

## PREDLOG

Na osnovu člana 9 stav 1 alineja 11 Zakona o bezbjednosti hrane („Službeni list CG“, broj 59/26), Vlada Crne Gore na sjednici od \_\_\_\_ 2026. godine donijela je

### UREDBU O UTVRĐIVANJU POSEBNIH PRAVILA SLUŽBENE KONTROLE TRIHINELE U MESU\*

#### Predmet

##### Član 1

Ovom uredbom propisuju se mjere za sprečavanje trihinele kod ljudi prilikom konzumiranja mesa domaćih svinja, divljih svinja, konja i drugih vrsta životinja koje su zaražene trihinelom, način uzorkovanja trupova i mesa domaćih i divljih svinja, konja i drugih vrsta životinja prijemčivih na trihinelu, metode za otkrivanje trihinele, određivanje statusa gazdinstva i uslovi za uvoz mesa.

#### Mjere za sprečavanje trihinele kod ljudi

##### Član 2

Pravno i fizičko lice ili preduzetnik koji proizvodi meso i proizvode od mesa porijeklom od domaćih i divljih svinja, konja, medvjeda, sisara mesojeda (uključujući morske sisare) i gmizavaca koji su prijemčivi na trihinelu (u daljem tekstu: subjekat u poslovanju hranom) može da stavlja na tržište meso i proizvode od mesa, samo ako je rezultat ispitivanja na trihinelu negativan.

#### Značenje izraza

##### Član 3

Izrazi upotrijebljeni u ovoj uredbi imaju sljedeća značenja:

- 1) **trihinela** je svaka nematoda koja pripada vrsti roda *Trichinella*;
- 2) **kontrolisani uslovi držanja** predstavljaju način uzgoja životinja u kojem se drže svinje cijelo vrijeme u uslovima koje subjekat u poslovanju hranom kontroliše u odnosu na ishranu i držanje;
- 3) **kompartment** je skup više gazdinstava koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja, a sva gazdinstva u Crnoj Gori koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja mogu se smatrati jednim kompartmentom.
- 4) **nadležni organ** je nadležni organ Uprave za bezbjednost hrane, veterinu i fitosanitarne poslove koji je odgovoran za obezbjeđivanje usaglašenosti sa zahtjevima utvrđenim ovim zakonom i propisima o hrani i koji je centralni organ i kontakt tačka sa Evropskom komisijom za oblast bezbjednosti hrane.

#### Uzorkovanja trupova

##### Član 4

- (1) Trupovi domaćih svinja uzorkuju se u klanicama kao dio post mortem pregleda na sljedeći način:

1) svi trupovi rasplodnih krmača i nerastova ili najmanje 10 % trupova životinja, koje se iz svakog gazdinstva službeno priznatog kao gazdinstvo koje primjenjuje uslove kontrolisanog držanja svake godine šalju na klanje, ispituju se na trihinelu;

2) svi trupovi iz gazdinstava koja nisu službeno priznata kao gazdinstva koja primjenjuju uslove kontrolisanog držanja, sistemski se ispituju na trihinelu.

(2) Uzorak iz stava 1 ovog člana uzima se sa svakog trupa i ispituje se na trihinelu u laboratoriji koja je određena od nadležnog organa, korišćenjem jedne od sljedećih metoda ispitivanja:

1) referentnom metodom ispitivanja datom u Poglavlju I Priloga 1; ili

2) ekvivalentnom metodom ispitivanja datom u Poglavlju II Priloga 1.

(3) Trupovi kopitara, divljih svinja i drugih vrsta životinja, uzgojenih ili divljih, prijemčivih na zarazu trihinelom moraju se sistematski uzorkovati u klanicama ili objektima za obradu i rasijecanje divljači, u sklopu post mortem pregleda.

(4) Uzorak iz stava 3 ovog člana uzima se sa svakog trupa i ispituje se u skladu sa Prilogom 1, u laboratoriji koju je odredio nadležni organ.

(5) Do dobijanja rezultata ispitivanja na trihinelu, ako je subjekat uspostavio i primjenjuje sistem koji garantuje potpunu sljedljivost trupova, subjekat u poslovanju hranom može da vrši rasijecanje trupova domaćih svinja i kopitara u najviše šest djelova u klanici ili u prostoriji za rasijecanje mesa koja se nalazi u sastavu klanice.

## **Odstupanja**

### **Član 5**

(1) Izuzetno od člana 4 st. 1 i 2 ove uredbe meso domaćih svinja koje je podvrgnuto postupku zamrzavanja u skladu sa Prilogom 2, pod nadzorom nadležnog organa izuzima se od pregleda na trihinelu.

(2) Izuzetno od člana 4 st. 1 i 2 ove uredbe trupovi i meso neodbijenih domaćih svinja koje su mlađe od pet nedjelj izuzima se od pregleda na trihinelu.

(3) Izuzetno do člana 4 stav 4 ove uredbe meso kopitara, meso divljači i druge vrste mesa koje bi mogle sadržavati parazite trihinele ispituje se u skladu sa Prilogom 3.

(4) Izuzetno od člana 4 st. 1 i 2 ove uredbe, trupovi i meso domaćih svinja mogu se izuzeti od ispitivanja na trihinelu ako životinje dolaze iz gazdinstava ili kompartmenta koja imaju službeno priznat status kontrolisanog držanja svinja u skladu sa Prilogom 4, ako:

1) u državi, u posljednje tri godine nije utvrđena nijedna autohtona invazija trihinelom kod domaćih svinja koje se drže na gazdinstvima koja su službeno priznata kao gazdinstva koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja, pod uslovom da se tokom tog perioda sprovodilo kontinuirano ispitivanje u skladu sa članom 4 ove uredbe; ili

2) na osnovu istorijskih podataka o kontinuiranom ispitivanju sprovedenom na populaciji zaklanih svinja, postoji 95% pouzdanost da prevalencija trihinele nije veća od jednog slučaja na milion u toj populaciji; ili

3) se gazdinstva koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja nalaze u Kraljevini Belgiji ili Kraljevini Danskoj.

(5) O odstupanjima iz ovog člana, obavještava se Evropska komisija i države članice Evropske unije jednom godišnje u skladu sa Prilogom 4.

(6) Izuzetno od člana 4 stav 5 ove uredbe i nakon odobrenja nadležnog organa:

1) trupovi se mogu rasjeći u prostoriji za rasijecanje mesa koja se nalazi u sastavu klanice ili je odvojeni objekt, pod uslovom:

- da je taj postupak odobrio nadležni organ;
- da se trup ili njegovi dijelovi otpremaju samo u jedan objekat za rasjecanje mesa;
- da se objekat za rasjecanje mesa nalazi na području države članice; i
- da se u slučaju pozitivnog nalaza svi dijelovi trupa proglase neprikladnim za ishranu ljudi.

2) trupovi dobijeni od domaćih svinja mogu se rasjeci na više dijelova u prostoriji za rasjecanje mesa koja se nalazi u sastavu klanice pod uslovom:

- da je taj postupak odobrio nadležni organ;
- da se rasijecanje ili otkošćavanje prije postizanja odgovarajuće temperature vrši u skladu sa posebnim propisom o higijeni hrane životinjskog porijekla;
- da se u slučaju pozitivnog nalaza svi dijelovi trupa proglase neprikladnim za ishranu ljudi.

## **Ispitivanje na trihinelu i upotreba oznake zdravstvene ispravnosti**

### **Član 6**

(1) Trupovi iz člana 4 ove uredbe ili njihovi dijelovi, osim iz člana 5 stav 4, ove uredbe ne smiju napustiti prostorije objekta prije nego što se utvrdi da je nalaz ispitivanja na trihinelu negativan a ostali dijelovi životinje namijenjeni za ishranu ljudi ili ishranu životinja, koji sadrže tkivo poprečno prugastih mišića, ne smiju napustiti prostorije objekta prije nego što se utvrdi da je rezultat ispitivanja na trihinelu negativan.

(2) Otpad životinjskog porijekla i nusproizvodi životinjskog porijekla koji nisu namijenjeni za ishranu ljudi i koji ne sadrže poprečnoprugaste mišiće mogu napustiti prostorije objekta prije nego što su poznati rezultati ispitivanja na trihinelu, međutim, nadležni organ može zahtijevati da se nusproizvodi životinjskog porijekla podvrgnu ispitivanju na trihinelu ili prethodnu obradu prije nego što se odobri njihovo iznošenje iz prostorija.

(3) Ako se u klanici primjenjuje postupak kojim je obezbijeđeno da nijedan dio pregledanih trupova neće napustiti prostorije objekta dok se ne utvrdi da je nalaz ispitivanja na trihinelu negativan i da je taj postupak službeno odobrio nadležni organ, ili ako se primjenjuje odstupanje iz člana 5 stav 4 ove uredbe, zdravstvena oznaka propisana zakonom kojim se uređuje bezbjednost hrane može se primijeniti prije nego što budu dostupni nalazi ispitivanja na trihinelu.

## **Obuka**

### **Član 7**

Nadležni organ obezbjeđuje da cjelokupno osoblje koje je uključeno u ispitivanje uzoraka za otkrivanje trihinele prođe odgovarajuću obuku i da učestvuje:

- 1) u programu kontrole kvaliteta testova koji se koriste za otkrivanje trihinele; i
- 2) u redovnoj procjeni postupaka testiranja, evidencije i analize koje se koriste u laboratoriji.

## **Metode ispitivanja**

### **Član 8**

(1) Za ispitivanje uzoraka iz člana 4 ove uredbe koriste se metode ispitivanja date u Prilogu 1 tamo gdje postoji osnova za sumnju na invaziju trihinelom.

(2) Svi se pozitivni uzorci šalju u nacionalnu referentnu laboratoriju ili u referentnu laboratoriju Europske unije, da bi se odredilo o kojoj vrsti trihinele je riječ.

## **Krizni planovi**

### **Član 9**

Nadležni organ priprema krizni plan u kojem se opisuju sve aktivnosti koje se preduzimaju kada su uzorci iz člana 4 ove uredbe pozitivni na trihinelu.

Krizni plan iz stava 1 ovog člana sadrži podatke koji uključuju:

- 1) sljedljivost invadiranog trupa, odnosno invadiranih trupova i ~~njegovih~~ dijelova trupova koji sadrže mišićno tkivo;
- 2) mjere za postupanje sa invadiranim trupom, odnosno invadiranim trupovima i ~~njegovim~~ dijelovima trupova;
- 3) istraživanje izvora invazije i mogućeg širenja na životinje koje slobodno žive u prirodi;
- 4) sve mjere koje se preduzimaju na nivou maloprodaje ili potrošača;
- 5) mjere koje treba sprovesti kada se u klanici ne može identifikovati invadirani trup;
- 6) određivanje vrsta trihinele.

## **Službeno priznati status gazdinstava koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja**

### **Član 10**

(1) Nadležni organ može službeno priznati gazdinstvo ili kompartment koji primjenjuje kontrolisane uslove držanja ako su ispunjeni zahtjevi dati u Prilogu 4.

(2) Gazdinstvo ili kompartment koji od 1. juna 2014. godine primjenjuju kontrolisane uslove držanja u Kraljevini Belgiji ili Kraljevini Danskoj u skladu sa članom 5 stav 3 tačka 3 ove uredbe smatraju se službeno priznatim kao gazdinstva ili kompartment koji primjenjuju kontrolisane uslove držanja date u Prilogu 4.

## **Obaveza izvještavanja subjekta u poslovanju hranom**

### **Član 11**

Subjekti u poslovanju hranom čija su gazdinstva službeno priznata kao gazdinstva koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja izvještavaju nadležni organ o svim promjenama koje se odnose na zahtjeve koji su dati u Prilogu 4.

## **Nadzorni pregledi gazdinstava službeno priznatih kao gazdinstva koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja**

### **Član 12**

(1) Nadležni organ obezbjeđuje sprovođenje periodičnih nadzornih pregleda gazdinstava službeno priznatih kao gazdinstva koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja.

(2) Učestalost nadzornih pregleda zasnivaju se na procjeni rizika, uzimajući u obzir istoriju bolesti i prevalenciju, prethodne nalaze, geografsko područje, prijemčivost životinjskih vrsta na tom području, način držanja životinja, veterinarski nadzor i pravilno postupanje poljoprivrednika.

(3) Nadležni organ provjerava da se domaće svinje koje dolaze iz tih gazdinstava ispituju u skladu sa članom 4 stav 1 ove uredbe.

## **Programi praćenja**

### **Član 13**

(1) Nadležni organ može sprovesti program praćenja koji obuhvata populaciju domaćih svinja koje dolaze iz gazdinstava ili kompartmenta službeno priznatog kao gazdinstvo ili kompartment koje primjenjuju kontrolisane uslove držanja kako bi se potvrdilo da trihinela nije prisutna u toj populaciji.

(2) Programom praćenja propisuje se učestalost ispitivanja, broj životinja koje se ispituju i plan uzorkovanja, i u tu svrhu uzorci mesa moraju biti prikupljeni i ispitani na prisustvo parazita trihinela u skladu sa Prilogom 1.

(3) Program praćenja može uključivati serološke metode kao dodatne metode ispitivanja, kada referentna laboratorija Evropske unije validira prikladan test.

### **Opoziv službeno priznatih statusa gazdinstava koja primjenjuju kontrolisane uslove držanja**

#### **Član 14**

(1) Ako se rezultatom nadzornih pregleda sprovedenih u skladu sa članom 12 ove uredbe utvrdi da nijesu ispunjeni zahtjevi dati u Prilogu 4, nadležni organ bez odlaganja vrši opoziv statusa službeno priznatih gazdinstava.

(2) Ako se kod domaćih svinja porijeklom sa gazdinstava koje je službeno priznato kao gazdinstvo koje primjenjuje kontrolisane uslove držanja dokaže prisustvo trihinele, nadležni organ bez odlaganja:

- 1) opoziva službeno priznati status gazdinstva;
- 2) ispituje sve domaće svinje sa tog gazdinstva pri klanju;
- 3) prati i testira sve rasplodne životinje koje dolaze na gazdinstvo i ako postoji mogućnost sve životinje koje su napustile gazdinstvo najmanje u posljednjih šest mjeseci od pozitivnog nalaza i u tu svrhu uzorci mesa moraju biti sakupljeni i ispitani na prisustvo parazita trihinela koristeći metode ispitivanja date u Prilogu 1.

- 4) ako je to potrebno, ispituje koliko god je to moguće puteve širenja invazije parazita u prometu mesa domaćih svinja zaklanih u periodu koje je prethodilo pozitivnom nalazu;

- 5) obavještava Evropsku komisiju i države članice Evropske unije;

- 6) ako je potrebno, započinje epidemiološko istraživanje kako bi otkrio uzrok zaraze;

- 7) preduzima odgovarajuće mjere kada se invadirani trup ne može identifikovati u klanici, uključujući:

- povećavanje veličine svakog uzorka mesa uzetog za ispitivanje sa sumnjivih trupova; ili
- proglašavanje trupa neprikladnim za ishranu ljudi;
- preduzimanje odgovarajućih mjera za neškodljivo uklanjanje sumnjivih trupova ili njihovih dijelova, kao i onih za koje je rezultat testa bio pozitivan.

(3) Nakon opozivanja službeno priznatog statusa gazdinstva od strane nadležnog organa, gazdinstva mogu ponovo steći taj status kada otklone utvrđene nedostatke i nadležnom organu podnesu odgovarajući dokaz da su ponovo ispunjeni svi zahtjevi dati u Prilogu 4.

(4) Ako se pregledom u gazdinstvu ili kompartmentu ustanovi neusklađenost sa članom 11 ove uredbe ili pozitivni rezultat ispitivanja, to gazdinstvo se uklanja iz kompartmenta dok se usklađenost ponovno ne ustanovi.

### **Zahtjevi zdravlja pri uvozu**

#### **Član 15**

(1) Meso koje sadrži poprečno-prugaste mišiće vrsta životinja koje mogu biti nosioci trihinele može se uvoziti u Crnu Goru samo ako je prije izvoza u treću zemlju u kojoj su životinje zaklane obavljeno ispitivanje na trihinelu u skladu sa uslovima ekvivalentnim uslovima iz člana 4 ili 5 ove uredbe.

(2) Samo treće zemlje navedene u Prilogu 5, mogu primjenjivati odstupanja predviđena članom 5 st. 2 i 4 ove uredbe i to nakon što obavijeste Evropsku komisiju o primjeni tih odstupanja.

## **Prilozi**

### **Član 16**

Prilozi 1 do 5 čine sastavni dio ove uredbe.

## **Prestanak važenja**

### **Član 17**

Danom stupanja na snagu ove uredbe prestaje da važi Uredba o mjerama za sprječavanje trihinele kod ljudi\* („Službeni list CG”, broj 32/16).

## **Stupanje na snagu**

### **Član 18**

Ova uredba stupa na snagu osmog dana od dana objavljivanja u „Službenom listu Crne Gore”.

---

\*U ovu uredbu prenijeta je Implementaciona Regulativa Komisije (EU) 2015/1375 od 10. avgusta 2015. o utvrđivanju posebnih pravila za službene kontrole trihinele u mesu; Regulativa Komisije (EU) br. 2020/1478 od 14. oktobra 2020. o izmjeni Regulative (EU) 2015/1375 u pogledu uzorkovanja, referentne metode pretraživanja i uslova uvoza u vezi sa kontrolom trihinele; Regulativa Komisije (EU) br 2021/519 od 24. marta 2021. o izmjeni Regulative (EU) 2015/1375 u pogledu ispitivanja na trihinelu kod kopitara i u pogledu izuzeća Ujedinjene Kraljevine od ispitivanja na trihinelu kod domaćih svinja; Regulativa Komisije (EU) br. 2022/1418 od 22. avgusta 2022. o izmjeni Regulative (EU) 2015/1375 u pogledu kontrole trihinele u vezi sa rasijecanjem trupova i alternativnim analitičkim metodama; Regulativa Komisije (EU) br. 2023/2156 od 17. oktobra 2023. o izmjeni Regulative (EU) 2015/1375 u pogledu određenih zahtjeva za izvještavanje za države članice koje su izuzete od testiranja mesa i trupova domaćih svinja na trihinelu u klanicama; Regulativa Komisije (EU) br. 2025/506 od 19. marta 2025. o izmjeni Priloga I. Regulativa Komisije (EU) 2015/1375 u pogledu referentne metode i odobrenja metode „lumiVAST Trichinella” kao ekvivalentne metode pretraživanja za otkrivanje trihinele u mesu domaćih svinja.

Broj:

Podgorica, 2026.godine

**Vlada Crne Gore**

**Predsjednik**  
**Mr Miloško Spajić**

**METODE ISPITIVANJA  
POGLAVLJE I**

**Referentna metoda ispitivanja**

- (1) Referentna metoda ispitivanja larvi *Trichinella* u mesu je (ISO 18743:2015/Amd1:2023).
- (2) Pravila koja se primjenjuju samo na pregled mesa domaćih svinja su sljedeća:
- a) u slučaju cijelog trupa domaće svinje, osim kod rasplodnih krmača i nerasta, uzima se uzorak mase najmanje 1g sa korijena dijafragme na prelazu mišićnog u tetivasti dio i mogu se koristiti posebna kliješta za trihinelu za uzimanje uzorka sa garantovanom tačnošću između 1,00 i 1,15 g;
  - b) u slučaju cijelih trupova rasplodnih krmača i nerasta uzima se veći uzorak, mase najmanje 2 g, sa korijena dijafragme, na prelazu mišićnog u tetivasti dio;
  - c) ukoliko ne postoje korijeni dijafragme, uzima se uzorak od 2 g sa rebarnog ili prsnog dijela dijafragme ili sa žvakaćih mišića, jezika ili trbušnih mišića domaćih svinja, osim kod rasplodnih krmača i nerasta, uzima se uzorak od 4 g iz istih tkiva rasplodnih krmača i nerasta.
  - d) za meso rasječeno na komade uzima se uzorak od najmanje 5 g poprečno-prugastog mišića sa što manje masnog tkiva, po mogućnosti što bliže kosti ili tetiva i uzorak iste veličine uzima se od mesa koje nije namijenjeno temeljnom kuvanju ili bilo kojem drugom načinu prerade nakon klanja.

## POGLAVLJE II

### Ekvivalentne metode ispitivanja

#### A. Mehanička metoda vještačke digestije zbirnog uzorka - tehnika sedimentacije

##### 1. Oprema i reagensi

- a) nož ili makaze za rezanje uzoraka;
- b) podloga razdijeljena na 50 kvadrata od kojih se u svaki može staviti uzorak od oko 2 g mesa ili druga oprema koja pruža jednaku garanciju u vezi sa sljedivošću uzoraka;
- c) uređaj za mljevenje mesa ili električna sjeckalica;
- d) mješalica tipa Stomacher lab-blender 3 500 thermo;
- e) plastične vrećice prikladne za Stomacher lab-blender;
- f) konusni separator, zapremnine 2 litre, po mogućnosti sa ugrađenim sigurnosnim teflonskim ventilima;
- g) stalci, prstenovi i stezaljke;
- h) sita spoljašnjeg prečnika 11 cm, sa mrežicom od nehrđajućeg čelika ili mediji čiji su otvori prečnika 180 µm;
- i) lijevci za držanje sita, sa unutrašnjim prečnikom koji nije manji od 12 cm;
- j) staklene menzure zapremine 100 ml;
- k) termometar sa tačnošću od 0,5 °C u rasponu od 20 do 70 °C,
- l) aparat za vibriranje, kao što je električni aparat za brijanje bez glave;
- m) sklopka koja se uključuje i isključuje u razmacima od jedne minute; trihineloskop sa vodoravnim stočićem ili binokularni mikroskop sa izvorom svjetlosti čiji se intenzitet može podešavati;
- n) petrijeve šolje prečnika 90 mm sa mrežom kvadratnih polja veličine približno 1cm ili ekvivalentna oprema za brojanje larvi parazita kao u tački 6.14. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023 ;
- o) 17,5 % hlorovodonična kiselina;
- p) pepsin sljedeće aktivnosti:
  - ako je u prahu ili granulama: 1:10.000 NF (US National Formulary) što odgovara 1:12.500 BP (British Pharmacopoeia) i 2.000 FIP (Fédération Internationale de pharmacie), ili
  - ako je tečnost: stabilizovan tečni pepsin sa najmanje 660 jedinica European Pharmacopoeia /mlMože se upotrebljavati i pepsin drugih aktivnosti pod uslovom da je konačna aktivnost u digestivnom soku ekvivalentna aktivnosti 10 g sa 1:10 000 NF, kako je propisano u tački 5.3. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023;
- q) posude zapremine 10 litara za dekontaminaciju opreme, npr. pomoću formalina kao i za sakupljanje preostale digestivne tečnosti u slučaju pozitivnog testa na uzorake;
- r) kalibrirana vaga, za vaganje uzoraka i/ili pepsina (tačnost ± 0,1 g).

##### 2. Sakupljanje uzoraka i količina za vještačku digestiju

Kako je propisano u poglavlju I i u tački 4.2. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023 (za dodatne pojedinosti vidjeti priloge A i B ove ISO norme).

### **3. Postupak**

#### **I. Mljevenje**

Ako se uzorci mesa prethodno samelju u mašini za mljevenje mesa, poboljšava se kvalitet vještačke digestije. Ako se koristi električna miješalica, ona se mora uključivati tri do četiri puta, svaki put po jednu sekundu.

#### **II. Postupak vještačke digestije**

Ovaj postupak se može sprovoditi na zbirnim uzorcima (istovremeno 100 g uzoraka) ili na uzorcima manjim od 100 g.

a) Zbirni uzorci (100 g uzoraka istovremeno):

- na uređaj Stomacher lab-blender 3 500 stavlja se dvostruka plastična vrećica, a temperatura se podesi na 40 do 41 °C;

- u unutrašnju plastičnu vrećicu ulije se jedna i po litra prethodno zagrijane vode na 40 do 41 °C;

- vodi u Stomacheru doda se 25 ml 17,5 % hlorovodične kiseline;

- tome se doda 100 uzoraka od kojih je svaki težak oko 1 g (na temperaturi od 25 do 30 °C), koji su uzeti iz pojedinačnih uzoraka u skladu sa tačkom 2;

- na kraju se doda 6 g pepsina ili 18 ml tečnog pepsina i ovakav redoslijed mora se strogo poštovati da se spriječi razgradnja pepsina;

- Stomacher zatim 25 minuta miješa sadržaj vrećice;

vii. plastična vrećica se izvadi iz Stomachera, a digestivni sok se filtrira kroz sito u laboratorijsku čašu zapremnine 3 litre;

- plastična vrećica se ispere sa oko 100 ml vode, koja se zatim upotrijebi za ispiranje sita te se na kraju doda filtratu unutar laboratorijske čaše;

- zbirnom uzorku od 100 uzoraka može se dodati do 15 pojedinačnih uzoraka i pregledati zajedno sa tim uzorcima;

b) Manji zbirni uzroci (manje od 100 uzoraka):

- na uređaj Stomacher lab-blender 3 500 stavlja se dvostruka plastična vrećica, a temperatura se podesi na 40 do 41 °C;

- digestivni sok se priprema miješanjem oko jedne i po litre vode i 25 ml 17,5 % hlorovodične kiseline pa se tome dodaje 6 g pepsina i sve se pomiješa pri temperaturi od 40 do 41 °C i ovaj se redoslijed mora strogo poštovati da bi se izbjegla razgradnja pepsina;

- od digestivnog soka se odvoji volumen koji odgovara mjeri od 15 ml po gramu uzorka (npr. za 30 uzoraka bio bi potreban volumen  $30 \times 15 \text{ ml} = 450 \text{ ml}$ ) i stavi se u unutrašnju od dvije plastične vrećice zajedno sa uzorcima mesa teškim oko 1 g (pri temperaturi od 25 do 30 °C), koji su uzeti iz svakog pojedinačnog uzorka u skladu sa tačkom 2;

- u spoljnu se vrećicu ulije voda zagrijana na oko 41 °C, tako da ukupni volumen ovih vrećica bude jedna i po litra a zatim Stomacher 25 minuta miješa sadržaj vrećice;

- plastična vrećica se izvadi iz Stomachera, a probavni sok se filtrira kroz sito u laboratorijsku čašu zapremnine 3 litre;

- plastična vrećica se ispere sa oko 100 ml vode (na 25 do 30 °C), koja se zatim upotrijebi za ispiranje sita te se na kraju doda filtratu unutar laboratorijske čaše.

#### **III. Sakupljanje larvi sedimentacijom**

— digestivnom soku se dodaje led (300 do 400 g leda u listićima ili zdrobljenog leda), tako da se njegov volumen poveća na oko 2 litre a zatim se digestivni sok miješa dok se ne otopi

led a u slučaju manjih zbirnih uzoraka (vidjeti odjeljak II.(b)) količina leda mora se proporcionalno smanjiti;

- rashlađeni digestivni sok se prenese u separator zapremine 2 litre, koji je opremljen uređajem za vibraciju u posebnoj stezaljci;
- tokom sedimentacije koja traje 30 minuta, sedimentacijski lijevak vibrira sa prekidima, tj. izmjenjuju se jedna minuta vibriranja i jedna minuta pauze;
- nakon 30 minuta, 60 ml uzorka taloga brzo se odlije u mjerni cilindar od 100 ml (lijevak se nakon upotrebe ispere rastvorom deterdženta);
- 60 ml uzorka ostavi se da odstoji 10 minuta, a zatim se površinski sloj tečnosti pažljivo izdvoji usisavanjem, tako da ostane volumen od 15 ml za pregled na prisutnost larvi;
- za usisavanje se može upotrijebiti brizgalica za jednokratnu upotrebu, opremljena plastičnom cjevčicom a dužina te cjevčice mora biti takva da, kada se krilca brizgalice postave na rub mjerenog cilindra, u cilindru ostane 15 ml;
- preostalih 15 ml uliva se u petrijevu šolju ili ekvivalentnu opremu za brojanje larvi a zatim se pregleda trihineloskopom ili binokularnim mikroskopom;
- mjerni cilindar se ispere sa 5 do 10 ml vode iz slavine i taj se ispirak doda uzorku;
- sadržaj veštačke digestije mora se pregledati čim je gotov i ni u kojem slučaju pregled ne smije se odložiti za sljedeći dan.

Kada sadržaj vještačke digestije nije bistar, mora se razbistriti na sljedeći način:

- konačni uzorak od oko 60 ml izlije se u mjerni cilindar i ostavi da odstoji 10 minuta a zatim se usisavanjem otkloni 45 ml površinskog sloja tečnosti, a preostalih 15 ml se nadopuni sa 45 ml vode iz slavine;
- nakon daljeg taloženja u trajanju od 10 minuta, 30 ml površinskog sloja tečnosti odstrani se isisavanjem, a preostalih 15 ml ulije se u petrijevu šolju ili ekvivalentnu opremu za brojanje larvi, zatim se pregleda trihineloskopom ili binokularnim mikroskopom;
- mjerni cilindar se ispere sa 10 ml vode iz slavine i taj se ispirak dodaje uzorku u petrijevoj šolji ili ekvivalentnoj opremi za brojanje larvi i pregleda se trihineloskopom ili binokularnim mikroskopom.

#### **IV. Pozitivni ili sumnjivi rezultati**

Ako se pregledom zbirnog uzorka dobije pozitivan ili neizvjestan rezultat, uzima se dodatni uzorak od 20 g od svake svinje, kako je propisano u tački 4.2. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023 (za dodatne pojedinosti vidjeti i priloge A i B ove ISO norme).

Uzorci od po 20 g od pet svinja ispituje se kao zbirni uzorak upotrebom metode opisane u ovom poglavlju. Na taj se način ispituju uzorci iz 20 grupa od po pet svinja. Kada se trihinela dokaže u zbirnom uzorku od pet svinja, uzimaju se dodatni uzorci od 20 g od svake pojedinačne svinje iz te grupe, i svaki se od njih posebno pregleda primjenom metode opisane u ovom poglavlju. Uzorci parazita moraju se držati u etil-alkoholu (konačne) koncentracije od 70–90 % radi konzervisanja i identifikacije na nivou vrste u EU-ovu ili nacionalnoj referentnoj laboratoriji. Za postupak dekontaminacije vidjeti tačku 12. norme ISO 18743: 2015/Amd1:2023.

## **B. Mehanička metoda vještačke digestije zbirnog uzorka-tehnika „izdvajanje na filteru”**

### **1. Oprema i reagensi**

Kako je određeno u dijelu A tački (1).

Dodatna oprema:

- a) Gelmanov separator zapremnine 1 litre, opremljen držačem za filter (promjer 45 mm);
- b) filterske ploče koje se sastoje od okrugle mreže izrađene od nerđajućeg čelika sa porama od 35 mikrona (promjer ploče: 45 mm), dva gumena prstena debljine 1 mm (promjer spoljnog prstena: 45 mm; promjer unutrašnjeg prstena: 38 mm), sa tim da se okrugla mreža postavi između dva gumena prstena i za njih pričvrsti upotrebom dvokomponentnog ljepila prikladnog za lijepljenje oba materijala;
- c) erlenmeyerova tikvica zapremnine 3 litre, opremljena bočnom cjevčicom za usisavanje;
- d) filterska pumpa;
- e) plastične vrećice, zapremnine najmanje 80 ml;
- f) oprema za plombiranje plastičnih vrećica;
- g) renilaza, jačine 1: 150 000 Sokslet jedinica na gram.

### **2. Sakupljanje uzoraka i količina za digestiju**

Kako je propisano u poglavlju I. i u tački 4.2. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023 (za dodatne pojedinosti vidjeti i priloge A i B ove ISO norme).

### **3. Postupak**

#### **I. Mljevenje**

Ako se uzorci mesa prethodno samelju u mašini za mljevenje mesa, poboljšava se kvalitet digestije. Ako se koristi električna miješalica, ona se mora uključivati tri do četiri puta, svaki put po jednu sekundu.

#### **II. Postupak digestije**

Ovaj se postupak može sprovoditi na zbirnim uzorcima (istovremeno 100 g uzoraka) ili na zbirnim uzorcima manjim od 100 g.

- a) zbirni uzorci (100 uzoraka istovremeno) - vidjeti dio A. 3. II. (a).
- b) manji zbirni uzorci (manje od 100 uzoraka) - vidjeti dio A. 3. II. (b).(e)

#### **III. Sakupljanje larvi filtriranjem**

a) digestivnom soku dodaje se led (300 do 400 g leda u listićima ili zdrobljenog leda), tako da se njegov volumen poveća na oko 2 litre a kada su uzorci manji, količina leda se mora proporcionalno smanjiti;

b) digestivni sok se zatim miješa dok se ne otopi led a rashlađena digestivna tečnost ostavi se najmanje tri minute da bi se larve sklopčale;

c) Gelmanov separator opremljen držačem za filter i diskom sa filterom stavlja se na Erlenmeyerovu tikvicu koja je povezana sa pumpom filtera;

d) digestivni sok ulije se u Gelmanov separator i filtrira i pred kraj filtriranja prolaz digestivnog soka kroz filter može se potpomoći primjenom usisavanja pomoću pumpe filtera. Usisavanje se mora prekinuti prije nego što filter postane suv, tj. kada u lijevku ostane 2 do 5 ml tečnosti;

e) kada je sav digestivni sok profiltriran, disk sa filterom se skida i stavlja u plastičnu vrećicu zapremnine 80 ml zajedno sa 15 do 20 ml rastvora renilaze a rastvor renilaze priprema se dodavanjem 2 g renilaze u 100 ml vode iz slavine;

- f) plastična vrećica se dva puta plombira i postavi između unutrašnje i spoljašnje vrećice Stomachera;
- g) pusti se Stomacher da usitnjava kroz tri minute, npr. dok radi na zbirnom ili nepotpunom uzorku.
- h) nakon tri minuta, plastična se vrećica zajedno sa diskom sa filterom i rastvorom ranilaze vadi iz Stomachera i otvara makazama a tečni sadržaj uliva se u petrijevu šolju ili ekvivalentnu opremu za brojanje larvi, vrećica se ispere sa 5 do 10 ml vode, koja se zatim dodaje u petrijevu šolju ili ekvivalentnu opremu za brojanje larvi i pregleda trihineloskopom ili binokularnim mikroskopom;
- i) sadržaj vještačke digestije mora se ispitati čim je gotov i ni u kom se slučaju ispitivanje ne smije odložiti za sljedeći dan.

*Napomena:* Diskovi sa filterom ne smiju se nikad koristiti ako nisu potpuno čisti i ne smije se nikad dozvoliti da se diskovi koji nisu čisti osuše. Diskovi sa filterom mogu se čistiti tako da se tokom noći ostave uronjeni u rastvor renilaze a prije upotrebe, moraju se oprati u svježem rastvoru renilaze upotrebom Stomachera.

#### **IV. Pozitivni ili sumnjivi rezultati**

Kako je utvrđeno u dijelu A tački 3 podtački IV.

### **C. Metoda automatske vještačke digestije za zbirni uzorak težak do 35 g**

#### **1. Oprema i reagensi**

- a) nož ili makaze za rezanje uzoraka;
- b) podlošci razdijeljeni na 50 kvadrata, od kojih se u svaki može staviti uzorak od oko 2 g mesa, ili druga oprema koja pruža jednake garancije u vezi sa sljedećošću uzoraka;
- c) mješalica Trichomatic 35® sa umetkom za filtriranje;
- d) hlorovodična kiselina težine  $8,5 \pm 0,5 \%$ ;
- e) providni polikarbonatni membranski filteri sa promjerom od 50 mm i veličinom pora od 14 mikrona;
- f) pepsin sljedeće aktivnosti:
  - ako je u prahu ili granulama: 1:10 000 NF (US National Formulary), što odgovara 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) i 2 000 FIP (Fédération internationale de pharmacie), ili
  - ako je tečnost: stabilizovani tečni pepsin sa najmanje 660 jedinica Evropske farmakopeje/ml; Može se upotrebljavati i pepsin drugih aktivnosti pod uslovom da je konačna aktivnost u digestivnom soku ekvivalentna aktivnosti 10 g s 1:10 000 NF, kako je propisano u tački 5.3. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023.
- g) kalibrisana vaga, za vaganje uzoraka i/ili pepsina (tačnost  $\pm 0,1$  g);
- h) pinceta sa ravnim vrhovima;
- i) više mikroskopskih stakalaca sa dužinom stranice najmanje 5 cm, ili više petrijevih šolja sa promjerom najmanje 6 cm, koji su sa donje strane zašiljenim instrumentom iscertani u kvadrate veličine  $10 \times 10$  mm;
- j) binokularni mikroskop sa izvorom svjetlosti (povećanje 15 do 60 puta) ili trihineloskop sa vodoravnom pločom;
- k) posuda za prikupljanje otpadnih tečnosti;
- l) veći broj posuda od 10 litara za dekontaminaciju opreme, npr. pomoću formalina i za preostali digestivni sok kada je test uzoraka pozitivan;
- m) termometar sa tačnošću od  $0,5^\circ\text{C}$  u rasponu od 20 do  $70^\circ\text{C}$ .

#### **2. Sakupljanje uzoraka i količina za digestiju**

Kako je propisano u poglavlju I i u tački 4.2. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023

(za dodatne pojedinosti vidjeti i priloge A i B ove ISO norme).

### **3. Postupak**

#### **I. Postupak digestije**

- a) namjestite uložak za filtriranje u miješalicu, spojite odvodnu cijev i postavite je tako da se otpad odliva u posudu za otpad;
- b) kada se miješalica uključi, započinje grijanje;
- c) prije toga treba otvoriti i zatvoriti donji ventil koji je smješten ispod reakcijske komore;
- d) tada se dodaje do 35 uzoraka od kojih je svaki težak oko 1 g (na temperaturi od 25 do 30 °C), koji su uzeti iz pojedinačnih uzoraka u skladu sa tačkom 2 i provjerite jesu li odstranjeni veći komadi tetiva, budući da oni mogu začepiti membranski filter;
- e) nalijte vodu do ruba komore za tečnost koja je spojena sa miješalicom (oko 400 ml);
- f) ulijte oko 30 ml hlorovodične kiseline (8,5 %) do ruba manje, spojene komore za tečnost;
- g) postavite membranski filter ispod grubog filtera u držač uloška filtera;
- h) na kraju se doda 7 g pepsina ili 21 ml tečnog pepsina i takav redoslijed mora se strogo poštovati da se spriječi razgradnja pepsina;
- i) zatvorite poklopac reakcijske komore i komore za tečnost;
- j) odaberite vrijeme trajanja digestije, (kratko vrijeme digestije (5 minuta) mora se postaviti za svinje u normalnoj dobi za klanje dok se za druge uzorke postavlja duže vrijeme (8 minuta));
- k) kada se uključi tipka za početak na miješalici, postupak dijeljenja i digestije počinje automatski, nakon kojeg slijedi filtriranje i nakon 10 do 13 minuta, postupak je završen i automatski se prekida;
- l) otvorite poklopac reakcijske komore nakon što ste provjerili da je komora prazna a ako je u komori ostalo pjene ili bilo kojeg drugog digestivnog soka, ponovite postupak u skladu sa dijelom V;

#### **II. Prikupljanje larvi**

- a) odstranite držač filtera i prenesite membranski filter na stakalce ili petrijevu šolju;
- b) pretražite membranski filter upotrebom binokularnog mikroskopa ili trihineloskopa;

#### **III. Čišćenje opreme**

- a) kada je rezultat pozitivan, napunite dvije trećine reakcijske komore miješalice ključalom vodom, a obična se voda iz slavine nalije u povezujuću komoru za tečnost tako da pokrije donji senzor i tada započinje automatsko čišćenje a dekontaminaciju držača filtera i svu drugu opremu, npr. upotrebom formalina;
- b) kada je posao za taj dan gotov, napunite vodom komoru za tečnost u miješalici i propustite je kroz standardni ciklus.

#### **VI. Upotreba membranskog filtera**

Svaki polikarbonatni membranski filter može se upotrijebiti najviše pet puta i filter se nakon svake upotrebe mora okrenuti i osim toga, treba ga nakon svake upotrebe provjeriti i utvrditi da nema nikakvih oštećenja zbog kojih bi bio neprikladan za dalju upotrebu.

#### **V. Metoda koja se upotrebljava kada je digestija nepotpuna i kada se ne može izvesti filtriranje**

Kada je sproveden automatski ciklus miješalice u skladu sa dijelom I., otvorite poklopac reakcijske komore i provjerite je li u komori ostalo pjene ili bilo kakve tečnosti i u tom slučaju, učinite kao što slijedi:

- a) zatvorite donji ventil ispod reakcijske komore;
- b) uklonite držač filtera i prenesite membranski filter na stakalce ili u petrijevu šolju;

- c) stavite novi membranski filter u držač filtera i pričvrstite držač filtera;
- d) komoru miješalice za tečnost napunite vodom dok se ne pokrije donji senzor;
- e) izvedite ciklus automatskog čišćenja;
- f) kada je ciklus automatskog čišćenja gotov, otvorite poklopac reakcijske komore i provjerite ima li preostale tečnosti;
- g) ako je komora prazna, izvadite držač filtera i pomoću pincete prenesite membranski filter na stakalce ili u petrijev šolju;
- h) pregledajte oba membranska filtera u skladu sa dijelom II. i ako se filteri ne mogu pregledati, ponovite cijeli postupak digestije sa dužim vremenom digestije u skladu sa dijelom I.

## **VI. Pozitivni ili sumnjivi rezultati**

Kako je utvrđeno u dijelu A tački 3. podtački IV.

### **D. Metoda vještačke digestije na magnetnoj miješalici za zbirne uzorke/„ sa izdvajanjem na filteru” i otkrivanje larvi pomoću lateks aglutinacijskog testa**

Ova metoda se smatra ekvivalentnom samo za ispitivanje mesa domaćih svinja.

#### **1. Oprema i reagensi**

- a) nož ili makaze i pincete za rezanje uzorka;
- b) podloga razdijeljeni na 50 kvadrata od kojih se u svaki može staviti uzorak od oko 2 g mesa, ili druga oprema koja pruža jednake garancije u odnosu na sljedivost uzoraka;
- c) sjeckalica sa oštrom oštricom za usitnjavanje a ako su uzorci veći od 3 g, mora se koristiti uređaj za mljevenje mesa sa otvorima veličine 2 do 4 mm ili makaze a u slučaju zamrznutog mesa ili jezika (nakon uklanjanja površinskog sloja koji se ne može svariti) potreban je uređaj za mljevenje mesa, a veličina uzorka se mora značajno povećati;
- d) magnetna miješalica sa termostatski kontroliranom pločom za zagrijavanje i štapićima za miješanje presvučenim teflonom dužine otprilike 5 cm;
- e) staklene posude zapremnine 3 litre;
- f) sita, spoljašnjeg prečnika 11 cm, s mrežicom od nehrđajućeg čelika čiji su otvori prečnika 180 mikrona;
- g) čelični uređaj za filtraciju sa filtrom pora 20 µm i čeličnim lijevkom;
- h) vakuum pumpa;
- i) metalne ili plastične posude, zapremnine 10 do 15 litara, za prikupljanje digestivnog soka;
- j) 3D klackalica;
- k) aluminijska folija;
- l) 25% hlorovodonična kiselina;
- m) Pepsin sljedeće aktivnosti:
  - ako je u prahu ili granulama: 1:10 000 NF (US National Formulary), što odgovara 1:12 500 BP (British Pharmacopoeia) i 2 000 FIP (Fédération internationale de pharmacie), ili
  - ako je tečnost: stabilizovani tečni pepsin sa najmanje 660 jedinica Evropske farmakopeje/ml. Može se upotrebljavati i pepsin drugih aktivnosti pod uslovom da je konačna aktivnost u digestivnom soku ekvivalentna aktivnosti 10 g sa 1:10 000 NF, kako je propisano u tački 5.3. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023.
- n) voda iz vodovoda zagrijana na 46 do 48 °C;
- o) kalibrisana vaga, za vaganje uzoraka i/ili pepsina (tačnost ± 0,1 g);
- p) pipete različitih zapremina (1, 10 i 25 ml), mikropipete prema uputstvu proizvođača lateks aglutinacije i pipetori;

- q) najlonski filtri sa porama od 20 mikrona sa prečnikom koji odgovara filtracijskom sistemu;
- r) plastične ili čelične pincete od 10 do 15 cm;
- s) konične posudice od 15 ml;
- t) tučak sa teflonskim ili čeličnim vrhom koji odgovara koničnoj posudici;
- u) termometar s točnošću od 0,5 °C u rasponu od 20 do 70 °C;
- v) lateks aglutinacijska karta u sklopu Trichin-L antigen test kita validovane pod oznakom br. EURLP\_D\_001/2011;
- w) pufer sa konzervansom (razrjeđivač za uzorak) u sklopu Trichin-L antigen test kita validirane pod oznakom br. EURLP\_D\_001/2011;
- x) pufer sa konzervansom (negativna kontrola) u sklopu Trichin-L antigen test kita validovane pod oznakom br. EURLP\_D\_001/2011;
- y) pufer sa dodatkom Trichinella spiralis antigena i konzervansom (pozitivna kontrola) u sklopu Trichin-L antigen test kita validovanog pod oznakom br. EURLP D 001/2011;
- z) pufer sa polistirenskim kuglicama obloženim antitijelima sa konzervansom (lateks kuglice) u sklopu Trichin-L antigen test kita validovane pod oznakom br. EURLP D 001/2011;
- aa) štapići za jednokratnu upotrebu.

## **2. Sakupljanje uzoraka i količina za digestiju**

Kako je propisano u poglavlju I i u tački 4.2. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023 (za dodatne pojedinosti vidjeti i priloge A i B ove ISO norme).

## **3. Postupak**

I. Zbirni uzorci (u ukupnoj količini od 100 g uzoraka istovremeno)

- a)  $16 \pm 0,5$  mL hlorovodične kiseline udjela od 25 % (0,2 % na kraju) dodaje se u posudu zapremine 3 litre u kojoj se nalazi 2,0 litre  $\pm$  200 mL vode iz slavine prije toga zagrijane na 46 do 48 °C; u posudu se uroni štapić za miješanje, a posuda se postavi na prethodno zagrijanu ploču i tada počinje miješanje;
- b) dodaje se  $10 \pm 1$  g pepsina u prahu (ili 30  $\pm$  3 mL tečnog pepsina);
- c) 100 do 115 g uzoraka uzetih u skladu sa tačkom 2. usitnjava se u miješalici sa 150 mL  $\pm$  15 mL prethodno zagrijanog digestivnog pufera;
- d) usitnjeno meso se prebacuje u posudu zapremine od 3 litre u kojoj se nalaze voda, pepsin i hlorovodična kiselina;
- e) nož uređaja za usitnjavanje više puta se uranja u posudu sa digestivnim sokom, a posuda u kojoj se usitnjavalo meso ispere se malom količinom digestivnog soka da bi se uklonilo svo meso koje još uz nju prijanja;
- f) posuda se pokrije aluminijskom folijom;
- g) magnetna miješalica se mora podesiti tako da tokom rada održava stalnu temperaturu od 44 do 46 °C. a tokom miješanja, digestivni sok mora se rotirati dovoljno velikom brzinom da bi se stvorio duboki vir a da ne prska iz posude;
- h) digestivni sok se miješa dok se djelovi mesa ne razgrade (oko 30 minuta) i tada se miješalica isključi, a digestivni sok izlije kroz sito u taložni lijevak a duže vrijeme digestije (najduže 60 minuta) može biti potrebno ako se vrši digestija određene vrste mesa (jezik, meso divljači itd.);
- i) postupak vještačke digestije smatra se zadovoljavajućim kada na situ ne oстане više od 5 % početne težine uzorka;
- j) najlonski filter sa otvorima od 20 mikrona stavlja se na filtracijski podupirač a čelični konični lijevak za filtraciju fiksira se na podupirač sistemom za blokiranje i čelično sito sa otvorima

- prečnika 180 mikrona stavlja se na lijevak a vakuumaska pumpa spojena je sa filtracijskim podupiračem i sa metalnom ili plastičnom posudom za skupljanje digestivnog soka;
- k) miješanje se zaustavlja i digestivni sok se kroz sito uliva u lijevak za filtraciju a posuda se ispere sa oko 250 ml tople vode a tečnost za ispiranje uliva se u posudu za filtraciju nakon što je digestivni sok uspješno filtriran;
  - l) membrana za filtraciju uzima se pincetama držeći je za rub i membrana za filtraciju presavija se najmanje četiri puta i stavlja u koničnu cjevčicu od 15 ml a odabir konične cjevčice mora se prilagoditi tučku;
  - m) membrana za filtraciju gura se na dno konične cjevčice od 15 mL pomoću tučka i snažno pritisne vršeći oko 20 uzastopnih pokreta naprijed-natrag tučkom koji bi trebalo pozicionirati u pregibe membrane za filtraciju prema uputstvu proizvođača;
  - n) pipetom se dodaje  $0,5 \text{ mL} \pm 0,01 \text{ mL}$  uzorka razrjeđivača u koničnu cjevčicu od 15 ml, a membrana za filtraciju homogenizuje se pomoću tučka uzastopnim kratkim pokretima naprijed-natrag tokom 30 sekundi, izbjegavajući nagle pokrete kako bi se ograničilo prskanje tečnosti prema uputstvu proizvođača;
  - o) svaki uzorak, negativna i pozitivna kontrola raspoređuju se pomoću pipete u razna polja kartice za aglutinaciju prema uputstvu proizvođača;
  - p) kuglice lateksa dodaju se pipetom u svako polje kartice za aglutinaciju, prema uputstvu proizvođača, a da se ne dovede u kontakt sa uzorcima i kontrolama. U svakom polju kuglice lateksa zatim se lagano miješaju štapićem za jednokratnu upotrebu dok homogena tečnost ne prekrije cijelo polje;
  - q) kartica za aglutinaciju stavlja se u trodimenzionalnu miješalicu i miješa tokom  $10 \pm 1$  minuta prema uputstvu proizvođača;
  - r) nakon proteka vremena prema uputstvu proizvođača, miješanje se zaustavlja i kartica za aglutinaciju stavlja se na ravnu ploču i rezultati reakcije čitaju se odmah prema uputstvu proizvođača i ako je uzorak pozitivan, moraju se pojaviti agregati kuglica a ako je uzorak negativan, suspenzija ostaje homogena bez agregata kuglica.

## **II. Uzorci manji od 100 g kako je utvrđeno u tački 8 norme ISO 18743:2015/Amd1:2023**

Ako je potrebno, zbirnom uzorku od 100 g može se dodati do 15 g i pregledati zajedno sa tim uzorcima u skladu sa dijelom I, a ako je uzorak veći od 15 g, mora se pregledati kao zbirni uzorak, a za uzorke do 50 g, digestivni sok i sastojci mogu se smanjiti na 1 litru vode, 8 ml hlorovodične kiseline i 5 g pepsina.

## **III. Pozitivni ili sumnjivi rezultati**

Ako se pregledom zbirnog uzorka dobije pozitivan ili neizvjestan rezultat lateks aglutinacije, uzima se dodatni uzorak od 20 g od svake svinje u skladu sa tačkom 4.2. norme ISO 18743:2015/Amd1:2023 (za dodatne pojedinosti vidjeti i priloge A i B ove ISO norme). Uzorci od po 20 g od pet svinja ispituju se kao zbirni uzorak primjenom metode opisane u dijelu I. Na taj se način moraju ispitati uzorci iz 20 grupa od po pet svinja;

Ako se od grupe od pet svinja dobije pozitivna lateks aglutinacija, uzima se dodatnih 20 uzoraka od pojedinih svinja iz grupe i svaki se pretražuje odvojeno pomoću metode opisane u dijelu I.

Ako se dobije pozitivan ili nejasan rezultat lateks aglutinacije, najmanje 20 g svinjskog mišića mora se poslati nacionalnoj referentnoj laboratoriji radi potvrde primjenom norme ISO 18743:2015/Amd1:2023 ili jedne od prethodno opisanih ekvivalentnih metoda.

Uzorci parazita moraju se držati u etil-alkoholu (konačne) koncentracije od 70–90 % radi konzerviranja i identifikacije na nivou vrste u EU-ovu ili nacionalnoj referentnoj laboratoriji.

Nakon prikupljanja parazita, pozitivne tečnosti moraju se dekontaminirati zagrijavanjem na najmanje 60 °C.

#### **IV. Postupak čišćenja i dekontaminacije nakon pozitivnog ili sumnjivog rezultata**

Ako se pretragom zbirnog ili pojedinačnog uzorka dobije pozitivan ili sumnjiv rezultat lateks aglutinacije, svi materijali u kontaktu sa mesom (posuda za miješanje i oštrica, tučak, posuda, štapić za miješanje, senzor temperature, konični lijevak za filtraciju, sito i pincete) moraju se pažljivo dekontaminirati potapanjem nekoliko sekundi u toploj vodi (65 do 90 °C) a ostaci mesa ili neaktivne larve koje mogu ostati na njihovoj površini mogu se ukloniti čistim sunđerom i vodom iz slavine i ako je potrebno, može se dodati nekoliko kapi deterdženta radi odmašćivanja opreme i preporučuje se zatim da se svaki komad opreme detaljno ispere kako bi se uklonio svaki trag deterdženta.

#### **E. Test veštačke digestije za in vitro otkrivanje larvi *Trichinella* spp. u uzorcima mesa, PrioCHECK®, Trichinella AAD Kit**

Ova se metoda smatra ekvivalentnom samo za testiranje mesa domaćih svinja.

PrioCHECK® Trichinella AAD Kit upotrebljava se u skladu sa uputstvom za upotrebu opreme pomoću lijevka za odvajanje (Lenz NS 29/32) i staklenom epruvetom od 80 ml.

#### **F. Automatizirano otkrivanje parazita *Trichinella* spp. metodom „lumi - VAST Trichinella”**

Ova se metoda smatra ekvivalentnom samo za ispitivanje mesa domaćih svinja.

Priprema uzoraka i analiza digestije se u skladu sa uputstvom proizvođača i svi uređaji koji se upotrebljavaju za ovu metodu moraju se kalibrisati i održavati u skladu sa uputstvom proizvođača. Ako je rezultat ispitivanja zbirnog uzorka pozitivan ili nejasan, uzima se dodatni uzorak od po 20 g sa korijena dijafragme ili drugog tkiva svake svinje u skladu sa Poglavljem I.

Uzorci od po 20 g uzeti od pet svinja

ispituju se kao zbirni uzorak istom metodom.

Ako se od grupe od pet svinja dobije pozitivan rezultat, uzima se dodatni uzorak od po 20 g od svake pojedine svinje iz grupe i svaki se ispituje odvojeno istom metodom.

Ako se dobije pozitivan ili nejasan rezultat, najmanje 20 g mišića svinja mora se poslati nacionalnoj referentnoj laboratoriji radi potvrde jednom od metoda opisanih u poglavlju I.

Radi konzerviranja i identifikacije vrste uzorci parazita moraju se držati u 70 do 90-postotnom etil-alkoholu u EU-ovoj ili nacionalnoj referentnoj laboratoriji.

#### **IV. Postupak čišćenja i dekontaminacije nakon pozitivnog ili sumnjivog rezultata**

Ako se pretragom zbirnog ili pojedinačnog uzorka dobije pozitivan ili sumnjiv rezultat lateks aglutinacije, svi materijali u kontaktu sa mesom (posuda za miješanje i oštrica, tučak, posuda, štapić za miješanje, senzor temperature, konični lijevak za filtraciju, sito i pincete) moraju se pažljivo dekontaminirati potapanjem nekoliko sekundi u toploj vodi (65 do 90 °C) a ostaci mesa ili neaktivne larve koje mogu ostati na njihovoj površini mogu se ukloniti čistim sunđerom i vodom iz slavine i ako je potrebno, može se dodati nekoliko kapi deterdženta radi odmašćivanja opreme i preporučuje se zatim da se svaki komad opreme detaljno ispere kako bi se uklonio svaki trag deterdženta.

**E. Test veštačke digestije za in vitro otkrivanje larvi *Trichinella* spp. u uzorcima mesa, PrioCHECK®, *Trichinella* AAD Kit**

Ova se metoda smatra ekvivalentnom samo za testiranje mesa domaćih svinja.

PrioCHECK® *Trichinella* AAD Kit upotrebljava se u skladu sa uputstvom za upotrebu opreme pomoću lijevka za odvajanje (Lenz NS 29/32) i staklenom epruvetom od 80 ml.

**F. Automatizirano otkrivanje parazita *Trichinella* spp. metodom „lumi - VAST *Trichinella*”**

Ova se metoda smatra ekvivalentnom samo za ispitivanje mesa domaćih svinja.

Priprema uzoraka i analiza digestije se u skladu sa uputstvom proizvođača i svi uređaji koji se upotrebljavaju za ovu metodu moraju se kalibrisati i održavati u skladu sa uputstvom proizvođača.

Ako je rezultat ispitivanja zbirnog uzorka pozitivan ili nejasan, uzima se dodatni uzorak od po 20 g sa korijena dijafragme ili drugog tkiva svake svinje u skladu sa Poglavljem I.

Uzorci od po 20 g uzeti od pet svinja

ispituju se kao zbirni uzorak istom metodom.

Ako se od grupe od pet svinja dobije pozitivan rezultat, uzima se dodatni uzorak od po 20 g od svake pojedine svinje iz grupe i svaki se ispituje odvojeno istom metodom.

Ako se dobije pozitivan ili nejasan rezultat, najmanje 20 g mišića svinja mora se poslati nacionalnoj referentnoj laboratoriji radi potvrde jednom od metoda opisanih u poglavlju I.

Radi konzervisanja i identifikacije vrste uzorci parazita moraju se držati u 70 do 90-postotnom etil-alkoholu u EU-ovoj ili nacionalnoj referentnoj laboratoriji.

**POSTUPCI ZAMRZAVANJA****A. Metoda zamrzavanja 1**

- a) meso koje se već dopremi zamrznuto ostavlja se u takvom stanju;
- b) tehnička oprema i napajanje rashladne prostorije energijom moraju biti takvi da obezbjeđuju vrlo brzo postizanje i održavanje potrebne temperature u svim djelovima prostorije i mesa;
- c) izolaciono pakovanje se prije zamrzavanja mora odstraniti, osim u slučajevima kada je meso u potpunosti na potrebnoj temperaturi već kad se unese u rashladnu prostoriju, ili kada je meso pakovano tako da pakovanje ne sprečava postizanje potrebne temperature u određenom vremenu;
- d) pošiljke se u rashladnoj prostoriji moraju držati odvojeno, strogo pod ključem;
- e) mora se voditi evidencija o danu i vremenu prijema svake pošiljke u rashladnu prostoriju;
- f) temperatura rashladne prostorije mora biti najmanje  $-25^{\circ}\text{C}$  i ona se mora mjeriti kalibrisanim termoelektričnim instrumentima i trajno bilježiti i ne smije se mjeriti direktno u dotoku hladnog vazduha a instrumenti se moraju držati pod ključem, a temperaturene liste moraju uključivati relevantne podatke iz zapisnika o pregledu mesa kod uvoza kao i datum i vrijeme započinjanja i završetka zamrzavanja i moraju se čuvati godinu dana računajući od datuma završetka;
- g) meso promjera ili debljine do 25 cm mora biti zamrznuto neprekidno najmanje 240 sati, a meso promjera ili debljine između 25 i 50 cm mora biti zamrznuto neprekidno najmanje 480 sati i ovaj postupak zamrzavanja ne smije se primjenjivati na meso većeg promjera ili debljine a vrijeme zamrzavanja počinje se računati od trenutka kada temperatura u rashladnoj prostoriji dostigne temperaturu navedenu u tački (f).

**B. Metoda zamrzavanja 2**

Primjenjuju se opšte odredbe navedene u tačkama od (a) do (e) dijela A (metoda 1) uz primjenu sljedećih odnosa vremena i temperature:

- a) meso promjera ili debljine do 15 cm mora biti zamrznuto u skladu sa jednom od sljedećih odnosa vremena i temperature:

- 20 dana pri  $-15^{\circ}\text{C}$ ,
- 10 dana pri  $-23^{\circ}\text{C}$ ,
- 6 dana pri  $-29^{\circ}\text{C}$ ;

- b) meso promjera ili debljine između 15 cm i 50 cm mora biti zamrznuto u skladu sa jednim od sljedećih odnosa vremena i temperature:

- 30 dana pri  $-15^{\circ}\text{C}$ ,
- 20 dana pri  $-25^{\circ}\text{C}$ ,
- 12 dana pri  $-29^{\circ}\text{C}$ .

Temperatura u rashladnoj prostoriji ne smije biti viša od nivoa odabrane temperature inaktivacije. Ona se mora mjeriti baždarenim termoelektričnim instrumentima i trajno bilježiti. Ne smije se mjeriti direktno u dotoku hladnog zraka. Ovaj se instrument mora držati pod ključem. Temperaturene liste moraju uključivati relevantne podatke iz zapisnika o pregledu mesa kod uvoza kao i datum i vrijeme započinjanja i završetka zamrzavanja i moraju se čuvati godinu dana računajući od datuma završetka. Kada se koriste tuneli za zamrzavanje, a ne slijede se dosljedno

gore opisani postupci, subjekat u poslovanju hranom mora dokazati nadležnom organu da je alternativna metoda djelotvorna za uništavanje parazita trihinela u svinjskom mesu.

### **C. Metoda zamrzavanja 3**

Postupak se sastoji od komercijalnog suvog zamrzavanja ili zamrzavanja mesa uz određene odnose vremena i temperature, sa tim da se temperatura kontroliše u središtu svakog komada mesa.

a) Primjenjuju se opšte odredbe navedene u tačkama od (a) do (e) dijela A (metoda 1) uz sljedeće odnose vremena i temperature:

- 106 sati pri – 18 °C,
- 82 sata pri – 21 °C,
- 63 sata pri – 23,5 °C,
- 48 sati pri – 26 °C,
- 35 sati pri – 29 °C,
- 22 sata pri – 32 °C,
- 8 sati pri – 35 °C,
- 1/2 sata pri – 37 °C

b) Temperatura se mora mjeriti baždarenim termoelektričnim instrumentima i trajno bilježiti a sonda termometra umetne se u sredinu odrezanog komada mesa koji ne smije biti tanji od najdebljeg komada mesa predviđenog za zamrzavanje i taj se komad mesa mora staviti na najnepovoljnije mjesto u rashladnoj prostoriji, koje nije u blizini opreme za hlađenje ili direkno u dotoku hladnog vazduha a instrumenti se moraju držati pod ključem i temperature liste moraju uključivati podatke iz zapisnika o pregledu mesa kod uvoza kao datum i vrijeme započinjanja i završetka zamrzavanja i moraju se čuvati godinu dana računajući od datuma završetka.

**ISPITIVANJE OSTALIH ŽIVOTINJA, OSIM SVINJA**

Meso kopitara, meso divljači i druge vrste mesa koje bi mogle sadržavati parazite trihinele moraju se ispitati u skladu sa jednom od metoda vještačke digestije navedenih u poglavljima I ili II Priloga I uz sljedeće promjene:

- a) uzorci težine najmanje 10 g uzimaju se iz jezičnog ili žvakaćeg mišića kopitara, a od divljih svinja iz prednje noge, jezika ili dijafragme;
- b) u slučaju kopitara ako ovi mišići nedostaju, uzima se veći uzorak mišićnog dijela dijafragme na prijelazu u tetivasti dio i ovaj mišić mora se očistiti od vezivnog i masnog tkiva;
- c) najmanje 5 g uzorka podvrgava se postupku vještačke digestije u skladu s referentnom metodom ispitivanja iz poglavlja I., ili u skladu sa ekvivalentnom metodom iz poglavlja II., a za svaku digestiju, ukupna težina mišića koji se pregleda ne smije biti veća od 100 g u slučaju metode iz poglavlja I i metoda A i B iz poglavlja II i od 35 g u slučaju metode C iz poglavlja II;
- d) kada je rezultat pozitivan, uzima se dodatnih 50 g uzorka za ponovno nezavisno ispitivanje;
- e) ne dovodeći u pitanje pravila za očuvanje životinjskih vrsta, svo meso divljih životinja, osim divljih svinja, kao što su medvjedi, sisari mesojedi (uključujući morske sisare) i gmizavci, mora se ispitati uzimanjem 10 g uzorka mišića sa predilekcionih mjesta, ili većeg uzorka ako takva mjesta nisu na raspolaganju. Predilekciona mjesta su kod:
  - medvjeda: dijafragma, mišići za žvakanje i jezik;
  - morževa: jezik;
  - krokodila: mišići za žvakanje, krilasti mišić, i međurebarni mišići;
  - ptica: mišići glave (npr. mišići za žvakanje i mišići vrata);
- f) trajanje vještačke digestije mora biti dovoljno da se obezbjedi odgovarajuća digestija tkiva ovih životinja, ali ne smije trajati duže od 60 minuta.

## POGLAVLJE I

**SLUŽBENO PRIZNANI STATUS GAZDINSTVA ILI KOMPARTMENTA KOJI  
PRIMJENJUJE KONTROLISANE USLOVE DRŽANJA****A. Subjekat u poslovanju hranom moraju ispunjavati sljedeće zahtjeve kako bi dobili službeno priznati status gazdinstva:**

- a) mora preduzeti sve mjere opreza pri izgradnji i održavanju objekta kako bi se spriječio pristup glodarima i drugim vrstama sisara, ptica i mesojeda u objekte u kojima se drže životinje;
- b) mora primjenjivati program za kontrolu štetočina, posebno glodara, na efikasan način za sprječavanje zaraženosti svinja i mora voditi evidencije o sprovođenju tog programa na način kako to zahtijeva nadležni organ;
- c) mora obezbjediti da se sva hrana za životinje nabavlja iz objekta u kojem se proizvodi hrana za životinje u skladu sa propisom kojim je uređena higijena hrane za životinje;
- d) mora hranu za životinje koja je namijenjena za vrste prijemčive na trihinelu skladištiti u zatvorenim silosima ili drugim posudama u koje ne mogu prodrijeti glodari a sva se ostala hrana za životinje mora termički obraditi ili proizvesti i skladištiti na način koji zahtijeva nadležni organ;
- e) mora obezbjediti da se uginule životinje skupe, označe i prevezu bez nepotrebnog odlaganja u skladu sa propisom kojim su uređeni zahtjevi za nus proizvode životinjskog porijekla koji nijesu namjenjeni ishrani ljudi;
- f) ako je u blizini gazdinstva smješteno odlagalište otpada, subjekat u poslovanju hranom o tome mora obavijestiti nadležni organ, i nakon toga, nadležni organ mora procijeniti rizike i odlučiti hoće li se gazdinstvo priznati kao gazdinstvo koje primjenjuje kontrolisane uslove držanja;
- g) mora obezbjediti obilježavanje svinja kako bi se omogućila sljedivost svake životinje do gazdinstva iz koga potiče;
- h) mora obezbjediti da se domaće svinje unesu na gazdinstvo samo ako potiču i dolaze iz gazdinstva koja su službeno priznata kao gazdinstva koja primjenjuju kontrolirane uslove držanja;
- i) nijedna domaća svinja nema pristup spoljnim objektima osim ako subjekt u poslovanju hranom može na osnovu analize rizika dokazati nadležnom organu da obzirom na razdoblje, objekte i okolnosti spoljnog pristupa ne postoji opasnost od unosa trihinele u gazdinstvo;
- j) nijedna svinja namijenjena za priplod i proizvodnju, nije istovarena nakon napuštanja gazdinstva porijekla u sabirni centar, osim ako sabirni centar ispunjava zahtjeve iz tač. (a) do i) i sve domaće svinje koje se razvrstavaju u pošiljke u sabirnom centru potiču i dolaze iz gazdinstava koja su službeno priznata kao gazdinstva koja primjenjuju kontrolirane uslove držanja ili iz službeno priznatih kompartmenata.

**B. Subjekat u poslovanju hranom čija su gazdinstva službeno priznata kao gazdinstva koja primjenjuju kontrolirane uslove držanja moraju obavijestiti nadležni organ ako se više ne ispunjavaju zahtjevi iz tačke A ili u slučaju druge promjene koja bi mogla uticati na status tog gazdinstva.**

**C. Nadležni organ može priznati gazdinstvo ili kategoriju gazdinstva samo ako su provjerili da su ispunjeni zahtjevi utvrđeni u tački A.**

## **POGLAVLJE II**

### **IZVJEŠTAVANJE O SITUACIJI U POGLEDU TRIHINELE**

Broj slučajeva (uvezenih ili autohtonih) trihinelozu kod ljudi, uključujući epidemiološke podatke, prijavljuje se u skladu sa Odlukom 2000/96/EZ.

Broj obavljenih testova i rezultati ispitivanja na trihinelu kod domaćih svinja, divljih svinja, kopitara, divljači i drugih životinja prijemčivih na trihinelu dostavlja se u skladu sa Prilogom IV. direktive 2003/99/EZ.

Podaci o domaćim svinjama moraju, barem, sadržati posebne informacije u vezi sa:

- testovima na životinjama uzgojenim u kontrolisanim uslovima držanja;
- testovima na rasplodnim krmačama, nerastovima i svinjama za tov.

## PRILOG 5

### Treće zemlje ili njihove regije koje primjenjuju odstupanja iz člana 15 stav 2

| ISO oznaka zemlje | Treća zemlja ili njezine regije | Napomene                                |
|-------------------|---------------------------------|-----------------------------------------|
| GB                | Ujedinjena Kraljevina (*)       | Primjena odstupanja iz člana 5 st 2 i 4 |

(\*) U skladu sa Sporazumom o povlačenju Ujedinjene Kraljevine Velike Britanije i Sjeverne Irske iz Evropske unije i Evropske zajednice za atomsku energiju, a posebno sa članom 5. stavom 4. Protokola o Irskoj/ Sjevernoj Irskoj u vezi sa Prilogom 2. tom protokolu, za potrebe ovog Priloga upućivanja na Ujedinjenu Kraljevinu ne uključuju Sjevernu Irsku.