) La temperatura nella cella frigorifera non può superare i – 25 °C. Essa deve essere misurata mediante apparecchi termoelettrici calibrati e deve essere registrata costantemente. La temperatura non deve essere misurata direttamente nella corrente di aria fredda. Gli strumenti devono essere tenuti sotto chiave. I grafici della temperatura devono comprendere i dati del registro d'ispezione delle carni all'importazione e la data e l'ora dell'inizio e della fine del processo di congelamento, conservando il tutto per un anno.

g) Le carni con diametro o spessore inferiore a 25 cm devono essere congelate per un periodo minimo di 240 ore consecutive, mentre le carni con diametro o spessore superiore a 25 cm e 50 cm devono essere congelate per un periodo minimo di 480 ore consecutive. La durata della congelazione viene calcolata dal momento in cui nella cella frigorifera si raggiunge la temperatura specificata alla lettera f).

B. *Metodo di congelazione 2*

Si osservano le disposizioni generali delle lettere da a) ad e) punto A del metodo 1 e si applicano le seguenti combinazioni durata/temperatura:

a) le carni con diametro o spessore inferiore a 15 cm devono essere congelate secondo le seguenti combinazioni durata/temperatura:

— 20 giorni a – 15 °C,

— 10 giorni a – 23 °C,

— 6 giorni a – 29 °C;

b) le carni con diametro o spessore tra 15 e 50 cm devono essere congelate secondo le seguenti combinazioni durata/temperatura:

▼B

— 30 giorni a – 15 °C,

— 20 giorni a – 25 °C,

— 12 giorni a – 29 °C.

La temperatura nella cella frigorifera non deve superare il livello di temperatura d'inattivazione prescelto. Essa deve essere misurata mediante apparecchi termoelettrici calibrati e deve essere registrata costantemente. La temperatura non deve essere misurata direttamente nella corrente di aria fredda. Gli strumenti devono essere tenuti sotto chiave. I grafici della temperatura devono comprendere i dati del registro d'ispezione delle carni all'importazione e la data e l'ora dell'inizio e della fine del processo di congelamento, conservando il tutto per un anno.

Nel caso si ricorra a gallerie di congelazione e la procedura indicata ai punti A e B non venga seguita alla lettera, l'operatore alimentare deve essere in grado di dimostrare alle competenti autorità che il metodo alternativo è in grado di eliminare le *Trichine* dalle carni di suino in modo efficace.

C. *Metodo di congelazione 3*

Il trattamento consiste nella crioessiccazione commerciale o nella congelazione di carni per combinazioni specifiche di durata/temperatura con monitoraggio della temperatura all'interno di ciascun taglio.

a) Le disposizioni generali delle lettere da a) ad e) del punto A del metodo 1 vengono osservate con le seguenti combinazioni durata/temperatura:

— 106 ore a – 18 °C,

— 82 ore a – 21 °C,

— 63 ore a – 23,5 °C,

— 48 ore a – 26 °C,

— 35 ore a – 29 °C,

— 22 ore a – 32 °C,

— 8 ore a – 35 °C,

— 1/2 ora a – 37 °C.

b) La temperatura deve essere misurata mediante apparecchi termoelettrici calibrati e deve essere registrata costantemente. La sonda del termometro va inserita al centro di un pezzo di carne di dimensioni non inferiori al pezzo di carne più spesso da congelare. Il pezzo in questione deve essere collocato nel punto meno favorevole della cella frigorifera, né a prossimità immediata dell'impianto di raffreddamento, né direttamente nella corrente di aria fredda. Gli strumenti devono essere tenuti sotto chiave. I grafici della temperatura devono comprendere i dati del registro d'ispezione delle carni all'importazione e la data e l'ora dell'inizio e della fine del processo di congelamento, conservando il tutto per un anno.

▼B

ALLEGATO III

Esame di animali diversi dai suini

▼M2

L'ispezione di carni di solipedi, di carni di selvaggina e di altre carni che potrebbero contenere Trichine deve essere effettuata conformemente a uno dei metodi di digestione di cui all'allegato I, capitolo I o II, con le seguenti modifiche:

a) vanno prelevati campioni del peso minimo di 10 g dalla lingua o dal massetere dei solipedi e dall'arto anteriore, dalla lingua o dal diaframma dei cinghiali;

b) in assenza di tale muscolatura nei solipedi, va prelevato un campione di maggiori dimensioni dal pilastro del diaframma nel punto di transizione dalla parte muscolare alla parte tendinea. Il muscolo deve essere esente da tessuto connettivo e grasso;

▼B

c) un minimo di 5 g del campione viene digerito conformemente al metodo di riferimento descritto nel capitolo I, o a un metodo equivalente descritto nel capitolo II. Per ciascuna digestione il peso totale del muscolo esaminato non deve superare i 100 g per il metodo di cui al capitolo I e i metodi A e B di cui al capitolo II e non deve superare i 35 g per il metodo C di cui al capitolo II;

d) in caso di risultato positivo, si preleva un ulteriore campione di 50 g destinato ad una successiva analisi indipendente;

e) senza pregiudizio delle norme sulla protezione delle specie animali, tutte le carni di selvaggina diverse da quelle di cinghiale, quali carni di orso, di mammiferi carnivori (compresi mammiferi marini) e rettili, devono essere sottoposte ad analisi mediante il prelievo di campioni di 10 g di muscolo dai siti di predilezione o quantitativi maggiori in caso di non disponibilità dei siti. I siti di predilezione sono i seguenti:

   i) negli orsi: diaframma, massetere e lingua;

   ii) nei trichechi: lingua;

   iii) nei coccodrilli: massetere, muscoli pterigoidei e intercostali;

   iv) negli uccelli: muscoli del capo (ad esempio massetere e muscoli del collo);

f) il tempo di digestione deve essere sufficientemente lungo da garantire la completa digestione dei tessuti di tali animali, ma non deve superare i 60 minuti.

▼B

ALLEGATO IV

CAPITOLO I

RICONOSCIMENTO UFFICIALE DI UN'AZIENDA O DI UN COMPARTO PER L'APPLICAZIONE DI CONDIZIONI DI STABULAZIONE CONTROLLATA

A. Gli operatori del settore alimentare sono tenuti a rispettare le seguenti condizioni per ottenere il riconoscimento ufficiale delle aziende:

a) l'operatore deve aver adottato tutte le precauzioni pratiche nella costruzione e nella manutenzione degli edifici per impedire ai roditori, ad altri tipi di mammiferi e agli uccelli carnivori l'accesso agli edifici nei quali sono tenuti gli animali;

b) l'operatore deve applicare un programma di lotta contro i parassiti, in particolare i roditori, in modo da prevenire l'infestazione dei suini. L'operatore deve conservare la documentazione relativa al programma richiesta dall'autorità competente;

c) l'operatore deve garantire che tutti i mangimi provengano da stabilimenti di produzione che rispettano i principi descritti nel regolamento (CE) n. 183/2005 del Parlamento europeo e del Consiglio ([1]);

d) l'operatore deve conservare i mangimi destinati a specie a rischio di *Trichine* in silos chiusi o in altri contenitori inaccessibili ai roditori. Tutti gli altri mangimi devono essere sottoposti a trattamento termico o prodotti e immagazzinati nel rispetto delle disposizioni dell'autorità competente;

e) l'operatore deve garantire che gli animali morti vengano tempestivamente raccolti, identificati e trasportati in conformità degli articoli 21 e 22 del regolamento (CE) n. 1069/2009e dell'allegato VIII del Regolamento (UE) n. 142/2011;

f) l'operatore deve informare l'autorità competente in caso di presenza di una discarica in prossimità dell'azienda. L'autorità competente valuta quindi il rischio connesso alla presenza della discarica e decide se l'azienda può essere riconosciuta per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata;

g) l'operatore deve garantire che i suini domestici siano identificati in modo che per ciascuno di essi sia possibile la tracciabilità fino all'azienda;

h) l'operatore deve garantire che siano introdotti nell'azienda soltanto suini domestici originari e provenienti da aziende ufficialmente riconosciute per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata;

([1]) Regolamento (CE) n. 183/2005 del Parlamento europeo e del Consiglio del 12 gennaio 2005 che stabilisce requisiti per l'igiene dei mangimi (GU L 35 dell'8.2.2005, pag. 1).

▼B

i) nessun suino domestico ha accesso a strutture esterne a meno che l'operatore non sia in grado di dimostrare all'autorità competente, in base ad un'analisi dei rischi, che il periodo, le strutture e le condizioni dell'accesso all'esterno non costituiscono un pericolo di introduzione di *Trichine* nell'azienda stessa;

j) nessuno dei suini da allevamento e da produzione, secondo la definizione di cui all'articolo 2, paragrafo 2, lettera c), della direttiva 64/432/CEE, è stato scaricato dopo aver lasciato l'azienda d'origine in un centro di raccolta quale definito all'articolo 2, paragrafo 2, lettera o), della direttiva 64/432/CEE, salvo che il centro di raccolta non soddisfi i requisiti di cui alle lettere da a) a i) della presente parte e tutti i suini domestici raggruppati per partite presso il centro di raccolta siano originari e provengano da aziende ufficialmente riconosciute per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata o da comparti ufficialmente riconosciuti.

B. Gli operatori del settore alimentare delle aziende ufficialmente riconosciute per l'applicazione di condizioni di stabulazione controllata informano le autorità competenti nel caso in cui le condizioni di cui al punto A non siano più rispettate o qualora siano intervenuti cambiamenti che potrebbero compromettere la qualifica dell'azienda.

C. Le autorità competenti degli Stati membri possono riconoscere un'azienda o una categoria di aziende solo a condizione di aver verificato il soddisfacimento delle condizioni di cui al punto A.

CAPITOLO II

RELAZIONE SULLA SITUAZIONE RELATIVA ALLE TRICHINE

a) Il numero di casi (importati e autoctoni) di contaminazione da Trichine nell'uomo, compresi i relativi dati epidemiologici, deve essere comunicato conformemente alla decisione 2000/96/CE.

▼M2

b) Il numero e i risultati degli esami atti ad individuare la presenza di Trichine nei suini domestici, nei cinghiali, nei solipedi, nella selvaggina e negli altri animali sensibili devono essere comunicati conformemente all'allegato IV della direttiva 2003/99/CE. I dati sugli animali domestici della specie suina devono almeno contenere informazioni specifiche in merito a:

i) esami effettuati su animali allevati in condizioni di stabulazione controllata;

ii) esami effettuati su scrofe riproduttrici, verri riproduttori e suini da ingrasso.

▼B

ALLEGATO V

Regolamento abrogato ed elenco delle sue modificazioni successive

Regolamento (CE) n. 2075/2005 della Commissione	(GU L 338 del 22.12.2005, pag. 60).
Regolamento (CE) n. 1665/2006 della Commissione	(GU L 320 del 18.11.2006, pag. 46).
Regolamento (CE) n. 1245/2007 della Commissione	(GU L 281 del 25.10.2007, pag. 19).
Regolamento di esecuzione (UE) n. 1109/2011 della Commissione	(GU L 287 del 4.11.2011, pag. 23).
Regolamento (UE) n. 216/2014 della Commissione	(GU L 69 dell'8.3.2014, pag. 85).
Regolamento di esecuzione (UE) n. 1114/2014 della Commissione	(GU L 302 del 22.10.2014, pag. 46).

▼B

ALLEGATO VI

Tavola di concordanza

Regolamento (CE) n. 2075/2005	Presente regolamento
Articoli da 1 a 5	Articoli da 1 a 5
Articolo 6, paragrafo 1, alinea	Articolo 6, paragrafo 1
Articolo 6, paragrafo 1, lettera a)	Articolo 6, paragrafo 1
Articolo 6, paragrafo 1, lettera b)	—
Articolo 6, paragrafo 2	Articolo 6, paragrafo 2
Articoli da 7 a 13	Articoli da 7 a 13
Articolo 15	Articolo 14
Articolo 16	—
—	Articolo 15
Articolo 17, primo comma	Articolo 16
Articolo 17, secondo comma	—
Allegato I, capitolo I	Allegato I, capitolo I
Allegato I, capitolo II	Allegato I, capitolo II
Allegato I, capitolo III	—
Allegati II, III e IV	Allegati II, III e IV
—	Allegato V
—	Allegato VI

▼**M2**

ALLEGATO VII

Paesi terzi che applicano le deroghe di cui all'articolo 13, paragrafo 2

Codice ISO del paese	Paese terzo o sue regioni	Osservazioni
GB	Regno Unito (*)	Applicazione delle deroghe di cui all'articolo 3, paragrafi 2 e 3

(*) A norma dell'accordo sul recesso del Regno Unito di Gran Bretagna e Irlanda del Nord dall'Unione europea e dalla Comunità europea dell'energia atomica, in particolare l'articolo 5, paragrafo 4, del protocollo su Irlanda/Irlanda del Nord, in combinato disposto con l'allegato 2 di tale protocollo, ai fini del presente allegato i riferimenti al Regno Unito non comprendono l'Irlanda del Nord.