

REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) N. 1109/2011 DELLA COMMISSIONE

del 3 novembre 2011

che modifica l'allegato I del regolamento (CE) n. 2075/2005 per quanto riguarda i metodi equivalenti per l'individuazione della presenza di *Trichine*

(Testo rilevante ai fini del SEE)

LA COMMISSIONE EUROPEA,

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

visto il regolamento (CE) n. 854/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano ⁽¹⁾, in particolare la prima parte della frase introduttiva dell'articolo 18 e i punti 8, 9 e 10 di detto articolo,

considerando quanto segue:

- (1) Il regolamento (CE) n. 2075/2005 della Commissione, del 5 dicembre 2005, che definisce norme specifiche applicabili ai controlli ufficiali relativi alla presenza di *Trichine* nelle carni ⁽²⁾, specifica i metodi di rilevamento della presenza di *Trichine* in campioni prelevati da carcasse. Il metodo di riferimento è specificato nel capitolo I dell'allegato I di tale regolamento. Nel capitolo II dell'allegato I dello stesso regolamento sono descritti tre metodi di individuazione equivalenti al metodo di riferimento.
- (2) Il regolamento (CE) n. 2075/2005, modificato dal regolamento (CE) n. 1245/2007 ⁽³⁾, consente l'utilizzo di pepsina liquida per l'individuazione di *Trichinella* nelle carni e definisce le condizioni del suo uso in qualità di reagente nei metodi di rilevamento. È pertanto opportuno prevedere, ove applicabili, prescrizioni identiche anche per i metodi di individuazione equivalenti. Si rende dunque necessario modificare di conseguenza la parte C dell'allegato I, capitolo II, del regolamento (CE) n. 2075/2005.
- (3) È iniziata inoltre la fabbricazione da parte di imprese private di nuove attrezzature per l'individuazione della presenza di *Trichine* utilizzando il metodo di digestione equivalente al metodo di riferimento. A seguito di tali sviluppi, nel corso della riunione del 16 dicembre 2008 del comitato permanente per la catena alimentare

e la salute degli animali, sono state approvate all'unanimità linee guida per la convalida di nuove attrezzature per l'individuazione della presenza di *Trichine* utilizzando il metodo di digestione.

- (4) Nel 2010 il laboratorio di riferimento dell'UE per i parassiti ha convalidato sulla base di tali linee guida una nuova attrezzatura e un nuovo metodo per l'individuazione della presenza di *Trichine* nei suini domestici.
- (5) I risultati della convalida dimostrano che la nuova attrezzatura e il connesso metodo per l'individuazione della presenza di *Trichine*, convalidati con il codice del laboratorio di riferimento dell'UE n. EURLP_D_001/2011 ⁽⁴⁾, sono equivalenti al metodo di riferimento specificato all'allegato I, capitolo I, del regolamento (CE) n. 2075/2005. Occorre pertanto includere tale metodo nell'elenco dei metodi di individuazione equivalenti elencati nell'allegato I, capitolo II, del regolamento (CE) n. 2075/2005.
- (6) Il capitolo II dell'allegato I del regolamento (CE) n. 2075/2005 va quindi modificato di conseguenza.
- (7) Le misure previste dal presente regolamento sono conformi al parere del comitato permanente per la catena alimentare e la salute degli animali,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

L'allegato I del regolamento (CE) n. 2075/2005 è modificato conformemente all'allegato del presente regolamento.

Articolo 2

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.

Fatto a Bruxelles, il 3 novembre 2011

Per la Commissione

Il presidente

José Manuel BARROSO

⁽¹⁾ GU L 139 del 30.4.2004, pag. 206.⁽²⁾ GU L 338 del 22.12.2005, pag. 60.⁽³⁾ GU L 281 del 25.10.2007, pag. 19.⁽⁴⁾ <http://www.iss.it/crlp/index.php>

ALLEGATO

L'allegato I, capitolo II, del regolamento (CE) n. 2075/2005 è così modificato:

1) nella parte C, al punto 1, la lettera f) è sostituita dalla seguente:

- «f) pepsina, concentrazione 1:10 000 NF (US National Formulary), corrispondente a 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) corrispondente a 2 000 FIP (International Pharmaceutical Federation), oppure pepsina liquida stabilizzata con una concentrazione minima di 660 unità EP (European Pharmacopoeia)/ml;»

2) è aggiunta la seguente parte D:

«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.

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 di 2-4 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 di 10-15 litri, per la raccolta del succo di digestione;
- j) agitatore a movimento giratorio tridimensionale;
- k) fogli di alluminio;
- l) acido cloridrico al 25 %;
- m) pepsina, concentrazione 1:10 000 NF (US National Formulary), corrispondente a 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) corrispondente a 2 000 FIP (International Pharmaceutical Federation), oppure pepsina liquida stabilizzata con una concentrazione minima di 660 unità EP (European Pharmacopoeia)/ml;
- n) acqua di rubinetto riscaldata alla temperatura di 46-48 °C;
- o) bilancia di precisione (almeno 0,1 g);
- 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 di 10-15 cm;
- s) fiale coniche da 15 ml;

- t) pestello in Teflon o in acciaio con punta conica conformata alle fiale coniche;
- u) termometro (precisione $\pm 0,5$ °C) per temperature comprese fra 1 °C e 100 °C;
- 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.

2. Prelievo di campioni

Secondo quanto indicato al capitolo I.2.

3. Procedura

- I. Per aggregati completi (100 g di campioni per volta) va applicata la procedura di cui ai punti da a) a i) del capitolo I.3.I. Occorre inoltre applicare la seguente procedura:
 - a) 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 nell'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;
 - b) il succo di digestione, dopo essere stato agitato, viene versato attraverso il setaccio nell'imbuto di filtrazione. Il becher è lavato con 250 ml di acqua calda. Il liquido di risciacquo deve essere versato nel dispositivo di filtrazione una volta che il succo di digestione è filtrato con successo;
 - c) 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;
 - d) la membrana è spinta sul fondo del tubo conico da 15 ml con l'aiuto del pestello e pressata con forza con movimenti successivi avanti e indietro del pestello che dovrebbe essere posizionato all'interno delle pieghe della membrana conformemente alle istruzioni del fabbricante;
 - e) con una pipetta viene aggiunto diluente nel tubo conico da 15 ml e la membrana è omogeneizzata con il pestello mediante ripetuti brevi movimenti avanti e indietro, evitando movimenti bruschi onde limitare spruzzi di liquido conformemente alle istruzioni del fabbricante;
 - f) ogni campione, il controllo negativo e il controllo positivo sono distribuiti mediante pipette in settori differenti della cartina per agglutinazione conformemente alle istruzioni del fabbricante;
 - g) 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 fintantoché l'intero settore non sia coperto da un liquido omogeneo;
 - h) la cartina è inserita nell'agitatore tridimensionale e agitata conformemente alle istruzioni del fabbricante;
 - i) trascorso il termine fissato dal fabbricante, si spegne l'agitatore, si pone la cartina su una superficie piana e si procede alla lettura dei risultati della reazione. 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;

j) tutta l'attrezzatura a contatto con la carne deve essere accuratamente decontaminata tra un test e l'altro mediante immersione per alcuni secondi in acqua calda (tra i 60 °C e i 90 °C). Le superfici su cui restano residui di carne o larve inattivate possono essere pulite con una spugna pulita e acqua corrente. Una volta terminata la procedura possono essere aggiunte alcune gocce di detergente per sgrassare l'attrezzatura. Successivamente, ogni elemento deve essere accuratamente sciacquato più volte allo scopo di rimuovere ogni traccia di detergente;

k) il pestello va accuratamente decontaminato tra un test e l'altro immergendolo per alcuni secondi in almeno 250 ml di acqua calda (tra i 60 °C e i 90 °C). I residui di carne o le larve inattivate che possono restare sulla sua superficie devono essere eliminate con una spugna pulita e acqua corrente. Una volta terminata la procedura possono essere aggiunte alcune gocce di detergente per sgrassare il pestello. Successivamente, il pestello deve essere accuratamente sciacquato più volte allo scopo di rimuovere ogni traccia di detergente.

II. Aggregati di campione di meno di 100 g come previsto al capitolo I.3.II

Per aggregati di campione di meno di 100 g va seguita la procedura di cui al capitolo I.3.II.

III. Risultati positivi o incerti

Nel caso in cui l'esame di un campione aggregato dia un esito positivo o incerto dell'agglutinazione al lattice, si preleva da ciascun suino un ulteriore campione di 20 g, conformemente a quanto disposto al punto 2, lettera a), del capitolo I. I campioni di 20 g provenienti da 5 suini vengono raggruppati ed esaminati applicando il metodo descritto al punto I. In questo modo devono essere esaminati campioni provenienti da 20 gruppi di cinque suini ciascuno.

Nel caso in cui sia ottenuta un'agglutinazione al lattice positiva da 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 applicando uno dei metodi descritti nel capitolo I.

I campioni contenenti parassiti vanno conservati in alcool etilico al 90 % 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.»
