



MONITORUL OFICIAL

AL

ROMÂNIEI

Anul 176 (XX) — Nr. 341

PARTEA I
LEGI, DECRETE, HOTĂRĂRI ȘI ALTE ACTE

Vineri, 2 mai 2008

SUMAR

<u>Nr.</u>		<u>Pagina</u>
	ACTE ALE ORGANELOR DE SPECIALITATE ALE ADMINISTRAȚIEI PUBLICE CENTRALE	
25.	— Ordin al președintelui Autorității Naționale Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor pentru aprobarea Normei sanitare veterinare privind metodologia de prelevare, prelucrare primară, ambalare și transport al probelor destinate examenelor de laborator în domeniul sănătății animalelor	2-31

ACTE ALE ORGANELOR DE SPECIALITATE ALE ADMINISTRAȚIEI PUBLICE CENTRALE

AUTORITATEA NAȚIONALĂ SANITARĂ VETERINARĂ ȘI PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR

ORDIN

pentru aprobarea Normei sanitare veterinare privind metodologia de prelevare, prelucrare primară, ambalare și transport al probelor destinate examenelor de laborator în domeniul sănătății animalelor

Văzând Referatul de aprobare nr. 18.083 din 26 februarie 2008, întocmit de Serviciul coordonare tehnică a institutelor naționale de referință și laboratoarelor sanitare veterinare și pentru siguranța alimentelor și Serviciul politici, strategii, programe și proceduri sanitare veterinare din cadrul Autorității Naționale Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor,

având în vedere prevederile art. 10 lit. b) din Ordonanța Guvernului nr. 42/2004 privind organizarea activității sanitar-veterinare și pentru siguranța alimentelor, aprobată cu modificări și completări prin Legea nr. 215/2004, cu modificările și completările ulterioare,

în temeiul art. 3 alin. (3) și al art. 4 alin. (3) din Hotărârea Guvernului nr. 130/2006 privind organizarea și funcționarea Autorității Naționale Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor și a unităților din subordinea acesteia, cu modificările și completările ulterioare,

președintele Autorității Naționale Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor emite următorul ordin:

Art. 1. — Se aprobă Norma sanitară veterinară privind metodologia de prelevare, prelucrare primară, ambalare și transport al probelor destinate examenelor de laborator în domeniul sănătății animalelor, prevăzută în anexa care face parte integrantă din prezentul ordin.

Art. 2. — Se abilitază Institutul de Diagnostic și Sănătate Animală pentru stabilirea și elaborarea modulelor privind documentele de însoțire pentru probele prelevate și trimise la laborator.

Art. 3. — Institutul de Diagnostic și Sănătate Animală și laboratoarele sanitar-veterinare și pentru siguranța alimentelor județene, respectiv al municipiului București, vor duce la îndeplinire prevederile prezentului ordin.

Art. 4. — Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor va controla modul de aplicare a prevederilor prezentului ordin.

Art. 5. — Prezentul ordin se publică în Monitorul Oficial al României, Partea I.

Președintele Autorității Naționale Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor,
Radu Roatiș Chețan

București, 19 martie 2008.
Nr. 25.

ANEXĂ

NORMĂ SANITARĂ VETERINARĂ privind metodologia de prelevare, prelucrare primară, ambalare și transport al probelor destinate examenelor de laborator în domeniul sănătății animalelor

CAPITOLUL I

Probe destinate examinării pentru encefalopatiile spongiforme transmisibile ale animalelor

A. Probe de creier în stare proaspătă

1. Aspecte procedurale

a) Pentru prelevarea, prelucrarea primară, ambalarea și etichetarea probelor de creier în stare proaspătă se folosesc truse speciale de prelevare. Situsul specific de prelevare de probe îl constituie trunchiul cerebral.

b) Prelevarea selectivă a segmentelor de trunchi cerebral din creierul rumegătoarelor mari și mici, inclusiv al celor sălbatice, aflate în stare de libertate sau în captivitate, în vederea efectuării testelor de diagnostic pentru encefalopatiile spongiforme transmisibile ale animalelor, se realizează prin tehnica *foramen magnum* sau prin prelevarea integrală a creierului.

2. Aspecte tehnice

Etichetarea, ambalarea și expedierea probelor de trunchi cerebral prelevate în laborator se realizează astfel:

a) fragmentele de trunchi cerebral prelevate se introduc într-un recipient din plastic, după care se închide capacul recipientului;

b) recipientul se etichetează corespunzător, trusele sunt însoțite de etichete autocolante, precizându-se: data tăierii, numărul din registrul de tăiere, numărul de identificare a animalului respectiv, numărul carcasei, în cazul tăierilor realizate în abatoarele autorizate;

c) recipientul etichetat se introduce în punga din plastic a trusei, care se închide etanș;

d) probele astfel etichetate și ambalate se introduc într-un container etanș, corespunzător ca volum, care asigură pe durata transportului o temperatură de refrigerare cuprinsă între 2—8°C. Contalnerul se transportă în cel mai scurt timp posibil la laboratorul sanitar-veterinar și pentru siguranța alimentelor județean, respectiv al municipiului București, sau la laboratorul de diagnostic de profil din cadrul Institutului de Diagnostic și Sănătate Animală, iar, ulterior, în caz de suspiciune, pentru expertiză sau pentru soluționarea unor diferende, probele se trimit la Laboratorul Național de Referință pentru Encefalopatiile Spongiforme ale Animalelor din cadrul Institutului de Diagnostic și Sănătate Animală;

Produs electronic destinat exclusiv informării gratuite a persoanelor fizice asupra actelor ce se publică în Monitorul Oficial al României

e) documentele sanitar-veterinare care însoțesc probele de creier prelevate pentru diagnosticul encefalopatiilor spongiforme transmisibile ale animalelor sunt următoarele:

- (i) nota de însoțire oficială, în conformitate cu prevederile legislației sanitar-veterinare în vigoare;
- (ii) tabelul cu probele de creier trimise, completat de medicul veterinar oficial abilitat pentru prelevarea, prelucrarea primară, ambalarea și expedierea probelor de creier la laborator.

B. Probe de creier sub formă de omogenat

1. Probele de creier sub formă de omogenat se etichetează pentru a se cunoaște datele de individualizare și identitate a probei și se introduc în punga de plastic a trusei, care se închide etanș. Punga se introduce într-un container etanș, corespunzător ca volum, și care asigură o temperatură scăzută pe toată durata transportului, fiind necesar un contact permanent cu gheață. Dacă este posibil, se pot utiliza congelatoare portabile.

2. Containerul se transportă în cel mai scurt timp posibil la laboratorul sanitar-veterinar și pentru siguranța alimentelor județean, respectiv al municipiului București, sau la laboratorul de diagnostic de profil din cadrul Institutului de Diagnostic și Sănătate Animală, iar, ulterior, în caz de suspiciune, pentru expertiză sau pentru soluționarea unor diferende, probele se trimit la Laboratorul Național de Referință pentru Encefalopatiile Spongiforme ale Animalelor din cadrul Institutului de Diagnostic și Sănătate Animală.

3. Documentele sanitare veterinare care însoțesc probele sunt cele prevăzute la lit. A pct. 2 lit. e).

C. Probe pentru examen histologic

1. Probele pentru examenul morfofpatologic, inclusiv pentru aplicarea metodelor citohistologice, histochemice și imunohistochemice, pot fi:

- a) cadavre ale unor specii de animale de talie mijlocie și mică ori porțiuni sau țesuturi prelevate de la cadavre de astfel de animale, proaspete sau refrigerate și ambalate corespunzător;
- b) secțiuni histologice sub formă de preparate histologice fixate, colorate/necolorate, țesuturi incluse în blocuri de parafină, ambalate corespunzător, astfel încât să se asigure integritatea preparatelor/blocurilor de parafină.

2. Documentele sanitare veterinare de însoțire a probelor sunt cele prevăzute la lit. A pct. 2 lit. e).

D. Probe pentru examen necropsic

1. Probele pentru efectuarea examenului necropsic sunt reprezentate de cadavre, porțiuni de cadavre, organe sau țesuturi, în stare proaspătă ori refrigerată.

2. Documentele sanitare veterinare de însoțire a probelor sunt cele prevăzute la lit. A pct. 2 lit. e).

E. Probe pentru expertiză medico-legală

1. Probele destinate expertizei medico-legale veterinare pentru encefalopatiile spongiforme transmisibile ale animalelor sunt reprezentate de cadavre sau porțiuni de cadavre și trebuie să fie sigilate.

2. În toate situațiile de litigiu, probele destinate expertizei medico-legale, rezultate în urma procesării speciale, se păstrează la Laboratorul Național de Referință pentru Encefalopatiile Spongiforme ale Animalelor din cadrul Institutului de Diagnostic și Sănătate Animală, conform procedurilor existente în sistemul de asigurare a calității.

3. Documentele sanitare veterinare de însoțire a probelor sunt cele prevăzute la lit. A pct. 2 lit. e).

CAPITOLUL II

Probe destinate examenului toxicologic

Tipul de probă, cantitatea și caracteristicile acesteia sunt prevăzute la pct. 4 din anexa nr. 1.

A. Probe de sânge

1. Prelevarea probelor de sânge se face prin punționarea marilor vene, după o prealabilă pregătire a locului de elecție, tundere, dezinfecție cu vată cu alcool sau tinctură de iod, în vacuainere, ca atare și pe anticoagulant.

2. Pentru exprimarea serului, probele se lasă la temperatura camerei, după care se decolează și se centrifughează, iar serul rezultat se păstrează până în momentul expedierii.

3. Probele prelevate se depozitează la temperatura de 4°C, pentru o perioadă de 24 de ore, sau la temperatura de -20°C, pentru o perioadă mai lungă de timp.

4. Probele prelevate pentru determinarea methemoglobinei se expediază la laborator în maximum o oră de la prelevare, la temperatura de refrigerare.

B. Probe de păr/lână/pene

1. Materialul prelevat se pune în ambalaje speciale din material plastic și nu se supune niciunui procedeu de spălare înainte efectuării analizelor toxicologice.

2. Probele de păr se prelevează din zona frontală sau din zona creștetului, cel prelevat din alte zone fiind mai puțin recomandat.

C. Probe de urină

Probele de urină se prelevă în recipiente cu închidere etanșă, se păstrează și se transportă la laborator la temperatura de refrigerare.

D. Probe de organe și de conținut gastric

De la fiecare animal afectat se prelevă ficat, rinichi, creier, eventual alte organe, os, precum și conținut gastric. Probele se ambalează în recipiente cu închidere etanșă și se trimit imediat la laborator la temperatura de refrigerare. Dacă probele nu pot fi transportate imediat, acestea se congelează până la expediere.

E. Probe de furaje

Furajele uscate suspiciolate a fi produs intoxicația se prelevă și se ambalează în diferite recipiente sau pungi de plastic, transportându-se la laborator la temperatura ambientală, iar furajele umede, precum borhoturile sau silozurile, se transportă la temperatura de refrigerare.

F. Probe de apă

1. Probele de apă se prelevă în recipiente de sticlă sau de material plastic, polietilenă, PTFE, PVC, PET, curate, clătite în prealabil de câteva ori cu proba de analizat, și se expediază imediat la laborator.

2. Transportul tuturor probelor prelevate se efectuează astfel încât să se asigure integritatea acestora.

3. În timpul transportului, probele trebuie menținute la temperatura de refrigerare.

4. În cazul în care analiza nu poate fi efectuată la locul de prelevare, este necesară conservarea probelor, utilizându-se agenți de conservare. Aceștia se adaugă la probă imediat după prelevare sau, în prealabil, în recipientul gol.

5. Adăugarea agenților de conservare se face sub formă de soluții relativ concentrate, astfel încât să se folosească volume reduse, ceea ce permite să se neglijeze diluarea produsă.

6. Tehnicile de conservare a probelor în funcție de parametrul care va fi determinat sunt prevăzute în următorul tabel:

Nr. crt.	Parametrul	Tehnica de conservare	Timpul de conservare recomandat
1.	pH	Răcire la o temperatură de 2—5°C	6 h
2.	Amoniac	Acidulare la 1<pH<2 Răcire la o temperatură cuprinsă între 1—5°C	21 de zile
	Nitrați — Azotați	Acidulare la 1<pH<2 cu HCl	7 zile
	Nitriți — Azotiți	Răcire la o temperatură cuprinsă între 1—5°C	24 h
	Cloruri		30 de zile
	Fosfați	Răcire la o temperatură cuprinsă între 1—5°C	30 de zile
3.	Arsen	Acidulare la 1<pH<2 cu HCl sau HNO ₃	30 de zile
4.	Sulfuri	Recipient etanș Răcire la o temperatură cuprinsă între 1—5°C	7 zile
	Sulfați	Răcire la o temperatură cuprinsă între 1—5°C	30 de zile
5.	Cianuri	Ajustare la pH > 12 cu NaOH Răcire la o temperatură cuprinsă între 1—5°C	7 zile
6.	Metale: cadmiu, cupru, plumb, zinc	Acidulare la 1<pH< 2 cu HNO ₃	30 de zile
7.	Pesticide: — organoclorurate — organofosforice	Răcire la o temperatură cuprinsă între 1—5°C	5 zile
8.	Substanțe organice oxidabile (CCO)	Acidulare la 1<pH<2 cu H ₂ SO ₄	30 de zile

7. Fiecare recipient în care s-au prelevat probe pentru examen toxicologic se etichetează, precizându-se toate datele de identificare a probei: număr, tip, specie, număr matricol și altele.

8. Cantitățile de probe necesare pentru efectuarea examenului toxicologic sunt prevăzute în următorul tabel:

Nr. crt.	Tipul probei	Cantitatea
1.	Ser	5 ml
2.	Sânge integral	5 ml pe EDTA
3.	Urină	100 ml
4.	Vomisment	—
5.	Conținut gastric	Integral sau 0,5 kg
6.	Ficat, rinichi	Integral sau 0,5 kg
7.	Creier	Integral
8.	Os lung	Integral
9.	Păr/pene/lână	15—20 g
10.	Furaje	0,5 kg
11.	Apă	minimum 1 l

9. În cazul unei suspiciuni de intoxicație se recomandă ca probele să fie trimise la laborator în cel mai scurt timp.

10. Toate probele expediate la laborator sunt însoțite de următoarele documente sanitare veterinare:

a) nota de însoțire oficială, în conformitate cu prevederile legislației sanitar-veterinare în vigoare;

b) tabelul cu probele prelevate, completat de medicul veterinar oficial abilitat pentru prelevarea, prelucrarea primară, ambalarea și expedierea probelor.

CAPITOLUL III

Probe destinate examenului parazitologic

A. Probe de materii fecale

1. Aspecte procedurale

a) Deoarece la majoritatea helminților ponta are caracter periodic, se recomandă ca prelevarea să se efectueze din mai multe emisiuni de pe parcursul a 24 de ore, dintre care în final să se obțină o probă comună;

b) Pentru bovine, bubaline, ovine și caprine, prelevarea se efectuează, pe cât posibil, individual, prin tușeu rectal, iar pentru celelalte specii prelevarea se face din emisiunile spontane din ultima parte a cantității de materii fecale proaspăt eliminate.

c) Cantitatea de materii fecale pentru speciile de animale mici — iepuri, păsări, carnasiere, feline, porcine, ovine, caprine, altele — trebuie să fie de 25—50 g, iar pentru speciile de animale mari — bovine, bubaline, cabaline și altele — aceasta trebuie să fie de circa 100—300 g. Ca regulă generală, eșantionul de materii fecale trebuie să fie reprezentativ atât sub aspect cantitativ, cât și sub aspectul modificărilor calitative, respectiv al consistenței și al culorii).

d) În ferme, probele se prelevă, de regulă, prin sondaj, între 10—15%, de la animalele cele mai slabe. De la animalele cu valoare zootehnică deosebită, probele se prelevă și se etichetează individual.

e) Atunci când se elimină spontan fragmente de paraziți sau paraziți întregi, aceștia se prelevă și se expediază împreună cu eșantioane de fecale de la animalele respective.

2. Ambalarea probelor

Ambalarea probelor de materii fecale se face în ambalaje din materiale impermeabile speciale, respectiv sticlă, metal sau material plastic, bine închise.

3. Conservarea probelor

a) Conservarea probelor după prelevare și înainte de a fi expediate la laborator se efectuează la temperatura de 4°C.

b) Conservanții reprezintă o alternativă de conservare și se adaugă în condiții deosebite.

c) Conservanții chimici care pot fi utilizați sunt următorii:

(i) lichidul fixator PAF — fenol, alcool, formol —, compus din: fenol alb cristalizat 20 g, soluție fiziologică 825 ml, alcool etilic 95 ° 125 ml, formol 50 ml;

(ii) altă soluție fixatoare cu următoarea compoziție: formol comercial 10 ml, glicerină 10 ml apă distilată 90 ml.

d) Paraziții adulți se conservă astfel:

(i) nematodele în soluție barbagallo — formol 3‰ în ser fiziologic;

(ii) cestodele și trematodele, în alcool de 70°.

4. Individualizarea probelor

a) Individualizarea recipientelor în care sunt puse probele de fecale se realizează prin marcarea acestora cu litere, cifre sau cu alte semne.

b) De regulă, pentru individualizarea unei probe se menționează identificarea animalului de la care provine aceasta, proprietarul, localitatea și data recoltării.

c) Probele sunt însoțite întotdeauna de:

- (i) o notă de însoțire oficială, în conformitate cu prevederile legislației sanitar-veterinare în vigoare;
- (ii) un tabel cu detaliile fiecărei probe: număr matricol, nume, sex, vârsta, alte detalii.

B. Probe de cadavre

1. Cadavrele de la care se prelevă probe pentru examen parazitologic trebuie să fie proaspete, nedeschise și trebuie expediate la laborator în cel mai scurt timp.

2. Ambalarea acestora se efectuează în saci de plastic de unică folosință, bine închiși.

3. În cazul animalelor mici, este recomandat ca din același efectiv să se trimită la laborator și cadavre de animale bătrâne care au prezentat simptome clinice specifice.

C. Probe de organe și țesuturi

1. Organele trebuie să fie pe cât posibil întregi, nedeschise și foarte proaspete.

2. Atunci când se trimit la laborator fragmente de organe, acestea trebuie să prezinte leziuni semnificative.

3. Ambalarea probelor de organe și țesuturi se realizează în saci sau în pungi de plastic de unică folosință și închise ermetic. Nu se adaugă conservanți sau substanțe antiseptice.

4. Transportul probelor la laborator se efectuează în recipiente izoterme, la temperaturi de refrigerare, pe tot timpul transportului.

5. Pentru probele de țesut muscular destinate examenului trichineloscopic se au în vedere anumite precauții, după cum urmează: prelevarea probelor se face în cantitate de 10—20 g din grupele musculare față de care larvele de *Trichinella spiralis* manifestă o predilecție deosebită, respectiv din pilierii diafragmatici, psoași, intercostali, abdominali și laringieni.

6. Probele sunt prelevate și ambalate individual, precizându-se pe nota de însoțire proveniența acestora, astfel încât să se evite orice posibilitate de eroare.

7. Pentru diagnosticul altor parazitoze, precum sarcocistoza, cisticercocoză, echinococoză-hidatidoză și altele, se aleg fragmente de țesuturi cu leziuni semnificative, formațiuni chistice sau alte țesuturi. Acestea sunt ambalate și identificate cu atenție, pentru a se evita orice eroare.

D. Probe de cruste, scuame, păr și pene

1. Acest tip de probe constituie material patologic pentru diagnosticul unor ectoparazitoze la mamifere și păsări.

2. Crustele și scuamele se detașează de la marginea leziunilor, prin raclare cu ajutorul unui bisturiu. Raclarea este mai mult sau mai puțin profundă, în funcție de localizarea agentului cauzal suspiciat. În cazul demodectiei, al râiei sarcoptice la mamifere sau al râiei cnemidocoptice la păsări, raclarea este făcută profund, până aproape de sângerare, deoarece agenții parazitari incriminați se localizează în straturile dermice profunde.

3. Produsele rezultate din raclare se ambalează în flacoane bine închise care să nu permită ieșirea paraziților în exterior și se expediază la laborator.

4. Perii și tije de pene se smulg din tegument cu o pensă sau manual, astfel încât să fie antrenați și foliculii piloși. Aceștia se ambalează în flacoane care asigură o bună închidere și se individualizează prin etichetare. Astfel de probe nu necesită refrigerare.

E. Probe de secreții patologice de la nivelul organelor genitale și de la avortoni

Prelevarea unor astfel de probe se efectuează după tehnici și procedee adecvate segmentelor genitale vizate, secreții vaginale, material seminal, secreții prepuțiale.

1. Prelevarea secrețiilor prepuțiale prin metoda spălării cavității prepuțiale

a) Se contenționează animalul, se efectuează toaleta regiunii genitale, se introduce tubul de cauciuc adaptat la seringă în care s-au introdus în prealabil 30—50 ml ser fiziologic în cavitatea prepuțială, se închide manual orificiul prepuțial și se injectează serul fiziologic la o temperatură apropiată de cea a animalului, se masează regiunea prepuțială astfel încât lichidul introdus să spele faldurile mucoasei, după care lichidul se aspiră și se prelevă într-un flacon steril.

b) În cazul în care în timpul manoperei masculii urinează, operațiunea se repetă.

c) Probele prelevate trebuie să ajungă la laborator în câteva ore de la prelevare.

d) Probele prelevate se individualizează prin etichetarea tubului de prelevare cu datele de identificare ale animalului și ale exploatației și, împreună cu nota de însoțire și cu tabelul de evidență a probelor, se trimit la laborator.

2. Prelevarea secrețiilor vaginale

a) Pentru prelevarea secrețiilor vaginale se folosește o ansă sterilă prevăzută cu un tampon steril îmbibat în prealabil în ser fiziologic steril, încălzit la o temperatură de 37° C. Aceasta se introduce profund în vagin până la cervix, badijonându-se bine mucoasa. Se extrage ansa, iar prin compresarea tamponului cu o pensă sterilă se prelevează materialul obținut într-un flacon steril.

b) Probele se individualizează printr-o etichetă care se atașează tubului de prelevare, pe care sunt înscrise datele de identificare ale animalului și ale exploatației și, împreună cu nota de însoțire și cu tabelul de evidență a probelor, se trimit imediat la laborator.

c) Probele de material seminal crud sunt transportate la temperatură de refrigerare în recipiente de plastic.

d) Probele de material seminal congelat sunt transportate la temperatura de -196°C, conservate în azot lichid, în paiețe.

3. Prelevarea secrețiilor patologice de la avortoni

a) Se raclează ușor membranele fetale cu ajutorul unei spatule sterile. Materialul obținut se trece într-un flacon steril în care s-a pus în prealabil ser fiziologic steril.

b) Lichidul amniotic, pericardic sau alte lichide cavitare se prelevă cu ajutorul pipetei Pasteur, în flacoane sterile cu ser fiziologic.

c) Pentru efectuarea examenelor de laborator, avortonii sunt trimiși la laborator întregi, ambalați în saci de plastic și în condiții de refrigerare.

d) Probele sunt identificate individual și, împreună cu nota de însoțire și cu tabelul de evidență a acestora, se trimit la laborator.

F. Probe de lichide patologice

1. Lichidele patologice destinate examenului de laborator constau în lichid cefalorahidian, pericardic, pleural, ascitic, de edem sau alte lichide.

2. Prelevarea se realizează în condiții de asepsie perfectă, folosindu-se instrumentar și recipiente sterile.

3. Se recomandă efectuarea examenului direct, cât mai repede posibil după prelevare. În caz contrar, se folosește conservarea la temperaturi de -10°C.

4. Transportul se efectuează în recipiente izoterme.

5. Lichidul cefalorahidian este prelevat utilizându-se substanțe anticoagulante.

6. Probele se individualizează printr-o etichetă care se atașează recipientului de prelevare, pe care sunt înscrise datele de identificare ale animalului și ale exploatației și, împreună cu nota de însoțire și cu tabelul de evidență a probelor, se trimit la laborator.

G. Probe de secreții patologice din cavitatea buco-faringiană

1. Prelevarea se efectuează cu ajutorul unor tampoane sterile îmbibate în soluție fiziologică caldă și sterilă sau prin raclare ușoară cu o spatulă fină.

2. Se lucrează aseptice, astfel încât materialul prelevat să poată fi, după caz, cultivat pe medii specifice.

3. Ambalarea probelor prelevate se realizează în recipiente sterile.

H. Probe de secreții lacrimale sau nazale

1. Secrețiile lacrimare sau nazale se prelevă direct în eprubete, atunci când sunt în cantități mari, sau cu ajutorul unor tampoane sterile fixate pe baghete, când sunt în cantități mici. Tampoanele sunt în prealabil îmbibate cu soluție fiziologică sterilă.

2. Recipientele de prelevare trebuie să fie sterile.

3. Prelevarea secrețiilor lacrimale sau nazale din tampoane se face în recipiente curate și sterile, prin presarea acestora cu ajutorul unei pense sterile.

4. Secrețiile conjunctivale pot fi obținute atât prin raclarea atentă și delicată a mucoasei conjunctivale, cât și prin acupunctură.

5. Pentru prelevarea acestora se utilizează instrumentar și recipiente sterile.

6. Conservarea probelor prelevate se realizează la temperatura de 4°C, pentru proba ca atare, sau se utilizează numai sedimentul obținut prin centrifugare.

I. Probe de lapte și colostru

1. Probele de lapte și colostru se examinează în caz de suspiciune a toxoplasmozei sau a prezenței unor larve de nematode *Strongyloides spp.*

2. Probele se prelevă în tuburi din plastic cu dop fix, sterile și individualizate, și se transportă la laborator în cel mai scurt timp, la temperatura de refrigerare.

J. Probe de urină

1. Probele de urină se pot preleva în timpul emisiilor urinare spontane sau prin cateterism, folosindu-se instrumentar și recipiente sterile. Probele se pot conserva ca atare la temperatura 4°C sau se utilizează numai sedimentul obținut prin centrifugare

2. Probele de urină trebuie să ajungă la laborator în cel mult câteva ore de la prelevare.

K. Probe de sânge

1. Probele de sânge sunt prelevate cantitativ, astfel:

a) pe 2 ml EDTA;

b) pe 50 ml din orice substanță anticoagulantă, în recipiente, utilizându-se pentru efectuarea de frotiuri sau a altor preparate.

2. Prelevarea probelor de sânge se face în funcție de parazitul suspiciat, de preferință la amiază.

3. Pentru cantități mici de sânge, se prelevă prima picătură obținută prin puncția cu acul steril al pielii dezinfectate sau prin secționarea ușoară a acesteia, după cum urmează: la nivelul urechii, pentru speciile de animale mici — câine, pisică, iepure —, la nivelul bărbitei, crestei sau zonei axilare, pentru păsări, la nivelul buzei, la cal, la vârful cozii, pentru șoareci și șobolani.

4. Pentru prelevarea unei cantități mari de sânge se recomandă zonele de elecție prevăzute de următorul tabel:

Nr. crt.	Specia	Locul de elecție
1.	Cabaline	Vena jugulară
2.	Bovine	Vena jugulară, vena mamară, excepțional vena coccigiană
3.	Ovine, caprine	Vena jugulară, vena safenă
4.	Porcine	Vena cavă anterioară
5.	Canide	Venele safenă, jugulară și/sau cefalică
6.	Feline	Venele cefalică și/sau jugulară
7.	Păsări	Vena subclaviculară

5. Prelevarea probelor de la șobolani și șoareci se poate efectua din sinusul orbital, iar de la iepuri și păsări, prin punctia cordului.

6. Pentru preîntâmpinarea hemolizei, instrumentarul și recipientele de prelevare trebuie să fie curate și uscate.

7. În momentul recoltării, sângele trebuie să se scurgă direct pe pereții recipientului, pentru a se evita formarea spumei.

8. Pentru exprimarea serului, probele se mențin la temperatura camerei.

9. Serul și plasma pot fi păstrate la o temperatură de 4°C, maximum 5 zile.

10. Ca substanță anticoagulantă se pot folosi următoarele substanțe: oxalați, citrat de sodiu, heparină, EDTA, acesta din urmă fiind recomandat pentru examenul parazitologic, folosindu-se 1-2 mg pentru fiecare mililitru de sânge prelevat.

11. Transportul probelor la laborator este efectuat cât mai urgent posibil, în condiții de refrigerare.

12. Sângele prelevat pe substanță anticoagulantă poate fi păstrat o perioadă scurtă de timp, la o temperatură de 4°C.

13. La expedierea probelor de sânge la laborator, în scopul identificării acestora, se anexează la nota de însoțire tabele de identificare corespunzătoare.

L. Probe de acarieni și insecte

1. Prelevarea ixodidelor

a) Ixodidele se prelevă direct de pe animale, pe tot parcursul anului, îndeosebi primăvara și toamna.

b) Desprinderea ixodidelor de pe animale se realizează cu ajutorul unei pene sau folosindu-se un tampon de vată îmbibat în eter, cloroform, acetonă ori benzină. Utilizarea acestor substanțe ajută la desprinderea completă a căpușelor de pe animale, inclusiv de la nivelul aparatului bucal.

c) Conservarea ixodidelor pline cu sânge se realizează în formol 10% în apă distilată, apă obișnuită sau în alcool 50% în apă distilată.

d) Transportul ixodidelor la laborator se realizează în tub de sticlă, cu o lungime de 10-11 cm și cu diametrul de 1,5 cm. În tub se pune apă obișnuită, mai puțin de jumătate din volumul acestuia (5—8 cm³). Se introduce apoi în tub un tampon de vată hidrofila care se împinge cu o baghetă de sticlă până la contactul cu apa, fără a se lăsa să se formeze bule de aer. Când vata s-a umezit prin capilaritate, se introduce un al doilea tampon de vată care se împinge până îl atinge pe primul, pentru a se îmbiba și acesta prin capilaritate. Tamponele sunt fixe pe tub, pentru a se evita scurgerea apei. Deasupra ultimului strat de vată se pune un strat de tifon, 6x6 cm, peste care se introduc căpușele, iar tubul se astupă cu un dop de vată. Se pun tuburile într-o cutie de carton sau de plastic și se trimit la laborator. Căpușele pot supraviețui 5 luni în aceste condiții.

e) Tuburile se etichetează, iar pe etichetă se înscriu data, identificarea gazdei, locul de unde au fost colectate de pe gazdă, localitatea și județul. Probele sunt însoțite de următoarele:

- (i) o notă în care se înscriu datele clinice și epidemiologice;
- (ii) un tabel cu individualizarea probelor, atunci când sunt prelevate mai multe probe.

2. Prelevarea culicidelor

a) Prelevarea larvelor și pupelor de culicide

- (i) Pentru prelevarea larvelor și pupelor de culicide din mediul semiacvatic sau umed — zona de pădure — se folosește pâlnia Berlese. Pentru ușurarea recoltării larvelor și pupelor de culicide din mediul acvatic, se adaugă în apă zahăr sau sare, această tehnică folosindu-se de obicei doar pentru speciile de *Culicoides* ale căror larve nu înoată sau ale căror pupe nu plutesc la suprafața apei. Pentru celelalte specii prelevarea larvelor sau a pupelor de culicide se poate realiza cu pensa.
- (ii) Prelevarea pupelor din mediul acvatic se poate realiza urmărindu-se marginile heleșteelor, lacurilor sau ale râurilor.

b) Prelevarea adulților de culicide

- (i) Pentru colectarea adulților de culicide se folosesc capcane luminoase cu CO₂ sau plase;
- (ii) Pentru capturarea insectelor cu ajutorul capcanelor trebuie să se cunoască: zonele propice de montare a capcanelor, cum sunt: locurile cu umiditate relativ mare, situate la distanțe mici de marginea unei păduri, locurile dintre zonele populate și cele nelocuite, zonele rezidențiale sau zonele de recreere, situate la 2-3 m distanță de o clădire ori suspendate la 1,5-2 m deasupra pământului, precum și zonele unde nu se montează capcanele, cum sunt: deasupra apei, direct pe pământ, în apropierea zonelor cu lumină artificială, lângă grajduri de animale, în zone expuse la fum ori în zone cu smog industrial;
- (iii) programul de funcționare a capcanelor luminoase este: instalarea acestora timp de 1—7 nopți pe săptămână, aprinzându-se seara și oprindu-se dimineața, iar colectarea insectelor se face timp de 4 săptămâni.

c) Conservarea larvelor, pupelor și adulților de culicide

Pentru conservarea larvelor, pupelor și adulților de culicide se utilizează alcoolul în concentrație de 70%. Există și alte metode mai complexe de conservare atât a larvelor, pupelor, cât și a adulților, însă acestea se pot folosi numai în cazul în care se fac studii de taxonomie. De asemenea, larvele, pupele și adulții de culicide se conservă foarte bine în alcool 70%, deși

concentrația poate fi mărită progresiv putând să se ajungă până la 100% alcool etilic saturat cu fenol. Soluția obținută se lasă în repaus peste noapte sau chiar mai mult.

d) Ambalarea tuburilor cu insecte pentru a fi transportate la laborator

- (i) Pentru ambalarea tuburilor cu insecte se pot folosi tuburi, criotuburi prevăzute cu dop sau tuburi mai mari, în care s-a pus în prealabil, în jumătate din tub, soluție conservantă — alcool 70%, apoi se pun câte 4-5 larve, pupe sau adulți de culicide, iar tuburile se închid pentru a se evita scurgerea soluției conservante.
- (ii) Pe tub se lipește o etichetă cu data, localitatea și județul de unde au fost prelevate probele, iar pe lângă nota de însoțire a probelor, eventual, se trimite un tabel, dacă sunt mai multe probe, și o notă, în care se specifică: locul de unde au fost prelevate probele, tipul de sol din zonă, temperatura mediului ambiant în momentul recoltării, condițiile climaterice, gradul de umiditate, viteza vântului, presiunea atmosferică, dacă zona este locuită sau nu, ce specii de animale populează zona și care este poziția geografică a localității în cadrul județului și al țării.

M. Probe de la gasteropode — gazde intermediare pentru geohelminți

Gasteropodele se pot preleva în toate anotimpurile. Cu toate acestea, trebuie să se țină cont de biotopii regiunii în care urmează să se efectueze cercetările.

1. Gasteropode acvatice

a) Gasteropodele acvatice se prelevă fie cu ajutorul unui fileu folosit pentru insecte, fie cu o sită. Fileul se mișcă în apă de câteva ori stânga-dreapta, la diferite adâncimi de la suprafața plantelor acvatice, până la fundul mâlos.

b) Materialul colectat în fileu se spală de câteva ori, afundându-se în apă pentru îndepărtarea mâlului. Acest material se pune apoi într-o sită cu ochiuri mai mari și se spală bine pentru a se îndepărta toate resturile, astfel încât să rămână numai melcii.

2. Gasteropode terestre

a) Gasteropodele terestre se prelevă, în general, după ploile calde de vară și chiar de primăvară, când acestea ies din locurile în care stau retrase. Alte gasteropode care stau sub frunzare sau sub bușteni se prelevă tot timpul anului fie cu mâna, fie cu pensa, punându-se direct în tuburile de sticlă, în cutiile de carton sau de plastic.

b) Gasteropodele terestre care trăiesc pe pajiști se colectează cu fileul de insecte, îndeosebi dimineața.

c) Transportul materialului biologic prelevat din teren se face în tuburi, cutii de carton, de plastic sau din tablă, cu posibilitate de aerisire, dar și în săculeți de pânză sau de plastic.

d) De regulă, limacidele și helicidele se transportă în cutii cu site de aerisire. În interiorul acestora se pun frunze, iarbă sau mușchi, care să mențină umiditatea.

e) În laborator, gasteropodele se pot menține vii în acvarii sau terarii.

f) O probă de gasteropode poate fi reprezentată fie de un exemplar, fie de mai multe exemplare care au fost colectate din același loc.

g) Toate probele prelevate se etichetează imediat. Eticheta conține data și locul de unde s-au prelevat probele.

h) Probele se transportă la laborator, împreună cu nota de însoțire, la temperaturi de refrigerare.

N. Probe de oribatide, acarieni de pășune — gazde intermediare pentru geohelminți

1. Oribatidele se colectează în perioada aprilie—noiembrie.

2. Exemplarele de acarieni se prelevă în borcane cu capac, prevăzute cu un tampon de vată îmbibat cu cloroform sau acetonă, lăsându-se în contact cu acest tampon minimum 24 de ore. Proba conține minimum 4-5 exemplare de oribatide.

3. După colectarea acarienilor, borcanul se închide ermetic, se înscrie pe eticheta care se lipește pe borcan data și locul prelevării probei, după care se transportă la laborator.

4. Probele se transportă la laborator, împreună cu nota de însoțire, la temperaturi de refrigerare.

O. Probe de odonate, libelule — gazde intermediare pentru geohelminți

1. Libelulele adulte se colectează cu plase special amenajate, se introduc în borcane cu dop filetat în care s-a introdus, în prealabil, un tampon de vată îmbibat cu cloroform sau acetonă și se lasă în contact cu insectele minimum 24 de ore.

2. Este recomandabil să se colecteze minimum 4-5 exemplare de libelule.

3. Pe eticheta atașată la borcan se înscrie data și locul de colectare a exemplarelor de libelule, după care borcanul se transportă la laborator.

4. Probele se transportă la laborator, împreună cu nota de însoțire, la temperaturi de refrigerare.

P. Probe de muscide — gazde intermediare pentru geohelminți

1. Se colectează minimum 5 exemplare de muscide din zonele pășunabile, cu ajutorul unor plase. Acestea se introduc în pahare cu dop filetat, prevăzute cu un tampon de vată îmbibat cu cloroform sau acetonă, cu care se lasă în contact minimum 24 de ore.

2. Proba de muscide poate fi reprezentată de un exemplar de insectă sau de mai multe insecte ce au fost prelevate din același loc.

3. Pe eticheta atașată la pahar se înscrie data și locul de prelevare a exemplarelor de muscide, specificându-se speciile de animale din zonă.

4. Probele etichetate și bine ambalate se transportă la laborator.

5. Probele se transportă la laborator, împreună cu nota de însoțire, la temperaturi de refrigerare.

Q. Probe de formicide — gazde intermediare pentru geohelminți

1. Furnicile se colectează fie direct din furnicar, fie se prelevă fire de iarbă pe care sunt prinse furnici.

2. Este recomandabil să se preleve minimum 10 exemplare de furnici.

3. Probele de furnici se introduc în pahare de dimensiuni corespunzătoare, în care s-a introdus, în prealabil, un tampon de vată îmbibat în cloroform sau acetonă, lăsându-se în contact cu insectele minimum 24 de ore.

4. Eticheta atașată de pahar se completează, conform celor prevăzute în nota de însoțire, cu data și locul de colectare a furnicilor, după care probele se transportă la laborator.

5. Probele se transportă la laborator, împreună cu nota de însoțire, la temperaturi de refrigerare.

R. Probe de coleoptere — gazde intermediare pentru geohelminți

1. Coleopterele se colectează direct cu mâna sau cu o plasă special amenajată, din zonele pe care acestea le frecventează: în apropierea materiilor fecale proaspete provenite de la ovine, bovine și cabaline.

2. Se recomandă prelevarea acestor insecte pe vreme umedă, întunecoasă sau, în orice caz, dimineața.

3. După prelevare, probele se introduc în pahare cu capac filetat în care s-a introdus, în prealabil, un tampon de vată îmbibat în cloroform sau acetonă. Se închide ermetic paharul și se lasă în contact cu insectele 24 de ore.

4. O probă poate fi reprezentată de unul sau mai multe exemplare de coleoptere care au fost prelevate din același loc.

5. Pe eticheta atașată la pahar se înscriu data și locul de prelevare a exemplarelor de coleoptere, după care se transportă la laborator.

6. Probele se transportă la laborator, împreună cu nota de însoțire, la temperaturi de refrigerare.

S. Probe de lumbricide — gazde intermediare pentru geohelminți

1. Lumbricidele, râmele sau viermii terestri se prelevă prin dragare. Acestea se prelevă îndeosebi din locurile cu pământ gras, din bălegar, din grădini și de pe câmpie.

2. Timpul optim de prelevare este noaptea și mai ales după ploaie, când acestea sunt în număr foarte mare.

3. Lumbricidele pot fi prelevate majoritatea anului, din toate zonele țării, dar nu iarna.

4. După prelevare, râmele se introduc în borcane prevăzute cu dop filetat, în care s-a pus, în prealabil, fie alcool 5—10%, fie formol 5% pentru anestezie, iar conservarea lor se poate realiza în alcool 70% sau formol 5%.

5. Râmele se introduc timp de o lună într-un vas plin cu apă cu cloroform, care se acoperă cu o placă de sticlă — o parte cloroform la 100 părți de apă, care se amestecă bine.

6. Pe eticheta atașată de borcan se înscriu data și locul de colectare a materialului biologic, iar ulterior se transportă la laborator.

7. Toate probele expediate la laborator sunt însoțite de următoarele documente de identificare:

a) o notă de însoțire oficială, în conformitate cu prevederile legislației sanitar-veterinare în vigoare;

b) un tabel cu probele prelevate, completat de medicul veterinar oficial abilitat pentru prelevarea, prelucrarea primară, ambalarea și expedierea probelor.

CAPITOLUL IV

Probe destinate examenelor de biologie moleculară

A. Probe de organe sau țesuturi

1. Prelevarea probelor de organe și țesuturi

a) Probele de organe și țesuturi se prelevă în mod steril, folosindu-se instrumentar sterilizat, echipament de protecție, mănuși și consumabile de unică folosință — pensă, bisturiu sau lame de bisturiu, foarfece.

b) Se prelevă probe de la nivelul organelor și țesuturilor sau se prelevă organe întregi de elecție pentru afecțiunea suspionată, din zona afectată și din zonele periferice modificărilor decelate, iar acolo unde este cazul, fragmentele de organe și țesuturile sau organele întregi sunt însoțite și de probe de secreții/excreții normale și patologice.

c) Fragmentele de organ provenite din alte secții ale laboratorului se prelevă în hotă cu flux laminar de clasa II, în plăci Petri sterile de unică folosință, cu instrumentar steril de unică folosință — pense, foarfece, lame de bisturiu, mănuși.

2. Ambalarea probelor de organe și țesuturi

a) Deoarece cantitățile necesare analizelor de biologie moleculară sunt reduse, se recomandă prelevarea organelor sau fragmentelor de organe individual, în tuburi sterile de tip Falcon/Eppendorf, atestate prin certificate de calitate emise de producător, pentru a fi libere de DN-aze și RN-aze, sau în pungi de biohazard, sistemul pungă în pungă.

b) După ambalarea individuală, toate organele provenite de la un animal se comasează în două pungi de biohazard, sistemul pungă în pungă, iar aceste pungi se plasează într-o cutie biohazard închisă ermetic.

c) Alternativ, pentru probele provenite de la alte servicii ale laboratorului, se pot utiliza plăci Petri sterile, ambalate individual în pungi de plastic și transportate la laborator într-o cutie biohazard.

3. Identificarea probelor de organe și țesuturi

a) Identificarea fiecărei probe se realizează pe baza numărului care se regăsește în nota de însoțire a probei și în tabelul nominal anexat acesteia.

b) Probele provenite de la alte servicii ale laboratorului trebuie însoțite, pe lângă nota de însoțire menționată la lit. a), și de o notă internă care este o înregistrare specifică fiecărui serviciu.

4. Transportul probelor de organe și țesuturi

a) Probele de organe și de țesuturi se transportă către laborator în recipiente închise, refrigerate sau pe gheață uscată, la temperaturi de refrigerare.

b) În situația în care perioada de timp dintre momentul prelevării și cel al sosirii în laborator nu depășește 4-5 ore, probele se transportă la temperatura prevăzută la lit. a), iar dacă perioada de timp depășește intervalul menționat anterior, probele se conservă și se transportă la temperaturi de congelare.

B. Probe de sânge integral prelevat în recipient cu substanță anticoagulantă (EDTA)

1. Prelevarea probelor de sânge

a) Prelevarea probelor de sânge integral se face în condiții speciale, cu sistem vacutainer ce conține EDTA ca anticoagulant. Tubul și acul de prelevare sunt utilizate individual, pentru fiecare animal. Nu este recomandată prelevarea pe alte tipuri de substanță anticoagulantă — heparină, deoarece aceasta inhibă reacțiile enzimice ulterioare.

b) După prelevare, sângele se omogenizează foarte bine cu EDTA, pentru prevenirea coagulării parțiale sau totale.

c) Se ține cont de măsurile generale referitoare la prelevarea materialului biologic ce implică evitarea contaminării probelor și a părții exterioare a tuburilor cu materii organice, inclusiv a sângelui animalului de la care s-a realizat prelevarea.

2. Ambalarea probelor de sânge integral

Ambalarea probelor de sânge integral se face în suporturi dedicate — suport tuburi vacutainer, cu respectarea ordinii din tabelul de prelevare.

3. Identificarea probelor de sânge integral

a) Identificarea fiecărei probe de sânge integral se realizează cu ajutorul numărului de crotalie a animalului de la care se prelevă proba, număr care se regăsește și în tabelul nominal anexat la nota de însoțire a probelor. Pentru ușurință, numărul de pe tubul de prelevare poate fi cel atribuit numărului curent din tabelul nominal anexat la nota de însoțire a probelor.

b) La nota de însoțire se înscriu atât data, cât și ora prelevării, pentru a se putea adopta o tehnică adecvată de extracție a ADN-ului genomic.

4. Transportul probelor de sânge integral

a) Transportul probelor de sânge integral la laborator se face într-un timp cât mai scurt, pentru a fi posibilă extracția în condiții optime a ADN-ului genomic, la temperaturi de refrigerare.

b) După prelevare, probele se păstrează în condiții de refrigerare, la o temperatură cuprinsă între 2—8°C, pentru maximum 12 ore până la procesarea acestora. Acest interval cuprinde inclusiv timpul necesar pentru transportul probelor către laborator.

c) Dacă intervalul de timp este mai mare de 12 ore, probele se păstrează la temperaturi de congelare, până la procesarea acestora, inclusiv intervalul de timp necesar pentru transportul probelor către laborator.

C. Probe de supernatant/omogenat

1. Prelevarea probelor

Probele de supernatant/omogenat provenite din incinta de înaltă biosecuritate se prelevă în conformitate cu normele specifice de biosecuritate. Prelevarea se va face în hota cu flux laminar clasa II.

2. Ambalarea probelor

a) Probele de supernatant/omogenat provenite din incinta de înaltă biosecuritate se ambalează respectându-se normele specifice de biosecuritate.

b) Tuburile Eppendorf de 1,5 ml se ambalează într-o cutie specială, prevăzută cu capac și cu orificii de scurgere.

c) Atât tuburile, cât și cutia de transport de tip biohazard sunt sigilate cu parafilm.

3. Identificarea probelor

Identificarea probelor se face pe baza notei interne, care este o înregistrare specifică fiecărui serviciu.

4. Transportul probelor

Probele de supernatant/omogenat provenite din incinta de înaltă biosecuritate se transportă respectându-se normele de biosecuritate care se impun.

D. Probe de culturi bacteriene sau virale

1. Prelevarea probelor

Culturile bacteriene sau virale se prelevă în tuburi Eppendorf de 1,5 ml sterile, în hotă cu flux laminar clasa II.

2. Ambalarea probelor

Ambalarea tuburilor cu probe se face în suporturi dedicate, prevăzute cu capac. Cutia în care se introduce suportul dedicat se sigilează cu parafilm.

3. Identificarea probelor

Identificarea probelor se face pe baza numerelor ce se regăsesc și în nota de însoțire a probei, care poate fi și notă internă, atunci când probele provin de la alte unități funcționale ale laboratorului.

4. Transportul probelor

a) Culturile bacteriene aflate în faza exponențială de creștere, provenite din același laborator, nu necesită condiții speciale de transport, cu condiția prelucrării imediate, conform procedurilor specifice.

b) Dacă probele nu sunt prelucrate imediat, culturile bacteriene se transportă în condiții de refrigerare sau congelare, în glicerol ori liofilizate, în recipiente biosecurizate.

c) Probele reprezentând culturi virale se transportă către laborator în recipiente biosecurizate, refrigerate sau pe gheață uscată, în situația în care perioada de timp dintre momentul recoltării și cel al sosirii în laborator nu depășește 4—5 ore, ori se conservă/transportă la o temperatură de congelare, dacă intervalul de timp depășește această perioadă.

E. Probe de acizi nucleici — ARN și ADN

1. Prelevarea probelor

a) Extracția acizilor nucleici se face conform procedurilor specifice. Se recomandă ca tamponul de eluție ARN să fie reprezentat de tamponul TE, 10mM Tris-Cl, 1mM EDTA, pH 8.0.

b) Pentru situațiile în care timpul necesar transportului la laborator nu depășește 12 ore, se poate folosi ca agent de eluție apa ultrapură.

2. Ambalarea probelor

Probele de acizi nucleici se ambalează individual, în tuburi Eppendorf de 1,5/0,5 ml, certificate ca fiind libere de contaminanți, libere de enzime cu acțiune asupra acizilor nucleici. Se asigură etanșeitățile prin sigilare cu parafilm.

3. Identificarea probelor

Identificarea probelor se realizează prin numărul de pe tubul Eppendorf în care se găsesc acizii nucleici, care este similar cu numărul curent din tabelul nominal anexat la nota de însoțire a probelor.

4. Transportul probelor

a) Transportul probelor la laborator trebuie să se facă într-un timp cât mai scurt posibil, pentru a limita degradarea excesivă a acizilor nucleici, în special a ARN-ului.

b) În cazul în care timpul necesar transportului este mai mic de 6 ore, probele pot fi trimise în condiții de refrigerare, dar după această perioadă se recomandă ca probele să fie trimise în condiții de congelare.

F. Probe de produși de amplificare, ampliconi

1. Prelevarea probelor

a) Prin termenul *amplicon* se înțelege produsul reacției de amplificare PCR clasic.

b) Se prelevă 50 μl amplicon și se transferă în tuburi Eppendorf sterile de 0,2 ml sau de 0,5 ml.

2. Ambalarea probelor

Probele reprezentând ampliconi sunt ambalate individual, în tuburi Eppendorf de 0,5/0,2 ml, tuburi certificate ca fiind libere de contaminanți, libere de enzime cu acțiune asupra acizilor nucleici. Se asigură etanșeitățile prin sigilare cu parafilm.

3. Identificarea probelor

Identificarea probelor se realizează prin numărul de pe tubul Eppendorf care este similar cu numărul curent din tabelul anexat la nota de însoțire a probelor.

4. Transportul probelor

a) Transportul probelor la laborator se efectuează într-un timp cât mai scurt posibil, pentru a limita degradarea excesivă a ampliconului.

b) În cazul în care timpul necesar transportului nu depășește 24 de ore, probele pot fi trimise spre analiză în condiții de refrigerare; după această perioadă, se recomandă ca probele să fie trimise în condiții de congelare.

c) Dacă probele sunt trimise pentru secvențiere, acestea sunt transportate la întuneric.

G. Examenе pentru organisme modificate genetic

1. Prelevarea probelor

a) Probele pentru examene destinate organismelor modificate genetic sunt prelevate conform metodologiilor aprobate de Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor.

b) Probele sunt prelevate în duplicat, una reprezentând proba, iar cealaltă, contraproba. Aceste probe vor fi sigilate separat.

2. Ambalarea probelor

Probele destinate examinării pentru organismele modificate genetic sunt ambalate în saci de plastic sau în alte tipuri de ambalaje, conform metodologiilor aprobate de Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor.

3. Identificarea probelor

a) Probele destinate examinării pentru organismele modificate genetic sunt însoțite de proces-verbal de prelevare, în care se specifică: data recoltării, date despre lotul din care provine/provin proba/probele, cantitatea, identificarea operatorului economic, identificarea reprezentantului legal al operatorului economic, numărul sigiliului pentru proba/probele expediată/expediate, contraproba și numărul de sigiliu al acesteia.

b) De asemenea, probele sunt însoțite și de cererea de analiză, care cuprinde: expeditorul, informații privind expedierea, destinatarul, informații privind proba, denumirea și tipul produsului, tratamentele fitosanitare efectuate, originea probei, codul de prelevare, natura probei, analizele solicitate, numele proprietarului, semnătura expeditorului, ștampila unității, returnarea, numele și prenumele inspectorului.

c) Identificarea probelor se obține pe baza numerelor de sigiliu.

4. Transportul probelor

a) Transportul probelor la laborator se realizează conform metodologiilor aprobate de Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor.

b) Produsele perisabile sunt refrigerate.

CAPITOLUL V

Probe destinate examenelor biochimice

A. Prelevarea probelor

Pentru prelevarea probelor destinate analizelor biochimice se utilizează instrumentar și recipiente confecționate din materiale care, în contact cu probele, nu trebuie să intre în combinații chimice.

1. Prelevarea probelor de sânge

a) Probele de sânge se prelevă prin puncționarea marilor vene, după o prealabilă pregătire a locului de elecție.

b) Se recomandă ca prelevarea probelor de sânge să se realizeze înainte ca animalul să își consume rația alimentară.

c) Timpul scurs de la executarea stazei până la prelevare este de cel mult două minute, deoarece se produc hemoliză și o hemoconcentrație progresivă.

d) Când sângele se prelevă în seringă, înainte de golirea acesteia în tubul de centrifugă sau în eprubetă, se scoate acul, pentru a se evita hemoliza sângelui forțat să treacă prin ac, conținutul seringii fiind ușor golit pe peretele tubului.

e) Tot pentru a evita hemoliza, sângele este prelevat în eprubete de unică folosință.

f) Se lasă probele de sânge să coaguleze la o temperatură de 20—25°C cel puțin o oră, se decolează, se centrifughează la 3.000 rotații/min. timp de 3—5 minute și se prelevă serul.

g) Este recomandabil să se efectueze cât mai curând separarea plasmei, respectiv a serului, după exprimare, pentru a se preveni hemoliza.

h) Plasma, respectiv hemoserul, se pretează la depozitare, chiar în condițiile refrigerării; imediat după prelevare, tuburile cu sânge sunt ținute în poziție înclinată, în unghi de aproximativ 45°; pentru păstrarea integrității probelor, serul se ține păstrat la frigider până în momentul examinării acestora.

2. Prelevarea probelor de urină

a) Prelevarea probelor de urină se recomandă a se realiza prin metode care să nu permită contaminarea probelor cu secreții, celule sau alte substanțe existente pe căile urinare.

b) Este de preferat a se utiliza cateterismul vezical.

B. Ambalarea probelor

1. Pentru evitarea contaminării probelor se utilizează tuburi sau fiole de unică folosință, cu dop etanș. În niciun caz nu se folosesc eprubete cu dopuri de vată sau tifon.

2. Recipientele trebuie să fie închise ermetic pentru reducerea riscului evaporării sau contaminării probelor.

C. Identificarea probelor

1. Sângele este individualizat prin etichetarea tubului.

2. Probele sunt identificate cu numerele care se regăsesc și pe nota de însoțire a probelor și în tabelul însoțitor.

Produs electronic destinat exclusiv informării gratuite a persoanelor fizice asupra actelor ce se publică în Monitorul Oficial al României

D. Transportul probelor

1. Probele sunt transportate la laborator în cel mai scurt timp. În general, nu există restricții speciale în această privință.

2. Refrigerarea probelor în timpul transportului conferă o mai bună conservare a probelor de sânge integral, mai ales a proprietăților biochimice, deoarece exprimarea serului și rețracția coagulului sunt dificil de realizat.

3. Transportul probelor de urină la laborator trebuie să dureze cât mai puțin posibil, pentru a se examina imediat după prelevare. Dacă, totuși, acest lucru nu este posibil, probele se păstrează la frigider în recipiente închise; sedimentul urinar se examinează în decurs de două ore de la prelevare, iar analiza chimică, în decurs de 4 ore, fără a se adăuga vreun conservant.

4. Probele destinate dozării glucozei serice sunt transportate la laborator în maximum 3 ore de la prelevare, la temperaturi de refrigerare.

CAPITOLUL VI

Probe destinate examenelor micologice și micotoxicologice

A. Probele destinate examenelor micologice și micotoxicologice sunt reprezentate de furaje, material patologic prelevat de la animale bolnave sau suspecte de îmbolnăvire și de la cadavre.

B. Definiții tehnice

În sensul prezentei norme sanitare veterinare, termenii de mai jos au următoarele semnificații:

1. *partidă* — cantitatea de nutreț combinat preparată după aceeași rețetă, cu indici asemănători și care reprezintă obiectul unei singure livrări;

2. *lot* — partea determinată dintr-o partidă care nu depășește 100 tone și care are caracteristici presupuse uniforme și permite verificarea calității;

3. *probă elementară primară* — cantitatea de furaj combinat luată dintr-un singur loc al lotului și o singură dată;

4. *probă globală brută* — proba realizată prin reunirea probelor elementare;

5. *probă omogenizată* — proba globală asupra căreia s-a aplicat operațiunea de omogenizare;

6. *probă finală de laborator* — cantitatea de furaj obținută prin reducerea probei omogenizate și destinată examenului de laborator.

C. Prelevarea probelor elementare

1. Pentru prelevarea probelor elementare și formarea probelor de laborator din furaje se folosesc sonde și instrumente de tipul: sondă cilindrică, sondă conică, sondă specială pentru saci, sondă pentru produse în mișcare, sondă electromecanică, divizor — omogenizator, riglă în cruce pentru formarea probei de laborator.

2. Pentru prelevarea probelor de la animale se folosește trusa de necropsie. Aparatura trebuie să fie curată, neinfestată, uscată și lipsită de mirosuri străine.

3. Numărul minim de probe elementare este 7, iar proba elementară trebuie să aibă masa de minimum 0,1 kg.

4. Prelevarea probelor elementare din saci

a) Din loturile formate din maximum 100 de saci se prelevă probe elementare din 5 saci aleși la întâmplare.

b) Din loturile formate din mai mult de 100 de saci se prelevă probe elementare din 5% din numărul sacilor, la calculul proporției de 5% rezultatul rotunjindu-se la un număr întreg.

c) Din sacii deschiși, proba se extrage cu sonda cilindrică pe diagonală, pe întreaga lungime a sacului. În cazul folosirii sondei conice, se iau 3 probe, după cum urmează: din stratul superior, respectiv la 25 cm adâncime, din stratul mijlociu și din cel de la bază.

d) Din sacii închiși, proba se extrage cu sonda specială pentru saci, străpungându-se sacul în două locuri diferite.

e) Procedura de prelevare este următoarea: sonda se introduce încet în sac sub un unghi de circa 30° față de orizontală, cu orificiul în jos, până se atinge centrul sacului, se rotește apoi cu 180° și se trage cu o viteză descrescândă. Dacă sonda se introduce cu orificiul până la latura opusă sacului, aceasta trebuie retrasă cu o viteză constantă, agitând-o ușor.

5. Prelevarea probelor elementare din vrac

a) Prelevarea probelor elementare din vagoane sau autocamioane

- (i) Partida de examinat se împarte în loturi de câte maximum 100 tone, reprezentând încărcătura unui număr întreg de vehicule.
- (ii) Probele elementare se prelevă apoi din fiecare vehicul, cu sonda cilindrică sau conică, din mai multe puncte de sondare al căror număr și a căror distribuție sunt în funcție de capacitatea vehiculului: din vehicule până la 5 tone — din 3 puncte de sondare, din vehicule de la 5 până la 15 tone — din 5 puncte de sondare, din vehicule de la 15 până la 30 tone — din 8 puncte de sondare, din vehicule peste 30 tone — din 11 puncte de sondare.
- (iii) Punctele marginale de sondare sunt la 50 cm de laturi.
- (iv) În cazul folosirii sondei conice, din fiecare punct de sondare se prelevă 3 probe: din stratul superior, respectiv la 25 cm adâncime, din stratul mijlociu și din cel de la bază.
- (v) Dacă tipul de vehicul nu permite ca probele să fie extrase conform celor de mai sus, se procedează ca la pct. (iv).

b) Prelevarea probelor elementare din vase plutitoare și depozite

- (i) Probele elementare din vase plutitoare și depozite se extrag cu sonda cilindrică sau cu sonda conică prelungită cu bare filetate la capete, dacă înălțimea stratului de șrot depășește lungimea sondei.
- (ii) Suprafața partidei se nivelează și se delimitează în loturi de până la 100 tone.
- (iii) Punctele marginale de sondare sunt la 50 cm de laturi.
- (iv) În plan orizontal, punctele de sondare se plasează la distanța de 2 m.
- (v) În plan vertical, numărul punctelor de sondare va fi în funcție de grosimea stratului: dacă stratul are grosimea sub 3 m, se iau două rânduri de probe, iar dacă stratul are grosimea peste 3 m, se iau 3 rânduri de probe.

6. Prelevarea probelor elementare din celule de siloz

a) Probele elementare se prelevă cu sonda electromecanică introdusă perpendicular spre partea inferioară a celulei, cantitatea de șrot din fiecare bară considerându-se o probă elementară.

b) Sondările celulelor de siloz se fac prin fiecare dintre gurile de încărcare.

c) Din furajele fibroase presate se desfac la întâmplare, în cazul loturilor până la 10 tone, 3% din numărul baloturilor, dar nu mai puțin de două baloturi, iar în cazul loturilor peste 10 tone, 1% din numărul baloturilor, dar cel puțin 6 baloturi.

d) Din interiorul fiecărui balot desfăcut se extrag probe parțiale din diferite straturi și locuri, în cantități suficiente pentru obținerea unei probe globale de cel puțin 4 kg, din care apoi, prin metoda sferturilor, se separă proba finală.

Produs electronic destinat exclusiv informării gratuite a persoanelor

7. Prelevarea probelor elementare de șrot în timpul descărcării

Pentru produsele în mișcare, probele elementare se extrag cu sonda, pe întreaga secțiune a materialului și la intervale de timp depinzând de viteza de curgere, astfel încât masa totală a probelor elementare extrase dintr-un lot de 100 tone să fie de 50 kg, respectiv redusă proporțional la loturile mai mici de 100 tone.

8. Prelevarea probelor elementare de fân și grosiere

a) Probele elementare de fân și materii furajere grosiere se prelevă din șira de fân, prin smulgere, cu mâna sau cu cârlig special, din 12—14 locuri diferite, probele parțiale se amestecă, iar din amestec se prelevă proba de lucru.

b) Din furajele fibroase presate se desfac la întâmplare, în cazul loturilor până la 10 tone, 3% din numărul baloturilor, dar nu mai puțin de două baloturi, iar în cazul loturilor peste 10 tone, 1% din numărul baloturilor, dar cel puțin 6 baloturi.

c) Din interiorul fiecărui balot desfăcut se extrag probe parțiale, din diferite straturi și locuri, în cantități suficiente pentru obținerea unei probe globale de cel puțin 4 kg, din care apoi, prin metoda sferturilor, se separă proba finală.

d) Proba se examinează cu atenție și dacă se constată prezența unor cantități mai mari de corpuri străine, pământ, părți lignifiante, excremente, acestea se adună și se cântăresc separat. Proba astfel curățată se cântărește și se împachetează.

9. Prelevarea probelor elementare de nutreț verde

a) Probele elementare din nutrețuri verzi se prelevă din culturi, prin cosirea unei suprafețe de circa 1 m², din mai multe locuri, apoi se amestecă și se prelevă proba de lucru.

b) Probele se prelevă la 2-3 ore de la răsăritul soarelui și nu pe vreme umedă.

D. Formarea probei globale

1. Este nevoie de o singură probă globală pentru fiecare lot, probă care nu trebuie să fie mai mică de:

a) 4 kg pentru furaje ambalate vrac, furaje în ambalaje mai mari de 1 kg și furaje brichetate care cântăresc fiecare mai mult de 1 kg;

b) greutatea a 4 ambalaje originale pentru furaje în ambalaje care nu depășesc 1 kg.

2. Numărul minim de probe globale prelevate din fiecare lot variază în funcție de mărimea lotului, conform următorului tabel:

A	Mărimea lotului	Numărul minim de probe globale/lot
1.	< 1 t	1
2.	1—10 t	2
3.	10—40 t	3
4.	> 40 t	4
B	Mărimea lotului în nr. de ambalaje	
1.	1—16	1
2.	17—200	2
3.	201—800	3
4.	> 800	4

3. Greutatea totală a probelor elementare care alcătuiesc fiecare probă globală nu trebuie să fie mai mică de 4 kg.

E. Formarea probei omogenizate

1. Probele elementare ale unui lot se amestecă formând proba omogenizată. Omogenizarea se obține cu ajutorul unui divizor-omogenizator, iar în lipsa acestuia se recurge la metoda sferturilor.

2. Dacă la sondare se constată că unele porțiuni ale lotului prezintă semne de degradare, probele elementare respective

fizice asupra actelor ce se publică în Monitorul Oficial al României

nu se amestecă cu cele scoase din porțiunile sănătoase și se prelucrează separat. Se notează lotul din care au fost extrase.

F. Prepararea probelor finale (de laborator)

1. Din proba omogenizată se prepară 3 probe identice pentru examene de laborator de minimum 500 g, fiecare cu ajutorul unui divizor omogenizator sau prin reducerea succesivă prin metoda diluțiilor.

2. Una dintre probe se expediază la laborator pentru analiză, cealaltă se păstrează în condiții corespunzătoare la întreprinderea producătoare, în cadrul termenului de garanție, o altă probă identică rămâne la medicul veterinar care a prelevat proba. Ultimele două probe constituie contraprobe, dacă au fost prelevate în prezența ambelor părți interesate.

G. Ambalarea și marcarea probelor

1. Probele care se trimit la laborator se ambalează în pungi de hârtie sau de material plastic, în cutii ori borcane cu dop rodat și apoi sunt puse într-un container corespunzător, pentru a se evita orice schimbare de compoziție, contaminare sau alterare, care poate apărea în timpul transportului sau al stocării.

2. Pentru a se evita degradarea etichetei, se interzice introducerea acesteia în interiorul ambalajului.

3. Probele din loturile care prezintă semne de degradare se expediază separat, cu menționarea semnelor de degradare respective.

4. Containerele sunt sigilate și etichetate, iar eticheta este încorporată în întregime în sigiliu, astfel încât să nu poată fi deschise fără a se distruge sigiliul.

5. Se păstrează o înregistrare a fiecărei prelevări de probe, care să permită o identificare lipsită de orice ambiguitate a fiecărui lot eșantionat.

6. Pentru fiecare prelevare de probe se încheie un proces-verbal în care se vor menționa:

- data recoltării;
- denumirea furajului și a unității care expediază proba;
- modul de depozitare și de ambalare;
- cantitatea existentă;
- aspectele organoleptice;
- modul de prelevare și numele persoanei care a executat-o;
- motivele care au determinat controlul;
- destinația probelor;
- analizele care se solicită;
- numărul de sigiliu al probei prelevate;
- contraproba cu numărul de sigiliu.

7. Procesul-verbal se semnează de către persoana care a prelevat probele, de către proprietar și de alte persoane prezente în mod oficial la această operațiune.

8. Materialul patologic necesar pentru diagnosticul de laborator este variat. În mod obișnuit, se prelevă:

- avortonii de la toate speciile de animale — în saci de plastic;
- secreții cervico-vaginale — cu tampoane sterile sau în eprubete sterile după toaletarea regiunii vulvare;
- secreții auriculare, nazale, conjunctivale, exsudat faringian — cu tampoane sterile;
- probe de lapte provenite de la femele cu mamită — în eprubete sterile;
- embrioni ouă — pe cofraje de ouă;
- probe de material seminal provenite de la vieri, berbeci sau tauri de reproducție;
- limfonoduri de la animalele reacționate pozitiv sau dubios la tuberculinare;
- tineretul aviar, ovin, bovin, în vârstă de 0—30 de zile și tineretul porcîn în vârstă de 0—60 de zile — în pungi de plastic sau în saci de plastic;
- fire de păr, cruste, scuame — în tuburi sterile sau în alte ambalaje sterile;

9. Destinația probelor

a) Probele se expediază cât mai repede posibil la laboratorul local autorizat, împreună cu informațiile necesare, în vederea efectuării analizei.

b) Toate probele expediate la laborator sunt însoțite de următoarele documente:

- nota de însoțire oficială, în conformitate cu prevederile legislației sanitare veterinare în vigoare;
- tabelul cu probele prelevate, completat de medicul veterinar oficial abilitat pentru prelevarea, prelucrarea primară, ambalarea și expedierea probelor.

10. Transportul probelor de realizează la temperaturi de refrigerare.

CAPITOLUL VII

Probe destinate examenului bacteriologic

A. Prelevarea și ambalarea probelor

1. Probele care se expediază către laborator în vederea examenului bacteriologic sunt reprezentate de:

- probe prelevate de la animalele vii: secreții, excreții, lichide de puncție, exsudat, sânge, urină, fecale, material seminal, lapte, ouă și altele;
- animale bolnave, pentru specii de talie mică și mijlocie;
- cadavre de animale, pentru specii de talie mică și mijlocie;
- probe prelevate de la cadavre — țesuturi, organe, colecții patologice, secreții, excreții și altele;
- furaje, făinuri proteice, nutrețuri combinate, zooforturi, aditivi furajeri, premixuri;
- probe de mediu: deșeuri de incubație, așternut din spațiile de cazare a animalelor, sol, ape reziduale;
- ouă embrionate;
- frotiuri;
- tulpini bacteriene.

2. Prelevarea probelor destinate examenului bacteriologic se realizează înaintea instituirii tratamentului antimicrobian.

3. Probele reprezentate de secreții sau excreții se prelevă cu ajutorul tampoanelor sterile.

4. Colecțiile patologice din cavitățile naturale sau de neoformație se prelevă prin puncție cu ajutorul unui ac adaptat la o seringă sterilă.

5. Probele de sânge se prelevă prin puncție venoasă cu ajutorul unei seringi și al unui ac sau al unui ac și al unui tub de recoltare steril, utilizându-se un anticoagulant (EDTA, heparină).

6. Prelevarea probelor de fecale se efectuează fie direct din rect sau cloacă cu ajutorul tampoanelor sterile, fie prin prelevarea într-un recipient steril a unei cantități de aproximativ 15—20 g de fecale.

7. Prelevarea probelor de urină se poate efectua prin cateterism uretral, adaptând o seringă sterilă la cateter sau în timpul micțiunii, în recipiente sterile.

8. Probele de lapte se prelevă în cantitate de 15—20 ml, în recipiente sterile, ulterior igienizării mamelonului și mulgerii primului jet de lapte.

B. Prelevarea și ambalarea probelor prelevate de la cadavre

1. Se recomandă ca prelevarea probelor provenite de la cadavre să se facă la cât mai scurt timp după moarte, pentru a se evita diseminarea florei bacteriene de putrefacție.

2. Organele destinate examenului bacteriologic se prelevă înaintea deschiderii tubului digestiv. Se evită contaminarea lor prin contact direct cu alte organe sau cu produse patologice adiacente.

3. Cadavrele animalelor mici și mijlocii se expediază către laborator, de preferat, în totalitate, fără a fi în prealabil deschise.

4. Atunci când se trimit la laborator doar organe, acestea sunt întregi, nesectionate.

5. În cazul animalelor mari, se prelevă și se expediază către laborator fragmente mari de organe, precum: lobi hepatici, lobi pulmonari, întregi și nesectionați.

6. Masa gastro-intestinală poate fi prelevată și expedită în totalitate, în cazul animalelor mici sau sub formă de fragmente din aceasta, prelevate din zonele cu leziuni, în cazul animalelor mari și mijlocii. Secționarea acestor fragmente se face între duble ligaturi, pentru a evita revărsarea conținutului.

7. În cazul animalelor mari, oasele lungi, precum femurul, metacarpul și metatarsul, se trimit nedeschise.

8. Toate probele provenite de la cadavre se ambalează separat, în pungi de polietilenă bine închise și apoi în recipiente/containere închise ermetic, care asigură condițiile de biosecuritate, respectiv evitarea posibilității scurgerilor de lichide.

9. Pe exteriorul recipientelor/containerelor se lipesc etichete cu însemnele de biohazard, cu specificația: „Material patologic de origine animală, perisabil și fragil”.

10. Necropsierea cadavrelor este contraindicată atunci când există suspiciunea de antrax. În acest caz, se prelevă lichide de puncție cu ajutorul seringilor cu ac, precum și secreții și excreții, cu ajutorul tampoanelor sterile.

11. Probele se ambalează și se transportă în containere închise ermetic și etichetate cu specificația „Material patologic de origine animală cu risc mare de contaminare — ATENȚIE ZOONOZĂ!”.

12. În situația în care se suspicionează bacterioze ce au ca etiologie specii bacteriene anaerobe — de exemplu, *Clostridium chauvoei* — se evită aerarea probelor, prin plasarea acestora în recipiente închise ermetic și prin transportul cât mai rapid posibil la laborator.

C. Prelevarea și ambalarea probelor de furaje

Probele de furaje se prelevă ca probă medie de 50—100 g în pungi de polietilenă.

D. Prelevarea și ambalarea probelor provenite din mediu

Prelevarea probelor provenite din mediu se face în pungi de polietilenă sau în recipiente sterile, după caz.

E. **Probele constituind frotiurile** destinate examenului bacterioscopic se pot realiza din sânge, secreții, excreții, fecale, raclat de mucoasă, organe, formațiuni nodulare, alte țesuturi. Acestea sunt expediate fixate, prin trecerea prin flacăra.

F. **Probele de tulpini bacteriene** destinate identificării și tipizării unor agenți patogeni sunt însămânțate, de regulă, în tuburi cu agar semisolid, incubate timp de 24 ore la temperatura de 37°C, după care sunt expediate pentru examinare. Tulpinile de *Salmonella spp.* sunt expediate în tuburi cu agar nutritiv înclinat.

G. Identificarea probelor

Probele destinate examenului bacteriologic sunt expediate în mod obligatoriu cu o notă de însoțire care cuprinde următoarele date:

1. numărul și felul probelor;
2. specia, vârsta, categoria de producție și sexul animalelor de la care provin probele;
3. data recoltării probelor;
4. proveniența probelor: proprietarul, adresa proprietarului animalelor de la care provin probele;
5. date epidemiologice, clinice, anatomopatologice;
6. date privind acțiunile imunoprofilactice, eventualele tratamente efectuate în efectivele de animale din care provin probele;

7. date referitoare la furajare, cazare, îngrijire și alte informații;

8. diagnostic prezumtiv.

H. Transportul probelor

1. Intervalul dintre prelevarea probelor și realizarea examenului bacteriologic trebuie să fie cât mai redus, pentru a păstra condiția microbiologică inițială a probelor — supraviețuirea bacteriilor infectante și evitarea multiplicării celor contaminante.

2. După prelevare, probele destinate examenului bacteriologic sunt expediate la laborator în cel mai scurt timp posibil din momentul recoltării sau sunt conservate prin refrigerare ori congelare.

3. Este indicat ca transportul probelor să se facă în containere izoterme, cu gheață.

CAPITOLUL VIII

Probe destinate examenelor virusologice, serologice, imunologice și hematologice

A. Prelevarea de probe de la animalele vii

1. Prelevarea probelor de sânge

a) Pentru examene virusologice se utilizează sângele integral, iar pentru examenele serologice se utilizează sânge pe coagul sau ser sanguin, obținut prin puncția unui vas de sânge profund ori superficial, de dimensiuni adecvate.

b) Atunci când este necesară decelarea unor anticorpi specifici și/sau cuantificarea lor în dinamică, după prelevare probele sunt lăsate la temperatura camerei pentru exprimarea serului. Ulterior serul este separat de coagul, decantat și chiar centrifugat, după care este ambalat în mod corespunzător.

c) Serul poate fi congelat, cu excepția serului provenit de la păsări.

d) Toate aceste manopere vor fi executate cât mai steril posibil.

e) Probele de sânge pe coagul nu se congelează, pentru a se evita hemoliza.

2. Prelevarea probelor de sânge pentru examen virusologic

a) Sângele se prelevă pe anticoagulant (citrat de sodiu, EDTA), de la animale viremice. Prelevarea se face în tuburi sterile vacuate.

b) După prelevare, tuburile de recoltare se agită ușor pentru omogenizarea conținutului și se refrigerază (2—8°C). Este interzisă congelarea.

c) Cantitatea minimă de sânge ce se recoltează pentru examene virusologice este de 20—50 ml.

d) Este recomandat ca transportul probelor către laborator să se efectueze în ziua prelevării, la temperatură de refrigerare.

3. Pentru probele de sânge fără anticoagulant

a) Din punct de vedere cantitativ, probele de sânge trebuie să fie de minimum 7,5 ml, pentru animale mari, și de minimum 1 ml, pentru animale mici și păsări.

b) Din punct de vedere calitativ, probele nu trebuie să conțină substanțe anticoagulante sau corpi străini și să nu fie hemolizate ori contaminate.

c) Prezentarea probelor se face cu ajutorul eprubetelor de unică folosință, din material plastic sau din sticlă, fără aditivi, cu dop, identificate lizibil printr-o numerotare corespunzătoare similară cu cea a tabelelor însoțitoare.

d) În situațiile în care serul nu este exprimat sau probele sunt ușor hemolizate, acestea se centrifughează 15 minute la 2.000 rotații pe minut.

4. Prelevarea de probe de sânge integral, recoltate pe heparina litiată sau altă substanță anticoagulantă

Probele de sânge recoltate în tuburi cu substanță anticoagulantă sunt prelevate pentru testele de detecție de γ -IFN, cu respectarea următoarelor condiții:

a) probele de sânge sunt prelevate de la animale în monovette care conțin heparină litiată ca anticoagulant, în volum de aproximativ 7,5 ml, identificate numeric în conformitate cu numerele din tabelul anexat documentelor însoțitoare;

b) probele de sânge sunt prelevate steril, nu trebuie să conțină coaguli și nu trebuie să fie hemolizate;

c) stimularea probelor de sânge integral este efectuată într-o perioadă de timp care nu depășește 12 ore de la momentul recoltării, pentru a nu se denatura rezultatele, în condițiile în care probele au fost transportate și/sau stocate la o temperatură de 22°C (\pm 5°C);

d) în cazul în care se are în vedere existența unui virus limfotrop sau se încearcă izolarea virală din probe de sânge, sângele este recoltat pe anticoagulant — heparină, EDTA, citrat de sodiu.

5. Prelevarea de sânge pe rondelile de hârtie de filtru

În cazul recoltării probelor de sânge pe rondelile de hârtie de filtru cu reconstituirea ulterioară în laborator a hemoserului, după prelevare, rondelile se usucă complet la aer, apoi se închid etanș într-un recipient și se mențin la temperatura de 4°C.

6. Prelevarea probelor de sânge pentru examene hematologice

a) Prelevarea probelor de sânge pentru scopul propus se face prin puncționarea marilor vene, după o prealabilă pregătire a locului de elecție, prin tundere, dezinfecție cu alcool sau tinctură de iod, de preferință înainte ca animalul să consume rația furajeră.

b) Intervalul de timp de la executarea stazei până la prelevare nu este mai mare de două minute, pentru evitarea efectului de hemoconcentrație progresivă.

c) Sângele se prelevează în eprubete cu substanță anticoagulantă de tip K₃ EDTA, în eprubete tip vacutainer, după care se agită ușor, pentru omogenizare, prin răsturnarea eprubetei de 3-4 ori. Eprubetele sunt bine închise, pentru evitarea evaporării plasmei ce poate determina hemoconcentrație care poate constitui sursă de erori.

d) Eprubeta este prevăzută cu o etichetă pe care se înscriu:

- (i) numărul probei;
- (ii) numărul matricol al animalului;
- (iii) data prelevării.

e) Se completează corect nota de însoțire a probelor, care cuprinde următoarele: specia, categoria de vârstă a animalului, starea fiziologică, date clinice.

7. Păstrarea probelor de sânge

Probele de sânge prelevate în tuburi cu substanțe anticoagulante se păstrează la frigider până în momentul examinării, la temperatura de 4°C, pentru conservarea integrității morfologice a elementelor sanguine.

8. Transportul probelor de sânge la laborator

Probele de sânge se transportă la laborator la temperatura de refrigerare. Intervalul de timp de la prelevarea sângelui până în momentul examinării acestuia nu trebuie să depășească 24 de ore.

9. Prelevarea probelor de plasmă sanguină

a) Probele de plasmă sanguină se prelevă din punct de vedere calitativ astfel încât să nu prezinte urme de contaminare, hemoliză sau hematii în suspensie.

b) Din punct de vedere cantitativ, proba de plasmă sanguină trebuie să fie în volum de aproximativ 500-1.000 μ l.

c) Microtuburile de stocare a plasmei stimulate sunt identificate cu numărul probei, în conformitate cu numerele

înscrise în tabelul anexat la documentele însoțitoare, și cu inițialele: „N” pentru proba nestimulată, „B” pentru proba stimulată cu PPD bovin și „A” pentru proba stimulată cu PPD aviară și transportate la temperaturi de congelare.

10. Prelevarea probelor de lichid cefalorahidian

a) Lichidul cefalorahidian se prelevează în mod aseptice, folosindu-se ace și seringi sterile, prin puncția canalului rahidian. Șansa de izolare a unor agenți patogeni din acest tip de probe crește atunci când participarea meningeană este exprimată prin febră, simptome specifice și pleiocitoză.

b) Probele prelevate se transportă închise etanș, la temperatura de refrigerare, iar pentru izolare sunt necesare prelucrarea și inocularea cât mai rapidă a produsului.

c) Este recomandat ca metoda prevăzută la lit. a) și b) să fie folosită pentru izolarea agenților etiologici ai encefalomielitelor virale.

11. Prelevarea probelor de lapte

a) Probele de lapte se prelevează în tuburi sterile prevăzute cu dop etanș. Anterior recoltării, mameloanele sunt spălate, șterse și dezinfectate, iar primele jeturi de lapte se elimină, pentru a se reduce riscul contaminării bacteriene masive.

b) Probele de lapte pot fi utilizate în vederea efectuării examenelor serologice pentru febra aftoasă, leucoza enzootică a bovinelor, rinotraheita infecțioasă sau diareea virală a bovinelor ori alte boli, în special cu etiologie virală, iar transportul se va efectua la temperatura de refrigerare.

12. Prelevarea probelor de material seminal

a) Prelevarea probelor de material seminal se poate realiza din material seminal proaspăt, ca atare, sau din materialul seminal condiționat în paiețe, caz în care la laborator se expediază sub această formă. Prelevarea probelor de material seminal proaspăt se face prin colectarea acestuia cu ajutorul vaginei artificiale.

b) Metoda de prelevare descrisă se utilizează pentru izolarea virusului rinotraheitei infecțioase, al diareii virale a bovinelor și al arteritei virale a ecvinelor, precum și pentru alte boli virotice.

c) Transportul probelor de material seminal proaspăt se realizează la temperaturi de refrigerare, iar pentru materialul seminal congelat, condiționat în paiețe, transportul se realizează în azot lichid la temperatura de -196°C.

13. Prelevarea probelor de secreții nazale

a) Pentru prelevarea probelor de secreții nazale în fazele acute de boală, în scopul izolării de agenți virali, se utilizează tamponane sterile din vată sau tifon, care se introduc în cavitățile nazale, executându-se mișcări de rotație și de translație, cu o presiune moderată, evitându-se lezionarea mucoasei.

b) După prelevare, tamponul se introduce într-un tub steril cu mediu de transport și se menține la temperatură de refrigerare, expediindu-se rapid către laborator.

c) Această metodă se pretează pentru izolarea herpesvirusului rinotraheitei infecțioase a bovinelor, a virusurilor parainfluenței, a adenovirusurilor, în cazul virusului rinopneumoniei și al arteritei virale a ecvinelor sau al virusurilor influenței ecvine, precum și pentru alți agenți etiologici virali.

d) Tamponanele nazale care conțin celulele descumate de la suprafața mucoasei nazale pot servi la obținerea de froțiuni ca atare, pe lame de sticlă sau consecutiv centrifugării, cu depunerea sedimentului celular pe lame, în vederea detecției de antigen prin imunofluorescență sau prin teste imunocitoenzimatică, după uscarea la aer și fixarea în acetonă a froțiilor.

e) Tehnicile prevăzute la lit. a)–d) se utilizează pentru diagnosticul rapid al rinotraheitei infecțioase a bovinelor, al rinopneumoniei și al arteritei virale ecvine, cu specificarea că froțiile obținute din scurgeri nazale purulente sau hemoragice

pot fi fals negative, chiar la animale cu diagnostic pozitiv de boală.

14. Prelevarea probelor de secreție oculară

a) Probele de secreție oculară se prelevează cu ajutorul tampoanelor sterile ce se introduc în sacul conjunctival, sub pleoapa superioară și cea inferioară, după care se imersează în mediul de transport.

b) Pentru detecția directă de antigen se execută frotiuri pe lame de sticlă, iar pentru izolare de virus se fac inoculări.

c) Metoda prevăzută la lit. a) și b) se utilizează pentru izolarea virusurilor care se elimină într-o anumită fază a bolii pe calea mucoaselor oculo-nazale, precum virusul rinotraheitei infecțioase a bovinelor, adenovirusuri, virusul rinopneumoniei și al arteritei virale a ecvinelor, morbilivirusul maladiei Carre, și se recomandă în metodologia de diagnostic al pestei bovine.

d) Condiționarea și transportul tampoanelor prelevate pentru izolarea de virus trebuie să îndeplinească aceleași cerințe, din punctul de vedere al compoziției și calității mediului de transport și al menținerii lor la o temperatură de refrigerare între 2—8°C sau de congelare la cel puțin -80°C.

15. Prelevarea probelor de secreții prepuțiale și vaginale

a) În cazul leziunilor de balanopostită sau vaginită, eșantioanele de secreții prepuțiale și vaginale se prelevează cu ajutorul tampoanelor sterile introduse și menținute un scurt timp în cavitățile respective și imersate ulterior în mediul de transport sau prin lavaj prepuțial cu ser fiziologic steril.

b) În cazul existenței leziunilor vizibile și circumscrise, se prelevează secreții de la nivelul acestora.

c) În momentul extragerii tampoanelor din cavități se evită atingerea acestora de piele.

d) Pentru detecție directă de antigen sau pentru cazurile prevăzute la lit. a) și b), se poate recurge la raclajul acestor mucoase și la executarea de frotiuri pe lame de sticlă, materialul raclat putându-se folosi pentru izolare de virus pe suport adecvat.

e) Prelevarea de probe din secrețiile prepuțiale este posibil a fi realizată prin lavajul cavității cu o soluție salină sterilă, urmată apoi de colectarea acestora.

f) Aceste probe pot fi supuse metodelor de izolare a herpesvirusului rinotraheitei infecțioase bovine și a morbilivirusului maladiei Carré.

g) Transportul probelor se realizează la temperaturi de refrigerare cuprinse între 2—8°C sau de congelare la cel puțin -80°C.

16. Prelevarea probelor de epiteliu cutanate sau ale mucoaselor

a) Prelevarea probelor de epiteliu se adresează aproape în exclusivitate diagnosticului în bolile veziculoase, precum febra aftoasă, boala veziculoasă a porcului și stomatita veziculoasă.

b) Prelevarea și prelucrarea acestei categorii de probe se fac cu ajutorul truselor ce conțin materialele necesare, iar ambalarea și expedierea acestora se fac în condiții speciale, conform prevederilor legale referitoare la bolile veziculoase ale animalelor, cuprinse în Ordinul președintelui Autorității Naționale Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor nr. 113/2007 pentru aprobarea Normei sanitare veterinare privind măsurile pentru combaterea febrei aftoase.

c) Proba ideală prelevată de la orice specie afectată de boli veziculoase este cea de epiteliu al aftelor recent sparte sau proba de lichid din afte nedeschise, extras cu seringă, după care se prelevează cu o forfecuță lamboul epitelial al respectivei afte, în cantitate de cel puțin 1—2 g pentru fiecare probă.

d) Aceste fragmente de epiteliu se prelevează din zonele predilect afectate, de la speciile susceptibile, în special din zona bucală și peribucală, din zona podală, iar de la femele este posibil și din zona mamară.

e) Prelevarea probelor de epiteliu cutanat în alte cazuri decât cel de suspiciune a bolilor veziculoase se poate realiza prin biopsie cutanată, când, sub anestezia locală, se prelevează o zonă de epiderm de formă eliptică, care va cuprinde zona cu leziuni și zona adiacentă nemodificată.

f) Probele se ambalează corespunzător și se pot utiliza pentru izolare de virus sau pentru examene electrono-microscopice.

g) Metoda este recomandată pentru decelarea unor poxvirusuri, agenți cauzali ai variolei bovine sau dermatitei infecțioase a taurinelor.

h) Pentru diagnosticul ectimei contagioase se prelevează prin raclaj cruste bucale sau peribucale.

i) Diagnosticul parvovirusului canin la animalele afectate de episoade diareice se realizează prin imunodeteția de antigen pe frotiuri obținute din raclajul feței dorsale a limbii.

j) Transportul probelor se realizează la temperaturi de refrigerare cuprinse între 2—8°C, sau de congelare la cel puțin -80°C.

17. Prelevarea probelor de secreții bucofaringoesofagiene

a) Prelevarea probelor de secreții și epiteliu faringoesofagian este o metodă alternativă recoltării probelor de epiteliu și lichide veziculare în suspiciunile de boli veziculoase, atunci când animalele sunt într-o fază avansată a bolii sau când evoluția este subclinică.

b) Această metodă de prelevare, denumită *probang*, presupune utilizarea pentru bovine și ovine a unei chiurete speciale, în vederea raclării mucoasei bucofaringiene, iar pentru porcine utilizarea unor tampoane faringiene.

c) Prelucrarea probelor se realizează conform instrucțiunilor și cu ajutorul truselor speciale pentru prelevare, iar ambalarea și expedierea probelor la laborator se realizează conform prevederilor legale cu privire la bolile veziculoase.

d) Transportul probelor se realizează la temperaturi de refrigerare cuprinse între 2—8°C sau de congelare la temperaturi de cel puțin -80°C.

18. Prelevarea probelor de fecale

a) Fecalele servesc ca material patologic pentru izolarea sau detecția de antigen în cazul enterovirusurilor, adenovirusurilor, parvovirusurilor, coronavirusurilor, rotavirusurilor în diagnosticul suspiciunilor de influență aviară și pentru alte boli.

b) Se prelevează o cantitate mai mare de fecale eliminate recent, fie cu ajutorul unui instrument de prelevare, în recipiente sterile prevăzute cu dop, fie cu ajutorul unor tampoane rectale sau cloacale, în cazul prelevării de probe de la păsări.

c) Aceste tampoane se introduc după prelevare în tuburi sterile.

d) Tampoanele se transportă la laborator uscate sau imersate în mediul de transport specific.

B. Prelevarea de probe de la cadavre de animale

1. Prelevarea de probe de la animale moarte sau tăiate în scop de diagnostic se realizează consecutiv efectuării examenului necropsic și constă în prelevarea de organe interne, parenchimotoase sau cavitate, secreții ori excreții, atât de la animale tinere sau adulte, cât și de la avortoni.

2. Este necesară cunoașterea patogenezei virozelor suspiciionate, deoarece organul afectat lezional nu este întotdeauna locul predilect al replicării virale, de exemplu formele nervoase de rinopneumonie ecvină, în care herpesvirusul ecvin 1 nu poate fi izolat din creier ci din ficat, pulmon și timus, iar de la animalele în viață din leucocitele circulante.

3. Pentru stabilirea unui diagnostic etiologic cert este necesară uneori și expedierea de probe corespunzătoare prelevate de la animale tăiate în scop de diagnostic.

4. De la animalele mici, mijlocii și de la categoria tineret a speciilor de animale de talie mare se poate expedia la laborator cadavrul întreg, iar de la animalele mari se trimit la laborator organe sau fragmente de organe, prelevate cât mai aseptice posibil.

5. Prelevarea probelor trebuie realizată cât de repede posibil, înaintea invadării cadavrului de către germenii saprofiti și a apariției unor modificări autolitice care ar interfera cu obținerea unor rezultate corecte la investigațiile ulterioare, de exemplu, pentru izolarea biotipului citopatogen de virus al diareei virale bovine, din probe de intestin și plăci Peyer sau prin detecția de antigen prin imunofluorescență pe amprente de sistem nervos central, pentru rabie.

6. În eventualitatea realizării unui diagnostic complex de laborator — virusologic, bacteriologic și toxicologic — sunt trimise cantități suficiente din fiecare categorie de probe.

7. Diagnosticul în bolile virale presupune uneori și decelarea prin tehnici histopatologice a leziunilor tipice, a unor incluzii specifice produse de virusul rabiei, al variolei ori de alte virusuri.

8. Pentru unele boli este necesar să se expedieze la laborator animale muribunde, iar pentru alte boli, cum ar fi cazul unor viroze enterice, rotaviroza și gastroenterita transmisibilă a porceilor, trebuie trimise la laborator animale clinic sănătoase din focare de boală.

9. Probele prelevate de la animale moarte sunt ambalate corespunzător în recipiente etanșe sau în saci dubli de plastic, între care se introduce vată sau rumeguș de lemn îmbibat cu substanțe dezinfectante.

10. Este necesară menținerea probelor la temperatura de refrigerare pe durata transportului, în special pe durata anotimpului calduros.

11. Organele sau probele de organe se prelevează cu ajutorul unor instrumente adecvate și utilizate numai în acest scop, precum bisturie, cuțite, foarfeci de diferite dimensiuni, clești, dălți, fierăstraie.

12. Prosectorul, persoana care prelevează probele și ajutoarele acestuia trebuie să fie echipate în mod corespunzător cu echipament de protecție.

13. În funcție de scopul urmărit, de boala suspionată și de talia animalului se trimit la laborator organe întregi sau porțiuni de organe parenchimatoase — ficat, splină, rinichi, pulmon și saci aereni, miocard — organe cavitate — stomac, vezică urinară, intestin, în special intestin subțire.

14. Organele prelevate sunt însoțite întotdeauna de țesutul limforeticular aferent, alături de tonsile sau bursa Fabricius, pulmon cu limfonodurile bronhice, intestin cu lanțul limfonodal mezenteric.

15. De la animale tinere sau de la avortoni se prelevează și timusul.

16. În cazul expedierii la laborator a unor fragmente de organ, acestea trebuie să fie reprezentative pentru tipul de leziune existent și să conțină zone de țesut normal și zone afectate.

17. În cazul suspiciunii de viroze neurotrope, precum rabia, boala lui Aujeszky sau encefalite virale, trebuie prelevate probe

de sistem nervos central, tot creierul la animale de talie mică și fragmente sau jumătate de emisferă cerebrală de la animale mari, cuprinzând bulb, corn Ammon, pentru detecție de antigen, izolare de virus, bioprobă pe animale de laborator.

18. În cazul detecției de antigen prin imunofluorescență pe amprente din material patologic primar pentru diagnosticul rabiei, între moartea animalului și prelevarea creierului nu trebuie să treacă mai mult de 12 ore vara și 24 de ore iarna.

19. Dacă durata este mai mare de 24 de ore, proba/cadavrul trebuie congelată/congelat.

20. Prelevarea lichidelor organice, precum transsudatele și exudatele din cavitățile virtuale ale organismului — cavitatea pleurală, pericardică și peritoneală —, se realizează pentru izolare de virus sau examene serologice. Acestea se prelevează de la avortoni ori de la animale tinere sau adulte.

21. În cazul în care nu se expediază cadavrul în întregime sau organele respective în conexiunile anatomice normale, aceste lichide se pot preleva separat și se introduc apoi în recipiente sterile și etanșe.

22. În caz de suspiciune de pestă porcină clasică, pentru efectuarea testelor de detecție de antigen sau izolare de virus din măduva roșie hematogenă este necesară expedierea sternului animalelor afectate, tonsile, splină, rinichi și limfonoduri limfatice.

23. În caz de avort, pe lângă avorton se trimit și fragmente placentare și lichide periferale.

24. După prelevare, probele se individualizează cu înscris vizibil ce nu se șterge în cursul manipulărilor și sunt supuse unor operațiuni de condiționare și ambalare, pentru îndeplinirea a două deziderate majore, și anume: conservarea satisfăcătoare a materialelor patologice cu menținerea viabilității eventualilor agenți virali și excluderea posibilităților de contaminare a mediului pe durata transportului către laborator.

25. În cursul transportului este necesară menținerea acestor probe la o temperatură optimă, precum temperatura de refrigerare, de congelare pe zăpadă carbonică, uneori fiind posibilă și menținerea acestora pentru o perioadă scurtă de timp la temperatura mediului ambiant, dar constantă, evitându-se variațiile mari de temperatură, nocive pentru infectivitatea virusurilor sau inadecvate menținerii structurilor ce servesc detecției prin teste de laborator.

26. Transportul la laborator se efectuează în condiții care asigură o temperatură aproape de refrigerare și cât mai rapid posibil, mai ales în cazul virusurilor cu rezistență scăzută în mediu sau al suspiciunii evoluției unor viroze majore.

27. În cazul virusurilor cu rezistență scăzută în mediu, pe durata transportului către laborator probele sunt însoțite de un delegat instruit care răspunde de securitatea acestora, iar probele se transportă în recipiente care să asigure condițiile de biosecuritate.

28. Probele de hemoser sunt trimise la laborator în micromixuri acoperite cu dop, care sunt bine fixate în plăcile ELISA, cu număr curent înscris pe fiecare probă, însoțite de tabele de individualizare a probelor, în ordinea prezentată în tabelul de mai jos:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Pr.1	Pr.9	Pr.17	Pr.25	Pr.33	Pr.41	Pr.49	Pr.57	Pr.65	Pr.73	Pr.81	Pr.89
B	Pr.2	Pr.10	Pr.18	Pr.26	Pr.34	Pr.42	Pr.50	Pr.58	Pr.66	Pr.74	Pr.82	Pr.90
C	Pr.3	Pr.11	Pr.19	Pr.27	Pr.35	Pr.43	Pr.51	Pr.59	Pr.67	Pr.75	Pr.83	Pr.91
D	Pr.4	Pr.12	Pr.20	Pr.28	Pr.36	Pr.44	Pr.52	Pr.60	Pr.68	Pr.76	Pr.84	Pr.92
E	Pr.5	Pr.13	Pr.21	Pr.29	Pr.37	Pr.45	Pr.53	Pr.61	Pr.69	Pr.77	Pr.85	Pr.93
F	Pr.6	Pr.14	Pr.22	Pr.30	Pr.38	Pr.46	Pr.54	Pr.62	Pr.70	Pr.78	Pr.86	Pr.94
G	Pr.7	Pr.15	Pr.23	Pr.31	Pr.39	Pr.47	Pr.55	Pr.63	Pr.71	Pr.79	Pr.87	Pr.95
H	Pr.8	Pr.16	Pr.24	Pr.32	Pr.40	Pr.48	Pr.56	Pr.64	Pr.72	Pr.80	Pr.88	Pr.96

29. Cantitatea minimă de hemoser trebuie să fie de 0,5 mililitri, pentru fiecare afecțiune virală.

30. Acesta trebuie să fie limpede, nehemolizat și fără contaminare bacteriană.

31. Pentru probele de organe destinate izolării de virus acestea se transportă la temperaturi de congelare.

C. Reguli specifice pentru unele boli

1. Reguli de prelevare, ambalare, identificare și conservare a probelor pentru diagnosticul pestei porcine clasice

a) Diagnosticul de laborator al pestei porcine clasice presupune realizarea de investigații pe probe prelevate în anumite faze ale bolii și din locuri de elecție bine definite, respectiv organe sau țesuturi provenind de la unul sau mai multe animale afectate și care să corespundă calitativ și cantitativ scopurilor cerute.

b) Prelevarea probelor se face de către medicul veterinar sau de către personalul tehnic specializat, sub supravegherea nemijlocită a unui medic veterinar.

c) Probele se prelevează și se manipulează cu respectarea obligatorie a măsurilor speciale pentru preîntâmpinarea diseminării bolii din locul de prelevare.

d) După prelevare, probele se individualizează cu înscris vizibil, care nu se șterge în cursul manipularilor, și sunt supuse unor operațiuni de condiționare și ambalare, pentru îndeplinirea a două deziderate majore, și anume: conservarea satisfăcătoare a materialelor patologice, cu menținerea viabilității eventualilor agenți virali, și excluderea posibilităților de contaminare a mediului pe durata transportului către laborator.

e) În cursul transportului este necesară menținerea acestor probe la o temperatură optimă, precum temperatura de refrigerare, uneori fiind posibilă și menținerea, pentru o perioadă scurtă de timp, la temperatura mediului ambiant dar constantă, evitându-se variațiile mari de temperatură, nocive pentru infectivitatea virusurilor sau inadecvate menținerii structurilor care servesc detecției prin teste de laborator.

f) Toate probele sunt expediate cu o notă de însoțire completată și semnată de medicul veterinar care a prelevat probele și vizată de direcția sanitară-veterinară și pentru siguranța alimentelor județeană, respectiv a municipiului București.

g) Nota de însoțire trebuie să cuprindă următoarele date:

- (i) numele și adresa proprietarului animalelor unde a apărut boala și data expedierii probelor la laborator;
- (ii) boala suspectată;
- (iii) probele trimise, testele solicitate, mediul de transport folosit și data recoltării probelor;
- (iv) diferite specii de animale din fermă și numărul, vârsta și sexul fiecărui animal afectat, precum și numerele de identificare ale acestora;
- (v) perioada de timp de când animalele sunt în fermă sau în gospodărie, iar dacă animalele au sosit recent la fermă, locul de proveniență sau origine;
- (vi) data primelor cazuri de îmbolnăvire și a cazurilor sau pierderilor ulterioare;
- (vii) descrierea răspândirii bolii în efectiv;
- (viii) numărul animalelor moarte, vârsta, sexul și rasa acestora;
- (ix) semnele clinice și durata acestora;
- (x) tipul și standardul fermei agricole, inclusiv tipul de hrană disponibilă;
- (xi) lista și descrierea probelor examinate post-mortem, data examinării și constatările notate;
- (xii) medicamente deja administrate animalelor și data administrării acestora;

(xiii) orice vaccin deja administrat animalelor și data administrării acestuia.

h) Informațiile cuprinse în nota de însoțire prevăzută la lit. f) sunt completate într-un proces-verbal ce însoțește nota menționată; procesul-verbal este vizat de direcția sanitar-veterinară și pentru siguranța alimentelor județeană, respectiv a municipiului București.

i) În cazul suspiciunii de pestă porcină clasică, pentru efectuarea testelor de detecție de antigen sau izolare de virus este necesară expedierea de sânge și a următoarelor organe:

- (i) stern de la animale afectate;
- (ii) tonsile;
- (iii) splină și rinichi;
- (iv) limfonoduri limfatice, precum cele retrofaringiene, parotidiene, mandibulare sau mezenterice;
- (v) porțiunea distală a ileonului.

j) Organele sau probele de organe se prelevează cu ajutorul unor instrumente sterile, utilizate numai în acest scop, precum bisturie, cuțit, foarfeci de diferite dimensiuni, clește, daltă, fierăstrău;

k) Instrumentele folosite la prelevarea probelor pot fi folosite la alt animal numai după ce au fost sterilizate, pentru a se evita contaminarea acestora cu material viral de la animalul anterior și inducerea de rezultate eronate, în cazul izolării virusului pe culturi celulare sau efectuării testelor de biologie moleculară;

l) Instrumentele pot fi sterilizate la locul recoltării, timp de 20 de minute, într-un boiler care poate fi încălzit pe un arzător alimentat de la o sursă de gaz portabilă sau folosind o sursă locală de combustibil;

m) Dacă nu există mai multe seturi de instrumente sterile, pot fi utilizate instrumente de sterilizare în etanol 100%. Acele pentru puncție nu trebuie să se folosească de la un animal la altul fără a se spăla și steriliza în prealabil.

n) Substanțele dezinfectante nu sunt folosite pe sau lângă țesuturile care trebuie prelevate, pentru a nu se afecta infectivitatea virusului, necesară în cazul izolării pe culturi celulare.

o) Prosectorul, persoana care prelevează probe și ajutoarele acestuia trebuie să fie echipate în mod corespunzător cu echipament de protecție;

p) Echipamentele folosite într-o gospodărie sau unitate sunt decontaminate.

q) Probele prelevate de la animale moarte sunt ambalate în recipiente etanșe sau în saci dubli de plastic, între care se introduce vată sau rumeguș de lemn îmbibat cu substanțe dezinfectante.

r) Este de preferat să se folosească câte o pungă pentru fiecare organ, urmând ca aceasta să fie închisă foarte bine, pentru a se evita scurgerile de lichide.

s) Punga prevăzută la lit. r) se plasează apoi într-o altă pungă, iar între ele se pune o etichetă care să specifice ce organ este transportat, numărul probei și proprietarul. Se atribuie un număr pentru fiecare animal.

t) Este recomandabil să se evite ca toate organele de la un animal să se pună într-o singură pungă, deoarece încărcătura bacteriană diferă de la un organ la altul, iar infecțiile bacteriene pot perturba încercările de izolare a virusurilor pe culturi celulare, îngreunând astfel foarte mult testele de diagnostic.

ț) Toate pungile cu organe prelevate de la animale supuse investigațiilor se pun ulterior într-o pungă mai mare cu vată. Apoi se transportă cât mai repede posibil la laborator, folosindu-se lăzi izoterme.

u) Pentru examenele virusologice efectuate pentru diagnosticul pestei porcine clasice, sângele poate fi utilizat ca sânge integral, sânge coagulat sau ser sanguin. Acesta se obține prin puncția unui vas de dimensiuni adecvate, profund sau superficial, confluentul jugular sau auriculară.

v) În cazul suspiciunii de pestă porcină clasică, este de preferat să se folosească vacutainere care împiedică contaminarea probelor.

w) Atunci când este urmărită decelarea de anticorpi specifici antivirului pestei porcine clasice, probele sunt lăsate la temperatura camerei după prelevare, până la coagulare, apoi coagulul este decolat cu o baghetă, iar tuburile sunt menținute la temperatura de refrigerare până exprimă serul.

x) Sângele coagulat nu trebuie să stea mai mult de două zile până la examinare. În această perioadă serul este separat, decantat și uneori centrifugat, după care este plasat în tuburi micromix de 1 ml și se congelează. Toate aceste manopere sunt efectuate cât mai steril posibil.

y) Pentru a se evita hemoliza, probele de sânge coagulat nu se congelează.

2. Reguli privind transportul probelor pentru diagnosticul pestei porcine clasice

a) Transportul probelor la laborator se efectuează cât mai rapid posibil și în condiții care asigură o temperatură aproape de refrigerare, prin utilizarea de lăzi izoterme ce asigură o izolare bună de mediu înconjurător, în care se pun pungi de gheață închise ermetic.

b) În cazul în care se urmărește detecția antigenului viral pestos sau se încearcă izolarea virusului din probe de sânge considerat viremic, acesta este recoltat în tuburi cu substanță anticoagulantă, precum heparină, EDTA sau citrat de sodiu.

c) Probele nu se congelează, deoarece prin congelare și decongelare se sparg celulele care conțin antigene virale și nu mai pot fi folosite pentru diagnosticul prin teste rapide, precum testul de imunofluorescență directă.

d) Pe durata transportului către laborator, probele sunt însoțite de un delegat instruit care răspunde de securitatea acestora.

e) Transportul se realizează în recipiente care asigură condiții de biosecuritate și evită posibilitatea scurgerilor de lichide din recipiente și diseminarea virusului pestos în mediu.

f) În cazul transportului probelor prelucrate primar de la laboratoarele județene la Institutul de Diagnostic și Sănătate Animală, atunci când se recurge la serviciile unor firme specializate de transport, pe exteriorul pachetului sunt lipite etichete cu însemnele de biohazard, specificându-se:

**„Material patologic animal, perisabil și fragil.
A se deschide numai în laborator”**



3. Reguli de prelevare, prelucrare primară, ambalare, identificare, conservare și transport al probelor pentru diagnosticul rabiei

a) Probele destinate examenelor de laborator în cazul suspiciunii de rabie, precum cadavre sau sistem nervos central, sunt ambalate în pungi de plastic, flacoane din plastic sau în cutii speciale, astfel încât să se evite orice scurgeri de lichide și diseminarea virusului.

b) Transportul este efectuat în containere etichetate cu mențiunea „PROBE BIOLOGICE CU RISC MARE DE CONTAMINARE — ATENȚIE RABIE”, la temperaturi de refrigerare sau congelare.

c) Prospețimea probelor trebuie să se încadreze într-o perioadă maximă de 24 de ore în timpul iernii și de 12 ore în timpul verii.

d) Proba de sistem nervos central prelevată este refrigerată la temperatura de 2—80°C, iar dacă au trecut peste 24 de ore de la moartea animalului, proba se congelează la temperatura de -8°C/-22°C.

e) Condițiile prevăzute la lit. d) exclud examenul histopatologic.

f) Dacă proba de sistem nervos central nu se poate preleva în timp util, se congelează craniul întreg.

g) Integritatea sistemului nervos central este obligatorie, pentru a putea fi evidențiate structurile anatomice, precum bulbul, cornul lui Ammon, cerebelul și scoarța cerebrală.

h) Pentru prelevarea și manipularea probelor se aplică măsuri stricte de protecția muncii și de biosecuritate. În acest context, se impune purtarea unui echipament de protecție individual, la care se adaugă mască de unică folosință, ochelari de protecție, câte două perechi de mănuși chirurgicale la o singură utilizare.

i) Sunt obligatorii dezinsecția instrumentelor și a mesei de lucru folosite pentru necropsierea cadavrului suspectat și prelevarea probelor, conform normelor în vigoare, precum și spălarea și dezinsecția mâinilor operatorului.

j) Pe nota de însoțire a probelor prelevate se menționează, cu exactitate, originea animalului, prin precizarea numelui și prenumelui proprietarului, a domiciliului și a telefonului acestuia, modificările comportamentale sau ale stării fiziologice a animalului; dacă animalul investigat a agresat, a mușcat sau a zgâriat diverse persoane, se înscriu datele de identificare și domiciliul acestora.

k) Se aplică măsuri stricte de transport, în vederea ecarisării cadavrelor sau a probelor de sistem nervos central, a materialelor consumabile folosite la manipularea probelor, precum și a animalelor de laborator — șoareci albi — folosite pentru precizarea diagnosticului.

4. Prelevarea de probe pentru diagnosticul serologic al bolilor endemice

Se face în două etape, probe perechi, pentru determinarea titrului de anticorpi în dinamică și a categoriei de anticorpi, prima serie de probe recoltându-se în faza acută de boală și seria a doua în faza de convalescență, după 2—3 săptămâni; uneori, evidențierea anticorpilor de tip IgM, caracteristici răspunsului imun primar, permite diagnosticul serologic pe o singură probă de ser.

5. Probele de ser sanguin prelevate de la cai și asini destinați exportului sau exportului temporar

Se solicită examene de laborator pentru supravegherea anemiei infecțioase ecvine, arteritei virale ecvine, morvei și durinei, care trebuie sigilate cu sigiliu metalic cu număr, iar notele de însoțire și tabelele trebuie să fie vizate și semnate de direcția sanitar-veterinară și pentru siguranța alimentelor județeană, respectiv a municipiului București.

6. Pentru arterita virală ecvină

Pentru efectuarea testului de virusneutralizare trebuie să se respecte următoarele condiții:

a) probele de sânge prelevate sunt în cantitate de 4—5 ml, prelevarea se efectuează în vacutainere sterile fără anticoagulant, după care se lasă la temperatura camerei pentru exprimarea serului;

b) serul obținut (1,5—2 ml) se prelevă în condiții de sterilitate într-un tub de plastic steril, închis etanș, pe care se înscriu datele de identificare ale animalului și mențiunea „pentru arterita virală ecvină”;

c) tubul este păstrat și transportat către laboratoarele de analiză, la temperatura de refrigerare;

d) probele se trimit înainte cu cel puțin 10 zile lucrătoare față de data de ieșire a animalului din țară.

7. **Probele de ser sanguin de pasăre destinate examenului serologic în tifoza aviară și micoplasmoză** se conservă la temperatura de 4—8°C și este interzisă congelarea.

CAPITOLUL IX

Probe prelevate de la animale acvatice și insecte utile destinate examinării de laborator

A. Definiții

În sensul prezentei norme sanitare veterinare, termenii de mai jos au următoarele semnificații:

1. *animal acvatic* — peștii, inclusiv icrele sau gameții, moluștele și crustaceele vii din întreprinderi de acvacultură sau animalele acvatice provenite din mediul sălbatic, în scop de creștere sau pentru repopulare a mediului acvatic. Nu sunt incluși amfibienii, reptilele, păsările și mamiferele acvatice;

2. *probă* — un număr reprezentativ de exemplare de pești sau de alte animale acvatice ori de organe ale acestora, din aceeași specie sau din specii diferite, dar cu aceeași proveniență și sursă de alimentare cu apă, pentru care se poate efectua un diagnostic complet de laborator.

B. Prelevarea probelor de pește

1. Materiale necesare prelevării de probe:

a) instrumentar steril: foarfece, pensă;

b) tuburi sterile;

c) mediu de transport, Eagle MEM/IC65, cu 2% antibiotic și 10% ser fetal;

d) pungi din plastic cu sistem de etanșizare, gheață, cutii termoizolante, marker permanent, hârtie absorbantă, etichete;

e) echipament de protecție: mănuși, cizme de cauciuc, halat.

2. Prelevarea probelor de pește pentru diagnosticul bolilor virale

a) Pentru diagnosticul bolilor virale ale peștilor, în funcție de mărimea peștilor, se prelevă următoarele probe:

- (i) alevini și pești cu dimensiunea sub 4 cm: peștele întreg, fără sacul vitelin, dacă este prezent;
- (ii) pești cu dimensiunea de 4—6 cm: toată masa viscerală, inclusiv rinichiul și encefalul;
- (iii) pești cu dimensiunea de peste 6 cm: rinichiul, splin, și, după caz, cordul sau encefalul;

(iv) pești reproducători: se prelevează lichid ovarian și/sau țesut.

b) În funcție de statusul clinic, se îndeplinesc următoarele condiții:

(i) în cazul infecției clinice, în raport cu mărimea peștelui, se prelevă puiet de pește întreg sau masă viscerală, iar dintre organe, rinichiul anterior, splina și, după caz, cordul sau encefalul. O probă este formată din minimum 10 exemplare de pește cu semne clinice și/sau modificări anatomopatologice și este împărțită în două probe comasate de câte 5 pești;

(ii) pentru detecția purtătorilor asimptomatici, probele constau în comasări de câte 5 pești sau din organe ale acestora. Probele comasate de lichid ovarian provenite de la 5 reproducători nu trebuie să depășească în volum 5 ml, adică 1 ml/pește reproducător. Numărul de exemplare de pește prelevat este în conformitate cu prevederile anexei nr. 1 la Norma sanitară veterinară privind planurile de prelevare, metodele de diagnostic, determinarea și confirmarea prezenței septicemiei hemoragice virale — SHV — și necrozei hematopoetice infecțioase — NHI — la pești, aprobată prin Ordinul ministrului agriculturii, alimentației și pădurilor nr. 471/2002. În ambele cazuri, probele comasate de organe trebuie să conțină minimum 0,5 g de țesut.

3. Prelevarea probelor de pește pentru diagnosticul bolilor bacteriene și parazitare

În funcție de statusul clinic, se îndeplinesc următoarele condiții:

(i) în cazul infecției clinice sau al unei mortalități anormale, se prelevă cel puțin 10 pești care prezintă semne clinice și anatomopatologie și care se repartizează în două probe comasate de câte 5 pești;

(ii) în scopul detectării purtătorilor asimptomatici de germeni bacterieni patogeni se prelevează un număr corespunzător de exemplare, pentru a se asigura detecția animalelor bolnave la un nivel de confidență de 95%, cu o prevalență a bolii de 2%, conform tabelului de mai jos:

Numărul de exemplare de animale acvatice care trebuie prelevate în funcție de mărimea lotului, pentru a asigura o prevalență de 2%, 5% sau 10%

Nr. crt.	Mărimea lotului	Prevalență 2%, număr de exemplare	Prevalență 5%, număr de exemplare	Prevalență 10%, număr de exemplare
1.	50	50	35	20
2.	100	75	45	23
3.	250	110	50	25
4.	500	130	55	26
5.	1000	140	55	27
6.	1500	140	55	27
7.	2000	145	60	27
8.	4000	145	60	27
9.	10.000	145	60	27
10.	100.000 sau mai mult	150	60	30

După Ossiander & Wedemeyer, 1973.

- (iii) probele sunt constituite din exemplare cu dimensiuni de peste 4 cm. Se constituie probe comasate de 5 pești.

4. Prelevarea probelor de moluște bivalve

a) Prelevarea probelor pentru diagnosticul bolilor declarabile

- (i) Prelevarea probelor de moluște se realizează conform cu tabelul menționat la pct. 3, asigurându-se detecția agenților patogeni la un nivel de confidență de 95%, cu o prevalență a bolii de 2%.
- (ii) Probele se prelevează de două ori pe an, primăvara și toamna.
- (iii) Probele conțin moluște bivalve de vârste diferite sau moluște din categoriile de vârstă cele mai susceptibile, de preferat exemplare după reproducere sau moluște tinere.
- (iv) Pentru fiecare zonă sunt selectate mai multe puncte de prelevare, pentru a crește șansele de detecție a agenților patogeni.
- (v) În caz de mortalitate anormală, se recoltează, preferențial, moluște bivalve cu cochilii deformate, muribunde.
- (vi) Nu se prelevă exemplare de moluște bivalve moarte.

b) Prelevarea probelor pentru detectarea contaminanților bacterieni și virali

- (i) Sunt selectate mai multe puncte de prelevare, pentru fiecare zonă, pentru a crește șansele de detecție a contaminanților bacterieni și virali.
- (ii) Se prelevă minimum: 25 de exemplare de stridii/probă, 60 de exemplare de midii/probă, iar pentru alte specii de moluște, un număr suficient de exemplare pentru a realiza o probă de 100—200 g țesut de moluște.
- (iii) Nu se prelevă moluște bivalve moarte, muribunde sau cu cochilia spartă.

c) Prelevarea probelor pentru detectarea biotoxinelor marine

- (i) Sunt selectate mai multe puncte de prelevare, pentru fiecare zonă, pentru a crește șansele de detectare a biotoxinelor marine.
- (ii) Se prelevă un număr suficient de exemplare de moluște pentru a se obține o cantitate de probă de aproximativ 450 g de țesut.
- (iii) Prelevarea probelor de moluște bivalve se poate realiza concomitent pentru diagnosticul bolilor declarabile și pentru monitorizarea contaminanților bacterieni și virali, precum și a biotoxinelor marine.

5. Prelevarea probelor de crustacee

În funcție de statusul clinic, se îndeplinesc următoarele condiții:

- (i) În cazul infecției clinice se selectează cu atenție exemplarele cu leziuni anatomopatologice. Se evită prelevarea exemplarelor moarte. Numărul minim de exemplare care trebuie prelevate pentru diagnostic este de 100 pentru stadiul larvar, 50 pentru stadiul postlarvar și, respectiv, 10 pentru exemplarele tinere și adulți;
- (ii) În scopul detectării purtătorilor asimptomatici se prelevă un număr corespunzător de exemplare, pentru a se asigura detectarea exemplarelor bolnave la un nivel de confidență de 95%, cu o prevalență a bolii de 2%, conform tabelului prevăzut la pct. 3.

6. Prelevarea de probe de pește pentru examen toxicologic

- a) Pentru efectuarea examenului toxicologic se prelevă o cantitate de 1 kg de pește.
- b) Probele sunt prelevate în recipiente închise etanș și se transportă în cel mai scurt timp posibil la laborator.
- c) Dacă probele nu pot fi transportate imediat, acestea se congelează până la expediere.
- d) În cazul unei intoxicații sau al suspiciunii de intoxicație, este recomandabil ca probele să fie transmise la laborator în cel mai scurt timp.

7. Prelevarea de probe de apă din bazinele piscicole pentru analize fizico-chimice și toxicologice

- a) Probele de apă din bazinele piscicole destinate analizelor fizico-chimice și toxicologice se prelevă în recipiente de sticlă sau de material plastic, cum ar fi polietilenă, PTFE, PVC sau PET, curate, clătite în prealabil de câteva ori cu proba de analizat.
- b) Cantitatea prelevată este de minimum 1 litru.
- c) În cazul în care analiza de laborator nu poate fi efectuată la locul de prelevare, este necesară conservarea probelor, utilizându-se agenți de conservare. Aceștia se adaugă la probă imediat după prelevare sau, în prealabil, în recipient, înainte de umplere.
- d) Adăugarea agenților de conservare se face sub formă de soluții relativ concentrate, astfel încât să se folosească volume reduse, ceea ce permite să se neglijeze diluția produsă.
- e) Tehnicile de conservare a probelor, în funcție de parametrul ce urmează a fi determinat, sunt prezentate în tabelul de mai jos:

Nr. crt.	Parametrul	Tehnica de conservare	Timpul de conservare recomandat
1.	pH	Răcire la 2—5°C	6 h
2.	Azot amoniacal, azotați, azotiți, cloruri, fosfați	Răcire la 2—5°C	24 h
3.	Arsen	Acidulare la pH < 1 cu HCl sau HNO ₃	30 de zile
4.	Sulfuri	Se realizează la prelevare prin adăugare de acetat de zinc în mediu alcalin	7 zile
5.	Cianuri	Ajustare la pH > 12 cu NaOH	7 zile
6.	Metale: cadmiu, cupru, plumb, zinc	Acidulare la pH < 2 cu HNO ₃	6 luni
7.	Pesticide: — organoclorurate — organofosforice	Răcire la 2—5°C	7 zile
8.	Substanțe organice oxidabile (CCO)	Acidulare la pH < 2 cu H ₂ SO ₄	6 luni

8. Prelevarea probelor de apă pentru analiza biologică

a) Pentru analiza biologică a apei, prelevarea probelor se realizează de la adâncimi de 10—15 cm sub oglinda apei.

b) Pentru analiza cantitativă a fitoplanctonului se prelevă o cantitate de 1 litru de apă în recipiente din sticlă sau din material plastic.

c) Pentru analiza cantitativă a zooplanctonului se prelevă un volum de 50—100 litri, prin trecere prin fileul planctonic. Volumul de apă care rămâne în paharul fileului planctonic se colectează într-un recipient ermetic închis. Se notează volumul inițial care a fost trecut prin fileul planctonic. Fileul planctonic trebuie să fie confecționat dintr-un material care să permită reținerea organismelor de 60μ.

d) Probele de apă sunt conservate cu aldehydă formică 40%, ce se adaugă probei, astfel încât concentrația finală să fie de 2—3%.

9. Ambalarea probelor de animale acvatice

a) Pentru diagnosticul bolilor virale ale peștilor, probele prelevate constând în pești sub 4 cm, viscere, fragmente de organe, lichid ovarian se introduc într-un tub steril conținând 4 ml mediu de transport, precum mediul Eagle MEM/IC 65, 2% antibiotic, 10% ser fetal bovin. Tuburile cu probe se plasează într-un stativ și sunt etichetate pentru trasabilitate.

b) Pentru diagnosticul bolilor bacteriene și parazitare ale peștilor, exemplarele de pește se ambalează în pungi de plastic, câte 5 bucăți/pungă, dacă au greutatea sub 500 g, și individual, dacă au greutatea peste 500 g/bucată. Pungile sunt strâns legate și etichetate.

c) Probele de moluște și de crustacee sunt ambalate pe specii și sunt împachetate într-un material absorbant îmbibat în apa din zona de creștere. Probele se introduc în pungi de plastic și se etichetează.

d) Probele sunt identificate cu numărul bazinului, specia de pește sau moluște bivalve, întreținerea și locul de procesare, cursul de apă, data, ora și numărul de exemplare prelevate, informații ce sunt inserate și în nota de însoțire a probelor la laborator.

e) Toate probele de pește, moluște bivalve și crustacee, precum și probele de apă se introduc în lăzi frigorifice alături de pungi de gheață sau pachete de glicol congelat, pentru a fi transportate la laborator.

10. Transportul probelor de animale acvatice la laborator

a) Toate probele de pește, moluște bivalve și crustacee sunt transportate la un laborator de diagnostic într-un interval de 12—24 ore și sunt însoțite de formularul prevăzut în anexa nr. 2 la prezenta normă sanitară veterinară.

b) Probele de apă prelevate pentru examenul fizico-chimic și/sau toxicologic se transportă, în funcție de solicitarea de examen, în perioada menționată în tabelul prevăzut la pct. 7 lit. e).

C. Prelevarea probelor de la insecte utile**1. Definiții**

În sensul prezentei norme sanitare veterinare, termenii și expresiile de mai jos au următoarele semnificații:

a) *albine de acoperire* — categoria de albine lucrătoare care îndeplinesc funcția de protecție a puietului depus pe fagure;

b) *familie de albine/colonie de albine* — grupul de indivizi din aceeași specie, care trăiesc împreună, depind unii de alții, prezintă organizare socială proprie și sunt specializați pentru

îndeplinirea unor anumite activități. Familia de albine este alcătuită din următoarele categorii de indivizi: matcă, albine lucrătoare și trântori;

c) *insecte utile* — toate speciile de insecte considerate a fi de importanță economică. Din această categorie fac parte: speciile de albine melifere, bondarii polenizatori, viermii de mătase și specii de bradicere pentru pescuit, inclusiv stadiile de dezvoltare ale acestora, precum ouăle, larvele, nimfele;

d) *oglină stupului* — suprafața de teren de 1 m² din fața urdinișului stupului;

e) *planșeul stupului* — partea inferioară a stupului;

f) *prelevare* — activitatea de recoltare de probe;

g) *probă* — o cantitate definită de material biologic, necesară și suficientă pentru efectuarea unui diagnostic de laborator;

h) *zonă de cules* — zona cu o rază de 3—5 km în jurul stupului, unde există plante melifere.

2. Materiale necesare prelevării de probe de insecte utile

a) echipament apicol de protecție: salopetă din bumbac de culoare albă, mască apicolă, preferabil cu inserție de plasă metalică, mănuși și cizme din cauciuc;

b) trusă entomologică;

c) aspirator apicol pentru prelevare de probe;

d) perie apicolă;

e) dală apicolă;

f) cuști Foti — pentru probe de albine vii;

g) recipiente de sticlă cu capac perforat, cu capacitate de 150 ml, pentru prelevare de probe de albine vii și de larve de pescuit;

h) recipiente din material plastic, de preferat de polietilenă, PTFE, PVC, PET, cu posibilitate de închidere etanșă, cu capacitate maximă de 800 ml, pentru prelevare de probe de insecte utile și probe asociate acestora pentru examen toxicologic;

i) cutii de carton cu dimensiuni de maximum 450 mmx310 mm, optim 150 mmx150mm, cu capac, pentru prelevare de probe de fagure cu conținut;

j) pungi din hârtie de 500 g, pentru prelevare de probe de albine moarte;

k) pungi de hârtie de 250 g, pentru prelevare de probe de viermi de mătase;

l) pungi de plastic cu sistem de etanșeizare;

m) marker permanent;

n) etichete de identificare;

o) cutii termoizolante.

3. Prelevarea probelor

a) Pelevarea de probe de la speciile de albine din genul API se realizează cu îndeplinirea următoarelor condiții:

(i) pentru supraveghere sanitar-veterinară și, în caz de necesitate, pentru diagnosticul bolilor infecțioase și parazitare la albine, numărul probelor prelevate trebuie să reprezinte cel puțin 5 % din efectivul unei stupine de producție și 15% din efectivul unei pepiniere de mătcă;

(ii) perioadele din an indicate pentru realizarea supravegherii sanitar-veterinare active a familiilor de albine și pentru prelevarea de probe pentru examene de laborator sunt prevăzute în următorul tabel:

BOALA notificată	IAN.	FEBR.	MAR.	APR.	MAI	IUN	IUL.	AUG.	SEPT.	OCT.	NOE	DEC.
Loca americană												
Loca europeană												
Acarapioza												
Varrooza												
Nosemoza												
Tropilelapsoza												
Atacul gandacului mic de stup												

Legenda

	Perioada de posibilă evoluție clinică a bolii
	Perioada de evoluție subclinică a bolii

- (iii) pentru prelevarea probelor de albine se poartă în mod obligatoriu echipament de protecție specific;
- (iv) probele de albine vii se prelevă prin măturare cu peria apicolă ori acestea se aspiră cu un dispozitiv special de pe rame și de la urdiniș;
- (v) fragmentele de fagure se prelevă prin decupare între zonele de inserție metalică ale ramei, cu ajutorul unui bisturiu, după îndepărtarea albinelor de acoperire;
- (vi) ramele întregi cu conținut se extrag din stup și se scutură albinele de pe fagure deasupra stupului deschis;
- (vii) pentru prelevarea probelor se folosește numai instrumentar steril;
- (viii) prelevarea se poate realiza concomitent, pentru monitorizarea atât a bolilor infecțioase, cât și a celor parazitare.

b) Probele prelevate trebuie să fie într-o cantitate reprezentativă de material biologic din aceeași specie, astfel:

- (i) pentru boli bacteriene ale albinelor sau ale puietului se prelevă o probă de 25 g albine vii, prelevate de la urdiniș, sau un fragment de 20 cm² de fagure cu puiet căpăcit ori necăpăcit, cu modificări, sau o ramă întregă cu puiet și rezervă de hrană ori miere căpăcită;
 - (ii) pentru boli parazitare ale albinelor sau ale puietului se procedează astfel:
 1. pentru acarapioză se prelevă o probă de 15 g de albine vii din stup;
 2. pentru nosemoză, amibiază și alte endoparazitoze digestive se prelevă o probă de 10 g de albine vii sau moarte de la urdiniș;
 3. pentru varrooză se prelevă o probă de 25 g de albine vii din stup ori 25 g de albine moarte de pe planșeul stupului ori un fragment de 10/15 cm fagure cu puiet căpăcit de trântor sau de albină lucrătoare ori o ramă întregă cu puiet căpăcit sau detritus de pe planșeul stupului;
 4. pentru tropilelapsoză, atacul gândacului mic de stup, galerioză și alte ectoparazitoze ale puietului se prelevă o probă de fragment de fagure cu puiet căpăcit de 10/15 cm² sau o ramă întregă cu puiet căpăcit ori detritusul de pe planșeul stupului;
 - (iii) pentru boli micotice ale albinelor și puietului se prelevă o probă de 10 g de albine moarte de la urdiniș, de pe planșeul și de pe oglinda stupului, sau un fragment de fagure cu puiet căpăcit de 10x15 cm²;
 - (iv) pentru boli virale ale albinelor și puietului se prelevă o probă de 15 g de albine vii din stup sau un fragment de fagure cu puiet căpăcit cu modificări, de 20 cm² ori 10—15 botci cu modificări, din fiecare stupină;
 - (v) pentru examenul toxicologic se prelevă o probă de:
 1. minimum 150 g de albine muribunde sau moarte de pe oglinda stupului, de la urdiniș și din stup; sau
 2. o ramă întregă de fagure cu rezervă de hrană (nectar, miere căpăcită, păstură); sau
 3. minimum 50 g de flori sau minimum 150 g de plante melifere întregi din zona de cules a familiei; sau
 4. minimum 1 litru de apă din sursa de apă a stupinei;
- sau
5. minimum 100 g sol prelevat din oglinda stupului.

c) Prelevarea de probe de la speciile de bondari din genul *BOMBUS* se realizează cu îndeplinirea următoarelor condiții:

- (i) pentru diagnosticul bolilor infecțioase și parazitare ale insectelor utile, probele prelevate reprezintă fiecare categorie de indivizi dintr-o familie, după cum urmează: puiet, albine lucrătoare, trântori și mătci tinere de iernare;

- (ii) la prelevarea probelor de bondari se poartă echipament de protecție specific;
- (iii) probele de bondari vii din stupi se prelevă după congelarea cutiei stupului timp de 12 ore, la temperatura de -20°C;
- (iv) puietul din fagure se prelevă cu ajutorul unei pense, după îndepărtarea albinelor lucrătoare;
- (v) pentru prelevarea probelor se folosește instrumentar steril;
- (vi) prelevarea se poate realiza concomitent, pentru monitorizarea atât a bolilor infecțioase, cât și a celor parazitare de insecte utile.

d) Probele prelevate de la speciile de bondari din genul *BOMBUS* trebuie să fie într-o cantitate reprezentativă de material biologic din aceeași specie; prelevarea probelor se realizează cu îndeplinirea următoarelor condiții:

- (i) pentru boli virale, bacteriene și micotice ale bondarilor adulți sau ale puietului se prelevă o probă de minimum 10 bondari vii din stup sau de minimum 20 larve ori nimfe cu modificări;
- (ii) pentru boli parazitare ale bondarilor adulți sau ale puietului se prelevă o probă de minimum 10 bondari vii sau morți din stup ori de minimum 20 de celule cu puiet căpăcit;
- (iii) pentru examen toxicologic se prelevă o probă de minimum 150 g de rezervă de hrană din sursa de hrană a stupului sau de minimum 150 g de bondari muribunzi ori morți.

e) Prelevarea de probe de la speciile de viermi/fluturi de mătase din genurile *BOMBYX*, *PHYLOSAMIA* și *ANTHERAEA* se realizează astfel:

- (i) pentru supraveghere sanitar-veterinară și, în caz de necesitate, pentru diagnosticul bolilor infecțioase și parazitare ale insectelor utile, probele se prelevă pe rase și loturi de creștere, din fiecare spațiu destinat unei etape din tehnologia de creștere;
- (ii) pentru prelevarea probelor se folosește instrumentar steril și echipament corespunzător;
- (iii) probele trebuie să fie în cantitate reprezentativă de material biologic din aceeași specie, astfel:

1. pentru bolile virale, bacteriene, micotice și parazitare, probele pentru examenele de laborator se constituie din larve vii, un număr de minimum 30—50 de larve mici/probă, pentru vârstele I—III, sau de minimum 15—20 larve mari/probă, pentru vârstele IV—V, ori de minimum 15—20 crisalide, fluturi vii/probă sau din 0, 25 g ouă/probă;

2. pentru examenul toxicologic, probele sunt alcătuite din 150 g/probă larve muribunde sau moarte, în diferite stadii de dezvoltare, și/sau 150 g/probă frunză de dud/ricin/stejar.

f) Prelevarea de probe de larve de insecte din ordinul *Diptera* (viermi de pescuit).

Proba prelevată pentru bolile virale, bacteriene, micotice și parazitare ale insectelor utile și pentru efectuarea examenului toxicologic, precum și pentru contaminarea radioactivă constă în minimum 150 g de larve vii.

4. Ambalarea probelor de insecte utile

a) Probele de albine vii se prelevă în cuști „Foti” mini-stupi. În lipsa acestora, se pot folosi recipiente curate, din plastic sau din sticlă, acoperite cu capace perforate. În astfel de recipiente se pot preleva și probele de bondari vii. Aceste recipiente se pot ambala în cutii de transport confecționate din carton, prevăzute cu capac perforat și orificii laterale pentru asigurarea unei ventilații permanente.

b) Probele de albine sau de bondari morți se prelevă în pungi sau în cutii din carton. Acestea se ambalează în pungi de plastic, în vederea transportării în condiții de siguranță la laborator.

c) Probele de fagure cu puiet căpăcit sau necăpăcit ori de faguri cu rezervă de hrană se ambalează în cutii din carton cu capac.

d) Probele de apă se prelevă în recipiente de sticlă sau de material plastic. În cazul în care analiza nu poate fi făcută la locul de prelevare, este necesară conservarea specifică a probelor pentru trimitere la laborator, utilizându-se agenți de conservare.

e) Probele de floră meliferă, frunze de dud, ricin, stejar și probele de sol se ambalează în pungi de plastic sau în alte tipuri de recipiente închise etanș.

f) Probele de ouă de viermi de mătase, larve de viermi de mătase ori de fluturi se ambalează în pungi de hârtie sau în cutii din carton cu capac perforat, pe substrat de hârtie absorbantă.

g) Probele de larve pentru pescuit se ambalează în recipiente din plastic cu capac perforat, pe suport de material absorbant, precum talașul.

h) Probele prelevate sunt identificate prin numerotare, iar datele sunt înscrise și în nota de însoțire a probelor.

i) Ambalarea probelor și etichetarea acestora se realizează cu respectarea reglementărilor naționale specifice.

5. Transportul probelor de insecte utile la laborator

a) Pentru materialul biologic prelevat viu, probele sunt transportate la laborator în maximum 24 de ore din momentul prelevării, la temperatura mediului ambiant. Aceasta nu trebuie să depășească maximum 38°C.

b) Pentru materialul biologic prelevat după survenirea morții, probele se transportă la laborator în cel mai scurt timp posibil, nu mai târziu de 72 de ore de la moartea insectelor. Transportul acestor probe se realizează pe gheață naturală sau artificială, în recipiente izoterme care mențin temperatura de refrigerare.

c) Probele prelevate pentru examenul toxicologic și care nu pot fi transportate în timp util la laborator se congelează până la expediere.

d) Probele prelevate sunt însoțite de documente de însoțire tipizate, conform legislației sanitar-veterinare în vigoare. Se analizează cererea de ofertă și, în funcție de scopul prelevării probelor, se completează formularele prezentate la anexele nr. 3 și 4.

e) Prelevarea, ambalarea și transportul probelor sunt efectuate de direcția sanitar-veterinară și pentru siguranța alimentelor județeană, respectiv a municipiul București, prin serviciile acesteia, sau de alt personal abilitat în acest scop.

f) Probele care constituie obiectul unui litigiu se sigilează conform procedurilor legale în vigoare.

g) Odată cu prelevarea probelor se completează formularul ce va însoți probele, alături de adresa de însoțire, de istoricul bolii și de anexele nr. 3 și 4.

CAPITOLUL X

Probe destinate examenelor de laborator pentru ecopatologie și protecția mediului

A. Probe de apă

1. **Recipientele pentru prelevarea probelor de apă trebuie să îndeplinească următoarele condiții:**

a) să conserve compoziția probei, evitându-se pierderile prin absorbție, evaporare sau contaminare cu substanțe străine;

b) să reziste la temperaturi extreme;

c) să reziste la șocuri mecanice;

d) să aibă facilitatea de închidere etanșă și de redeschidere ușoară.

2. **Prelevarea probelor de apă pentru examenul fizico-chimic se realizează cu îndeplinirea următoarelor condiții:**

a) se prelevă o cantitate suficientă de probă, recipientele umplându-se până la dop și închizându-se etanș;

b) analiza probelor se face cât mai repede posibil;

c) recipientul folosit nu trebuie să contamineze apa;

d) recipientul de prelevare este confecționat din materiale ce se pot curăța ușor.

3. **Prelevarea probelor de apă pentru examen bacteriologic se realizează cu îndeplinirea următoarelor condiții:**

a) se folosesc flacoane de sticlă cu dop de sticlă rodat sau cu capac metalic cu filet ori flacoane de plastic sterile, dopul și gâtul sticlei fiind protejate cu înveliș de hârtie ori de pergament sau cu folie subțire de aluminiu;

b) pentru prelevarea unei cantități suficiente de probă de apă, recipientele se umplu până la aproximativ 1 cm sub dop și se închid etanș;

c) când se prelevă mai multe probe din același loc, se recomandă ca proba destinată examenului bacteriologic să fie prelevată prima, pentru a împiedica contaminarea punctului de recoltare în timpul prelevării altor probe;

d) înainte de sterilizare se adaugă 0,1 ml soluție 3% de tiosulfat de sodiu cristalin la un flacon de 170 ml;

e) recipientele sterile sunt păstrate nedeschise până în momentul prelevării probei de apă;

f) în timpul prelevării, dopul și gâtul sticlei nu trebuie să atingă niciun obiect, iar sticla trebuie ținută aproape de partea ei inferioară;

g) în cazul probei de apă prelevate de la robinet, acesta din urmă este curățat și sterilizat prin flambare, iar proba de apă se prelevă după un timp de curgere de două minute;

h) probele de apă se trimit la laborator cât mai repede posibil, astfel încât examenul bacteriologic să se efectueze în mai puțin de 6 ore de la prelevarea probelor;

i) în cazul întârzierii, probele de apă se pot filtra la locul de prelevare, iar membrana de filtrare se poate pune pe un burete absorbant saturat cu mediu de transport prevăzut în SR ISO 5667-2, într-o placă Petri.

4. Etichetarea probelor de apă prelevate

a) Probele de apă prelevate se etichetează clar, vizibil și durabil.

b) Probele de apă prelevate sunt însoțite pe durata transportului la laborator de o notă de însoțire a probelor, care cuprinde date referitoare la:

(i) amplasarea locului de prelevare;

(ii) punctul de prelevare;

(iii) data prelevării;

(iv) metoda de prelevare folosită;

(v) scopul utilizării apei prelevate;

(vi) scopul analizei solicitate;

(vii) condițiile meteorologice;

(viii) natura eventualei pretratări;

(ix) agenții de conservare sau stabilizare folosiți;

(x) numele persoanei care a efectuat prelevarea.

5. Conservarea probelor de apă prelevate

a) Probele de apă sunt ținute la o temperatură inferioară celei din momentul prelevării.

b) În vederea conservării pe termen scurt a probelor de apă, acestea sunt refrigerate la o temperatură de 2—5°C.

c) Congelarea la temperatura de -20°C mărește timpul de conservare; se folosesc în acest scop recipiente de polietilenă.

d) O metodă de conservare care poate fi utilizată este adaosul de agenți de conservare, prevăzuți în SR ISO 5667-3, înainte sau după prelevare, în cantități mici, dar în concentrații mari.

6. Transportul probelor de apă prelevate la laborator se realizează cu îndeplinirea următoarelor condiții:

- a) să fie rapid;
- b) să se asigure condiții de refrigerare sau de congelare;
- c) să se realizeze în recipiente care sunt protejate pe durata transportului, pentru a nu se deteriora și a nu pierde din conținut;
- d) să se asigure că ambalajele în care se pun recipientele realizează protecția acestora față de o posibilă contaminare, mai ales în zona închiderii;
- e) să se realizeze astfel încât recipientul să nu reprezinte o sursă de poluare a probei prelevate.

B. Probe de sol

1. Prelevarea probelor de sol

a) Prelevarea de la suprafață se efectuează după îndepărtarea stratului de vegetație sau a altor materiale depuse pe suprafața solului, cu ajutorul unei cazmale. Probele se prelevă din 30 în 30 m, astfel încât să se acopere întreaga suprafață de teren supusă examinării.

b) Prelevarea din profunzime se realizează prin săparea unei gropi cu pereții verticali. Prelevarea probelor parțiale se efectuează din pereți, începând cu fundul gropii spre suprafață, folosindu-se cazmaua sau lopățița. Pentru adâncimi mai mari se folosesc sondele sau sfredelul Fränken.

c) Probele prelevate constituie probe parțiale sau individuale.

d) Mai multe probe parțiale comasate și omogenizate constituie proba medie sau individuală.

e) Probele medii sau individuale de sol sunt fie în cantitate de 2—4 kg, pentru examenul fizico-chimic, fie de 200—300 g, pentru examenul bacteriologic și parazitologic.

2. Ambalarea și etichetarea probelor de sol

a) Probele de sol se ambalează în borcane de sticlă cu capac sau în pungi de polietilenă sterile și apoi se etichetează. Pe etichetă se trec următoarele date: numărul probei de sol, cantitatea și locul de proveniență a solului.

b) Probele de sol se trimit la laborator cu nota de însoțire, în care se prevăd:

- (i) unitatea de expediere și adresa acesteia, precum și numele persoanei care a efectuat prelevarea probei de sol;
- (ii) locul și adâncimea de prelevare, data prelevării și data expedierii probelor la laborator;
- (iii) scopul prelevării și examenul solicitat — fizic, chimic, bacteriologic sau parazitologic.

c) Expedierea probelor de sol la laborator se face cât mai repede posibil, pentru realizarea examenului bacteriologic și a examenului parazitologic.

d) Înainte de expediere, probele de sol destinate examenului fizico-chimic se întind în tăvi metalice pentru uscare la temperatura camerei și apoi se mărunțesc, păstrându-se structura granulară.

3. Transportul și păstrarea probelor de sol la laborator

În timpul transportului, probele sunt protejate de acțiunea directă a razelor solare și se evită păstrarea acestora mai mult de 24 de ore la frigider.

C. Probe de sanitație

1. Probele de sanitație sunt reprezentate de resturi de materie organică prelevate de pe diferite suprafețe decontaminate dintr-un obiectiv.

2. Prelevarea probelor de sanitație

a) Prelevarea probelor de sanitație se execută prin ștergerea suprafeței de testat, astfel încât să se acopere o suprafață de 100 cm² (10 cm x 10 cm), folosindu-se un șablon.

b) Dacă suprafața de testat este umedă, tamponul nu se mai umezește înainte de folosire.

c) Dacă suprafața de testat este uscată, se umește suprafața cu ser fiziologic, se folosesc tamponi sterile și tuburi cu soluția de clătire.

d) Suprafața de pe care se face prelevarea probelor trebuie să reprezinte cel puțin 1/10.000 din suprafața totală supusă decontaminării.

e) 30% din suprafețele alese pentru prelevare trebuie să fie din locurile cele mai greu accesibile operațiunilor de curățare, iar 70% trebuie să fie suprafețe cu care animalele intră frecvent în contact.

f) Prelevarea probelor de sanitație se realizează din minimum 10 puncte, pentru obiectivele mai mici de 1.000 m², și se execută la cel mult 24 de ore de la aplicarea substanțelor decontaminante.

g) Probele se individualizează prin etichete și se trimit la laborator cu nota de însoțire și cu tabelul de individualizare a probelor.

3. Transportul și păstrarea probelor de sanitație

În timpul transportului, probele sunt protejate de acțiunea directă a razelor solare și se evită, pe cât posibil, păstrarea acestora mai mult de 24 de ore la frigider.

D. Probe pentru reproducție

1. Probe de material seminal

Pentru materialul seminal se execută următoarele examinări: bacteriologică, micologică, parazitologică și virusologică.

2. Prelevarea probelor de material seminal

a) Probele de material seminal sunt prelevate de la masculi de reproducție (taur, vier etc.) din centrele specializate tip SEMTEST și se transportă la laborator în containere speciale cu azot lichid.

b) Probele de material seminal congelat de taur, prezervat sub formă de paiete, se prelevă direct din containerul cu azot lichid.

c) Identificarea probelor de material seminal se realizează prin:

- (i) numele, nr. matricol, codul taurului și data de recoltare a fiecărei șarje, înscrisă pe paietă;
- (ii) probele de material seminal de vier se prelevă în flacoane sterile din material plastic, cu capacitatea de 50—100 ml, identificate ca la pct. (i).

d) Probele se trimit către laborator cu:

- (i) o notă de însoțire în care se înscriu unitatea și adresa expeditorului, data recoltării, data expedierii și examenele solicitate;
- (ii) un tabel cu datele de identificare ale fiecărei probe.

3. Transportul probelor de material seminal

a) Probele de material seminal congelat sunt transportate în containere cu azot lichid, în vederea asigurării temperaturii optime de conservare.

b) Probele de material seminal refrigerat de vier sunt transportate în recipiente care asigură o temperatură optimă de 0—4°C, în vederea menținerii funcțiilor vitale ale spermatozoizilor.

4. Păstrarea probelor de material seminal

a) Pastrarea probelor de material seminal se realizează în containere cu azot lichid, în care nivelul optim al azotului este monitorizat periodic și, după caz, se realizează completarea containerului cu azot.

b) Probele de material seminal refrigerat se păstrează la temperatura de 0—4°C, maximum 2—3 zile.

CAPITOLUL XI

Dispoziții finale și tranzitorii

Anexele nr. 1—4 fac parte integrantă din prezenta normă sanitară veterinară.

**CANTITĂȚILE ȘI MODUL DE PREZENTARE
A PROBELOR DESTINATE EXAMENELOR DE LABORATOR**

1. Examen parazitologic

Nr. crt.	Tipul probei	Cantitatea necesară pentru analiză	Prezentarea probei (caracteristici identificabile vizual)
1. Probe de la animale în viață			
	a) Sânge pe anticoagulant	2 ml	Tuburi cu dop filetat — probe proaspete sau conservate la temperatura de 4°C
	b) Material seminal	0,5 ml	Paiete, microtuburi sterile
	c) Lână, pene, păr	5 g lână, 1—2 g păr, 3 pene	Pungi de plastic etichetate — probele trebuie să fie întregi
	d) Ectoparaziți	minimum 3 exemplare	Tuburi cu dop — probe conservate la rece
	e) Endoparaziți	1—2 paraziți întregi	Tuburi cu dop etichetate — probe conservate: cestodele în alcool de 70%, nematodele în soluție Barbagallo, 30% formol în ser fiziologic, protozoarele în formol 5-10%
2. Probe de la cadavre de animale			
	a) Porțiuni de intestin, cecum	10 g	Prelevate în pungi de plastic, etichetate — probe în stare proaspătă sau conservate la temperatura de 4°C
	b) Porțiuni de ficat	50—100 g	Prelevate în pungi de plastic, etichetate — probe în stare proaspătă sau conservate la temperatura de 4°C
	c) Porțiuni pulmon	10—12 g	Prelevate în pungi de plastic etichetate — probe în stare proaspătă sau conservate la temperatura de 4°C
	d) Splină	20 g	Prelevate în pungi de plastic etichetate — probe în stare foarte proaspătă
	e) Musculatură: pilieri diafragmatici, mușchi intercostali, maseteri și ai limbii	20—40 g — trichineloscopie directă, 100 g digestie artificială	Prelevate în pungi de plastic etichetate — probe în stare proaspătă sau conservate la temperatura de 4°C
	f) Rinichi	Proba trebuie să conțină un rinichi	Prelevate în pungi de plastic etichetate — proba să fie foarte proaspătă
3. Probe de:			
	a) Furaj	50—100 g	Prelevate în pungi de plastic, etichetate
	b) Apă	50 ml	Tuburi cu dop etanș etichetate
	c) Sol	10—20 g	Pungi de plastic, etichetate
	d) Așternut	50—100 g	Pungi de plastic, etichetate
Toate probele se trimit cu notă de însoțire și individualizate prin etichetare			

2. Examen micologic-micotoxicologic

Nr. crt.	Tipul probei	Cantitatea necesară pentru analiză	Prezentarea probei (caracteristici identificabile vizual)
1.	Furaje	1 kg	În pungi de hârtie sau material plastic, cutii sau borcane cu dop rodat, etichetate Etichetare: denumirea unității care expediază proba; denumirea destinatarului, felul produsului și tipul; mărimea și numărul lotului; locul și data recoltării probelor; destinația probelor; numele și semnătura persoanelor care au prelevat probele
2.	Avortonii de la toate speciile de animale		În saci de plastic etichetați
3.	Tineretul aviar, ovin, bovin în vârstă de 0—30 de zile și tineretul porcîn în vârstă de 0—60 de zile		În saci de plastic etichetați
4.	Ouă embrionare		În cofraje etichetate, pentru a se evita spargerea acestora
5.	Secreții și excreții		Prelevate în eprubete sterile, cu tamponare sterile, etichetate
6.	Păr, cruste, scuame		Prelevate în ambalaje sterile, etichetate
Toate probele se trimit cu notă de însoțire și individualizate prin etichetare			

3. Examen imunologic

Nr. crt.	Tipul probei	Cantitatea necesară pentru analiză	Prezentarea probei (caracteristici identificabile vizual)
1.	Ser sanguin	Minimum 100 µl pentru o analiză RSAR	a) identificare numerică individuală lizibilă b) fără aspect de hemoliză sau de contaminare
2.	Ser sanguin	Minimum 500 µl pentru o analiză SAT, macrometodă	a) identificare numerică individuală lizibilă b) fără aspect de hemoliză sau de contaminare
3.	Ser sanguin	Minimum 50 µl pentru o analiză SAT, micrometodă	a) identificare numerică individuală lizibilă b) fără aspect de hemoliză sau de contaminare
4.	Ser sanguin	Minimum 500 µl pentru o analiză RFC, macrometodă	a) identificare numerică individuală lizibilă b) fără aspect de hemoliză sau de contaminare
5.	Ser sanguin	Minimum 300 µl pentru o analiză RFC, micrometodă	a) identificare numerică individuală lizibilă b) fără aspect de hemoliză sau de contaminare
6.	Ser sanguin	Minimum 50 µl pentru o analiză RMA	a) identificare numerică individuală lizibilă b) fără aspect de hemoliză sau de contaminare
7.	Ser sanguin	Minimum 100 µl pentru o analiză ELISA. În funcție de trusă	a) identificare numerică individuală lizibilă b) fără aspect de contaminare
8.	Plasma sanguină	Minimum 150x3 µl pentru o analiză ELISA pentru tuberculoză	a) identificare numerică individuală lizibilă b) fără aspect de hemoliză c) plasmă sanguină sterilă

Toate probele se trimit cu notă de însoțire și individualizate prin etichetare

NOTĂ:

- În cazul probelor care necesită păstrarea de contraprobe, cantitatea prevăzută în tabel se va dubla.
- Cantitățile menționate în tabel sunt necesare unei analize și unei repetări, dacă se impune.

4. Examen toxicologic-chimic

Nr. crt.	Tipul probei	Cantitatea necesară pentru analiză	Prezentarea probei (caracteristici identificabile vizual)
1.	Conținut gastric	Minimum 30 g	Proaspăt prelevat, ambalat în recipiente etanșe și transportat în cutii frigorifice pentru a împiedica modificările de pH, individualizat și etichetat
2.	Organe	Minimum 30 g	Proaspăt prelevate, ambalate în recipiente etanșe, proaspete sau congelate, transportate în cutii frigorifice pentru a împiedica alterarea, individualizate prin etichetare sau altfel
3.	Sânge pe anticoagulant	Minimum 5 ml pentru examen toxicologic	Probe prelevate în vacutainere destinate, individualizate, transportate la temperatura de 4°C; pentru methemoglobină se transportă la laborator în maximum 4 ore de la prelevare
4.	Ser	2-3 ml pentru examen toxicologic	Prelevat în eprubete cu dop, nehemolizat, transportat proaspăt recoltat sau congelat și etichetat
5.	Păr	4 g pentru examen toxicologic	Prelevat în pungi de material plastic sau în recipiente, individualizat
6.	Furaje	500 g pentru examen toxicologic	Prelevate în ambalaje curate, pungi de material plastic sau în recipiente, individualizat
7.	Apă	1 l pentru examen toxicologic	Prelevată în recipiente curate, închise etanș. Se transportă la laborator în maximum 4 ore de la prelevare sau se conservă conform STAS 6329/77, specificându-se conservantul folosit, individualizată
8.	Momeli	30 g	Nealterate, recoltate în recipiente sau pungi de plastic curate, etichetate

Toate probele se trimit cu notă de însoțire și individualizate prin etichetare

NOTĂ:

Pentru analiza probelor de creier, conținutului ingluvial și a conținutului stomacal muscular, provenite de la pui mici ori mijlocii, se trimit pentru analiză mai multe capete, pipote și stomac muscular, în vederea efectuării de probe medii.

Produs electronic destinat exclusiv informării gratuite a persoanelor fizice asupra actelor ce se publică în Monitorul Oficial al României

5. Examen pentru viroze majore

Nr. crt.	Tipul probei	Cantitatea necesară pentru analiză	Prezentarea probei (caracteristici identificabile vizual)
1.	Ser pentru A 150	0,7—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
2.	Ser pentru A 160	0,7—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
3.	Tampoane traheale, tampoane cloacale pentru A 150, A 160	—	Pe mediu TFS, antibiotice, identificate
4.	Organe pentru A 150	Fragmente 1 g	Proaspete, identificate
5.	Ser pentru A 090	0,7—1 ml	Nehemolizat, nealterat — fără turbiditate, identificat
6.	Ser pentru A 110	0,7—1 ml	Nehemolizat, nealterat — fără turbiditate, identificat
7.	Ser pentru A 010	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat — fără turbiditate, identificat
8.	Ser pentru A 030	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat — fără turbiditate, identificat
9.	Ser pentru A 040	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat — fără turbiditate, identificat
10.	Ser pentru A 050	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat — fără turbiditate, identificat
11.	Ser pentru A 120	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat — fără turbiditate, identificat
12.	Ser pentru A 130	1 ml	Nehemolizat, nealterat — fără turbiditate, identificat
13.	Sânge pe anticoagulant pentru A 130	Minimum 5 ml	Identificat
14.	Ser pentru A 130	Obligativ primele 3 sternebre	Transportat în condiții de refrigerare în ladă termoizolantă cu pungi de gheață și identificat
15.	Tonsile, rinichi, splină, ileon, limfonoduri limfactice, pentru A 130	Fragmente	Proaspete, transportate în ladă termoizolantă, ambalate individual și bine identificate

Toate probele se trimit cu notă de însoțire și individualizate prin etichetare

6. Examen pentru alte boli virale

Nr. crt.	Tipul probei	Cantitatea necesară pentru analiză	Prezentarea probei
1.	Ser pentru B 108	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
2.	Ser pentru B 205	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
3.	Ser pentru B 257	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
4.	Ser pentru B 254	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
5.	Ser pentru B 052	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
6.	Ser pentru B 153	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
7.	Ser pentru B 161	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
8.	Ser pentru B 110	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
9.	Ser pentru B 206	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
10.	Ser pentru B 208	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
11.	Ser pentru B 211	1—2 ml	Nehemolizat, nealterat, în tuburi sterile, identificat
12.	Ser pentru B 301	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
13.	Ser pentru B 309	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
14.	Ser pentru B 353	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
15.	Ser pentru C 652	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat
16.	Ser pentru SIBE	0,5—1 ml	Nehemolizat, nealterat, identificat

Toate probele se trimit cu notă de însoțire și individualizate prin etichetare

7. Examen hematologic

Tipul probei	Cantitatea necesară pentru analiză	Prezentarea probei (caracteristici identificabile vizual)
Sânge	3 ml	Prelevat în vacutainere, pe EDTA, etichetate, având datele specificate complet și lizibil, însoțite în mod obligatoriu de tabel, fișă de recoltare, date anamnetice, rasă, vârstă, sex, stare fiziologică și semne clinice

FORMULAR ÎNREGISTRARE PROBE PENTRU
SPECIILE DE ANIMALE ACVATICEDate/informații de la serviciile veterinare pentru
investigarea materialului de la animalele de acvacultură

Scopul investigației	Supraveghere	Diagnostic	Altele
Numele unității			
Adresa unității			
Proprietar/Persoană responsabilă			
Unitatea	Fermă de pește de apă dulce	Fermă de moluște	Fermă de raci
Specia și vârsta	Păstrăv curcubeu	Păstrăv fântânel	Ciprinide autohtone
Temperatura apei:	Ciprinide est-asiatice	Raci	Lostrită
Salinitate:	Moluște bivalve (midii)	Moluște bivalve (stridii)	Alte specii*)

Investigația	IHN/VHS/IPN		Furunculoza	Yersinioza	BKD	VPC	Mixosomiaza	Martelioza	Bona-mioza	Haplosporidioza	Alte boli*)
	Reproducție	Producție									
Organe pește											
Pește											
Puiet											
Icre, lapți											
Midii/Stridii											
Alte*)											

Cerințe speciale	
------------------	--

Simptome clinice/autopsie	
Medicul veterinar numit	Data

*) Se vor specifica.

FORMULAR ÎNREGISTRARE PROBE PENTRU
SPECIILE DE ALBINEDate/informații de la serviciile veterinare pentru
investigarea materialului de la albine

Scopul investigației	Supraveghere	Diagnostic	Altele
DSVSA			
Numele unității			
Adresa unității			
Proprietar/Persoană responsabilă			
Unitatea	Fermă: crescătorie mătci		Fermă: producție
Specia	<i>Apis mellifica carpatica</i>	Alte specii	

Investigația	Loca americană	Loca europeană	Acarioză	Varrooză	Brauloză	Nosemoză	Amibioză	Aspergiloză	Ascosferoză	VPA	VPC	PS	BBN	Alte boli
Albine														
Fagure cu puiet														
Mătci														
Altele														

Cerințe speciale	
------------------	--

Simptome clinice/ Anatomopatologic	
---------------------------------------	--

Medicul veterinar	Data
-------------------	------

FORMULAR ÎNREGISTRARE PROBE PENTRU
SPECIILE DE VIERMI DE MĂTASEDate/informații de la serviciile veterinare pentru
investigarea materialului de la speciile de viermi

Scopul investigației	Supraveghere	Diagnostic	Altele
Numele unității			
Adresa unității			
Proprietar/Persoană responsabilă			
Unitatea	Fermă: producătoare o.v.m.	Fermă: producătoare gogoși	
Specia	<i>Bombyx mori</i>	<i>Phylosamia ricini</i>	Alte specii

Investigația	Poliedrie	Flașerie	Anemia infecțioasă	Septicemie	Nosemoză	Muscardină	Aspergiloză	Alte boli
Larve								
Fluturi								
Ouă (o.v.m.)								
Altele								

Cerințe speciale	
------------------	--

Simptome clinice/ Anatomopatologic	
---------------------------------------	--

Medicul veterinar numit	Data
-------------------------	------

TARIFE

pentru publicarea unor acte în Monitorul Oficial al României care se aplică începând cu data de 1 ianuarie 2008

1. MONITORUL OFICIAL AL ROMÂNIEI, PARTEA I

- 1.1. Ordine ale miniștrilor, precizări, instrucțiuni, criterii, norme metodologice emise de organe ale administrației publice centrale și de alte instituții publice, care nu sunt prevăzute de Legea fundamentală în art. 78, 100, 108, 115 și 147 55 lei/pag. manuscris
- 1.2. Deciziile pronunțate de secțiile unite ale Înaltei Curți de Casație și Justiție 55 lei/pag. manuscris
- 1.3. Anunțuri prevăzute de Legea nr. 334/2006 55 lei/pag. manuscris

2. MONITORUL OFICIAL AL ROMÂNIEI, PARTEA A III-A

- 2.1. Pierderi de acte, schimbări de nume, citații emise de instanțele judecătorești 20 lei/anunț
- 2.2. Acte ale instanțelor judecătorești a căror publicare este prevăzută de lege: citații la care numărul persoanelor citate este mai mare de 1, ordonanța judecătorească privind pierderea, sustragerea sau distrugerea cecului ca instrument de plată, a cambiei și a biletului la ordin, ordonanța de clasare a comisiei de cercetare a averilor/hotărârea irevocabilă a instanței judecătorești, prin care se constată că proveniența bunurilor este justificată, alte acte procedurale a căror publicare este prevăzută de lege 70 lei/pag. manuscris
- 2.3. Deciziile Colegiului Consiliului Național pentru Studierea Arhivelor Securității 70 lei/pag. manuscris
- 2.4. Concursuri pentru ocuparea posturilor didactice în învățământul superior și a posturilor vacante de funcționari publici, precum și alte concursuri prevăzute de lege 70 lei/pag. manuscris
- 2.5. Extras-cerere pentru dobândirea sau renunțarea la cetățenia română 90 lei/anunț
- 2.6. Alte acte a căror publicare este prevăzută de lege: raportul periodic de activitate al autorităților/instituțiilor publice, raportul Consiliului Superior al Magistraturii și raportul privind starea justiției, declarații de avere, bilanțuri de ocupare a forței de muncă pe județe și la nivel național, alte acte a căror publicare este prevăzută de lege 60 lei/pag. manuscris
- 2.7. Publicații cu prezentare tabelară 5 lei/rând tabel

3. MONITORUL OFICIAL AL ROMÂNIEI, PARTEA A IV-A

- 3.1. Publicarea integrală sau în extras a încheierilor judecătorului-delegat pentru autorizarea constituirii societăților comerciale și de înmatriculare a acestora, precum și publicarea încheierilor de rectificare, în extras 31,5 lei/pag. manuscris
- 3.2. Publicarea în extras a încheierii de rectificare, a încheierii de autorizare și înmatriculare a societăților comerciale 31,5 lei/pag. manuscris
- 3.3. Publicarea următoarelor acte: proiecte de fuziune/divizare, acte adiționale, somații, convocări AGA, hotărâri AGA, acte de numire a lichidatorilor, bilanțuri contabile ale lichidatorilor, raportări ale cenzorilor în caz de lichidare, bilanțuri ale băncilor, hotărâri judecătorești a căror publicare e prevăzută de lege, alte acte a căror publicare e prevăzută de lege 100 lei/pag. manuscris
(2.000 semne/pag. manuscris)

4. MONITORUL OFICIAL AL ROMÂNIEI, PARTEA A V-A

- 4.1. Publicarea contractelor colective de muncă încheiate la nivel național și de ramură Tariful se calculează în funcție de numărul de pagini și de tirajul comandat

5. MONITORUL OFICIAL AL ROMÂNIEI, PARTEA A VI-A

- 5.1. Publicarea anunțurilor prevăzute de Ordonanța de urgență a Guvernului nr. 34/2006 privind atribuirea contractelor de achiziție publică, a contractelor de concesiune de lucrări publice și a contractelor de concesiune de servicii 55 lei/pag. manuscris
- 5.2. Publicarea anunțurilor prevăzute de Ordonanța de urgență a Guvernului nr. 54/2006 privind regimul contractelor de concesiune de bunuri proprietate publică 55 lei/pag. manuscris
- 5.3. Alte acte a căror publicare e prevăzută de lege 55 lei/pag. manuscris
- 5.4. Publicații cu prezentare tabelară 5 lei/rând tabel

6. MONITORUL OFICIAL AL ROMÂNIEI, PARTEA A VII-A

- 6.1. Publicarea încheierii judecătorului-delegat de înmatriculare a societății cooperative 31,5 lei/pag. manuscris
- 6.2. Publicarea următoarelor acte: proiecte de fuziune/divizare vizate de judecătorul-delegat, acte adiționale, hotărâri AGA prin care se aprobă situația financiară anuală sau se majorează capitalul social > 10%, acte de dizolvare a societății cooperative, alte modificări ale actului constitutiv al societății absorbante, act de numire a lichidatorilor, publicarea hotărârii irevocabile a tribunalului de anulare a hotărârii AGA, alte acte a căror publicare este prevăzută de Legea nr. 1/2005 privind organizarea și funcționarea cooperației 100 lei/pag. manuscris
- 6.3. Publicații cu prezentare tabelară 5 lei/rând tabel

Societăți ce preiau anunțuri pentru publicarea în Monitorul Oficial al României

- ◆ ACTA LEGIS — S.R.L. — București, Str. Lirei nr. 11, parter, ap. 1, sector 2 (telefon/fax: 411.91.79; 411.54.08)
- ◆ MIMPEX — S.R.L. — Hunedoara, Str. Ion Creangă nr. 2, bl. 2, ap. 1 (telefon/fax: 0254/71.92.43)
- ◆ ASTOR PRESS CD — S.R.L. — Iași, Str. Piața Unirii nr. 2 (telefon/fax: 0332/80.30.69)
- ◆ EUROPSISTEM — S.R.L. — Iași, Str. Răzoarelor nr. 6 (telefon/fax: 0232/21.09.99)
- ◆ CONSIR EXCLUSIV — S.R.L. — Pitești, str. Trivale nr. 3, bl. 27, sc. D, et. 1, ap. 5 (telefon: 0248/27.42.27; 0722.660.510)
- ◆ PRESS EXPRES — S.R.L. — Otopeni, str. Flori de Câmp nr. 9 (telefon/fax: 221.05.37; 0745.133.712)
- ◆ MEMORIAL SERV COM — S.R.L. — Craiova, str. Romain Rolland nr. 30, (telefon/fax: 0251/41.42.52)
- ◆ CONSULTIA GRUP — S.R.L. — București, Calea Moșilor nr. 262, bl. 8, sc. A, ap. 23 (telefon/fax: 337.00.00; 337.00.01)

EDITOR: PARLAMENTUL ROMÂNIEI — CAMERA DEPUTAȚILOR

„Monitorul Oficial” R.A., Str. Parcului nr. 65, sectorul 1, București; C.I.F. RO427282,
IBAN: RO55RNCB0082006711100001 Banca Comercială Română — S.A. — Sucursala „Unirea” București
și IBAN: RO12TREZ7005069XXX000531 Direcția de Trezorerie și Contabilitate Publică a Municipiului București
(alocat numai persoanelor juridice bugetare)

Tel. 318.51.29/150, fax 318.51.15, e-mail: marketing@ramo.ro, internet: www.monitoruloficial.ro

Adresa pentru publicitate: Centrul de vânzări și informare, București, șos. Panduri nr. 1,
bloc P33, parter, sectorul 5, tel. 411.58.33 și 410.47.30, fax 410.77.36 și 410.47.23

Tiparul: „Monitorul Oficial” R.A.



5 948368 280731