

KOMMISJONSDIREKTIV 98/88/EF**2001/EØS/46/13****av 13. november 1998****om fastsettelse av retningslinjer for identifikasjon av og anslag over bestanddeler av animalsk opprinnelse ved mikroskopundersøkelse i forbindelse med offentlig kontroll av fôrvarer(*)**

KOMMISJONEN FOR DE EUROPEISKE FELLESKAP HAR —

under henvisning til traktaten om opprettelse av Det europeiske fællesskap,

under henvisning til rådsdirektiv 70/373/EØF av 20. juli 1970 om innføring av prøvetakings- og analysemetoder i Fællesskapet i forbindelse med offentlig kontroll av fôrvarer⁽¹⁾, sist endret ved tiltredelsesakten for Østerrike, Finland og Sverige, særlig artikkel 2, og

ut fra følgende betraktninger:

I direktiv 70/373/EØF fastsettes det at den offentlige kontroll av fôrvarer med sikte på å fastslå at krav fastsatt i henhold til lover og forskrifter om fôrvarenes kvalitet og sammensetning er overholdt, skal foretas ved hjelp av Fællesskapets prøvetakings- og analysemetoder.

Ifølge kommisjonsvedtak 94/381/EF av 27. juni 1994 om visse vernetiltak i forbindelse med bovin spongiform encefalopati og om fôring med proteiner fra pattedyr⁽²⁾, sist endret ved vedtak 95/60/EF⁽³⁾, er det forbudt å fôre drøvtyggere med proteinprodukter framstilt av pattedyrvev, med unntak av visse animalske produkter og biprodukter.

Ifølge kommisjonsvedtak 91/516/EØF om fastsettelse av en liste over stoffer som det er forbudt å bruke i fôrblandinger⁽⁴⁾, sist endret ved vedtak 97/582/EF⁽⁵⁾, er det forbudt å bruke proteinprodukter framstilt av pattedyrvev, i fôrblandinger til drøvtyggere.

I artikkel 5c i rådsdirektiv 79/373/EØF av 2. april 1979 om markedsføring av fôrblandinger⁽⁶⁾, sist endret ved kommisjonsdirektiv 97/47/EF⁽⁷⁾, er det fastsatt at alle ingrediensene skal nevnes dersom ingrediensene angis, og at ingrediensene skal oppføres etter bestemte regler, blant annet

at ingredienser i fôrblandinger beregnet på andre dyr enn kjæledyr skal oppføres i avtagende rekkefølge etter vekt.

Ved direktiv 97/47/EF om endring av vedleggene til rådsdirektiv 77/101/EØF⁽⁸⁾, 79/373/EØF og 91/357/EØF⁽⁹⁾ er det innført bestemmelser om merking med henblikk på forbud mot bruk av disse produktene i drøvtyggerfôr.

Medlemsstatene kan ha vedtatt strengere bestemmelser i samsvar med artikkel 1 nr. 2 i rådsdirektiv 90/667/EØF av 27. november 1990 om helsebestemmelser for disponering, foredling og markedsføring av animalsk avfall og for vern mot sykdomsfremkallende stoffer i fôrvarer av animalsk opprinnelse eller framstilt av fisk, og om endring av direktiv 90/425/EØF⁽¹⁰⁾, sist endret ved tiltredelsesakten for Østerrike, Finland og Sverige.

Forekomsten av bestanddeler av animalsk opprinnelse kan fastslås ved mikroskopundersøkelse. Ved mikroskopundersøkelse kan det skjelnes mellom bein fra landdyr og bein fra fisk. Muligheten til å skjelne mellom bein fra pattedyr og bein fra fjørfe ved mikroskopundersøkelsen avhenger av analytikerens erfaring. Muligheten til å foreta et anslag over mengden av bestanddeler av animalsk opprinnelse avhenger også i høy grad av analytikerens erfaring. Den vitenskapelige og tekniske utvikling kan gjøre det hensiktsmessig å kombinere mikroskopundersøkelse med andre analysemetoder. Fastsettelsen av disse retningslinjene for mikroskopundersøkelse utelukker ikke at den kan erstattes av eller kombineres med andre analysemetoder som har vist seg vitenskapelig holdbare.

Bestemmelsene om mikroskopundersøkelse bør derfor fastsettes som retningslinjer.

Tiltakene fastsatt i dette direktiv er i samsvar med uttalelse fra Den faste komité for fôrvarer —

(*) Denne fællesskapsrettsakten, kunngjort i EFT L 318 av 27.11.1999, s. 45, er omhandlet i EØS-komiteens beslutning nr. 71/2000 av 2. oktober 2000 om endring av EØS-avtalens vedlegg I (Veterinære og plantesanitære forhold), se EØS-tillegget til De Europeiske Fællesskaps Tidende nr. 59 av 14.12.2000, s. 1.

(1) EFT L 170 av 3.8.1970, s. 2.

(2) EFT L 172 av 7.7.1994, s. 23.

(3) EFT L 55 av 11.3.1995, s. 43.

(4) EFT L 281 av 9.10.1991, s. 23.

(5) EFT L 237 av 28.8.1997, s. 39.

(6) EFT L 86 av 6.4.1979, s. 30.

(7) EFT L 211 av 5.8.1997, s. 45.

(8) EFT L 32 av 3.2.1977, s. 1.

(9) EFT L 193 av 17.7.1991, s. 34.

(10) EFT L 363 av 27.12.1990, s. 51.

VEDTATT DETTE DIREKTIV:

Artikkel 1

Medlemsstatene skal sørge for at mikroskopundersøkelse i forbindelse med offentlig kontroll av identifikasjon av og/eller anslag over mengden av bestanddeler av animalsk opprinnelse i forvarer, foretas i samsvar med retningslinjene fastsatt i vedlegget.

I samsvar med kravene vedkommende myndigheter stiller til analysen, skal nr. 7 «Beregning og vurdering» i disse retningslinjene anses som valgfritt, forutsatt at når anslag over mengden foretas, skal retningslinjene i nr. 7 følges.

Fastsettelsen av disse retningslinjene for framgangsmåten ved mikroskopundersøkelse utelukker ikke at det brukes andre analysemetoder som har vist seg vitenskapelige holdbare, til erstatning for eller i kombinasjon med mikroskopundersøkelse for identifikasjon av og/eller anslag over mengden av bestanddeler av animalsk opprinnelse.

Artikkel 2

Medlemsstatene skal sette i kraft de lover og forskrifter som er nødvendige for å etterkomme dette direktiv, innen 1. september 1999. De skal umiddelbart underrette Kommisjonen om dette.

Disse bestemmelsene skal, når de vedtas av medlemsstatene, inneholde en henvisning til dette direktiv, eller det skal vises til direktivet når de kunngjøres. Nærmere regler for henvisningen fastsettes av medlemsstatene.

Artikkel 3

Dette direktiv trer i kraft den 20. dag etter at det er kunngjort i *De Europeiske Fellesskaps Tidende*.

Dette direktiv er rettet til medlemsstatene.

Utferdiget i Brussel, 13. november 1998.

For Kommisjonen

Franz FISCHLER

Medlem av Kommisjonen

VEDLEGG

Retningslinjer for identifikasjon av og anslag over bestanddeler av animalsk opprinnelse i fôrvarer ved mikroskopundersøkelse1. *Formål og virkeområde*

Disse retningslinjene bør følges ved påvisning av bestanddeler av animalsk opprinnelse (definert som produkter framstilt ved bearbeiding av kropp og kroppsdelar av pattedyr, fjørfe og fisk) i fôrvarer ved hjelp av mikroskopundersøkelse.

Dersom det foretas anslag over mengden av animalske bestanddeler, skal bestemmelsene i nr. 7 følges.

2. *Følsomhet*

Avhengig av arten av bestanddeler av animalsk opprinnelse kan det påvises meget små mengder (<0,1 %) i fôrvarer.

3. *Prinsipp*

Til identifikasjon benyttes en representativ prøve som er tatt i samsvar med bestemmelsene i kommisjonsdirektiv 76/371/EØF av 1. mars 1976 om fastsettelse av prøvetakingsmetoder i Fellesskapet i forbindelse med offentlig kontroll av fôrvarer⁽¹⁾, og som er tilberedt på egnet måte. Bestanddelene av animalsk opprinnelse identifiseres på grunnlag av typiske kjennetegn som kan iakttas i mikroskop (dvs. muskelfibre og andre kjøttpartikler, brusk, bein, horn, hår, bust, blod, fjær, egg, eggeskall, fiskebein og skjell). Identifikasjonen skal foretas både på en siktet fraksjon (6.1) og et konsentrert sediment (6.2) av prøven.

4. *Reagenser* ⁽²⁾

4.1. Neddypingsvæsker

4.1.1. Kloralhydrat (vandig, 60 % w/v)

4.1.2. Parafinolja

4.2. Konsentrasjonsmiddel

4.2.1. Tetrakloretylen (tetthet 1,62)

4.3. Fargingsreagenser

4.3.1. Bradford-reagens

4.3.2. Jod-/kaliumjodid-løsning

4.3.3. Millon-reagens

4.3.4. Cystinreagens (2 g blyacetat, 10 g NaOH/100 ml H₂O)

De oppførte reagensene kan byttes ut med andre som gir tilsvarende resultater.

5. *Utstyr og hjelpemidler*

5.1. Analysevekt (nøyaktighet 0,001 g)

5.2. Findelingsutstyr (rasp, kvern, osv.)

5.3. Sikt med kvadratisk maskevidde på 0,1-2 mm

5.4. Stereomikroskop (inntil 50 x forstørrelse)

5.5. S sammensatt mikroskop (inntil 400 x forstørrelse med lystransmisjon/-polarisert lys)

5.6. Standard laboratorieglassutstyr

⁽¹⁾ EFT nr. L 102 av 15.4.1976, s. 1.

⁽²⁾ De oppførte reagensene fås i handelen med mindre annet er angitt.

6. Framgangsmåte

Minst 10 g av prøven behandles om nødvendig, avhengig av materialets art (ved depelletering eller forsiktig knusing med egnet findelingsutstyr), og deles deretter i to representative deler, én på minst 5 g til siktefraksjonering (6.1) og én på minst 2 g til sedimentkonsentrasjon (6.2). Farging med fargingsreagenser (6.3) anbefales til identifikasjon.

6.1. Identifikasjon av bestanddeler av animalsk opprinnelse i siktefraksjonene

Minst 5 g av prøven deles i minst to fraksjoner og siktes gjennom siktene (5.3).

Siktefraksjonen(e) $>0,5$ mm (eller en representativ del av fraksjonen) spres ut i et tynt lag på et egnet underlag og observeres systematisk under stereomikroskopet (5.4) ved forskjellige forstørrelser for påvisning av bestanddeler av animalsk opprinnelse.

Objektglass med siktefraksjonen(e) $<0,5$ mm observeres systematisk under det sammensatte mikroskopet (5.5) ved forskjellige forstørrelser for å påvise bestanddeler av animalsk opprinnelse.

6.2. Identifikasjon av bestanddeler av animalsk opprinnelse i det konsentrerte sedimentet

Minst 2 g av prøven veies (med en nøyaktighet på 0,001 g) i et reagensglass eller en skilletrakt og behandles med minst 15 g tetrakloretylen (4.2.1). Etter at blandingen er omrørt/ristet flere ganger og har stått tilstrekkelig lenge (minst 1 min, høyst 2-3 min), skilles sedimentet ut.

Sedimentet tørkes under et avtrekk og veies deretter (med en nøyaktighet på 0,001 g). Veining er bare nødvendig dersom det kreves et anslag. Hele det tørkede sedimentet eller en del av det undersøkes under stereomikroskopet (5.4) og det sammensatte mikroskopet (5.5) for å påvise beinbestanddeler.

6.3. Bruk av neddyppingsvæsker og fargingsreagenser

Identifikasjon av bestanddeler av animalsk opprinnelse ved mikroskopundersøkelse kan lettes ved bruk av spesielle neddyppingsvæsker og fargingsreagenser.

Kloralhydrat (4.1.1): Ved forsiktig oppvarming kan cellestrukturene ses tydeligere, fordi stivelseskorn gelatineres, og uønsket celleinnhold fjernes.

Parafinolje (4.1.2): Beinbestanddeler kan identifiseres tydelig i denne neddyppingsvæsken, fordi de fleste hulrommene forblir fylt med luft og vises som svarte hull på ca. 5-15 μm .

Bradford-reagens (4.3.1): Brukes til å påvise protein (typisk blå farge). Fortynnes med vann i et forhold på ca. 1:4.

Jod-/kaliumjodid-løsning (4.3.2): Brukes til å påvise stivelse (blåfiolett farge) og protein (guloransje farge). Kan eventuelt fortynnes.

Millon-reagens (4.3.3): Ved forsiktig oppvarming blir beinbestanddelene rosa.

Cystinreagens (4.3.4): Ved forsiktig oppvarming blir cystinholdige bestanddeler (hår, fjær, osv.) brunsvarte.

7. Beregning og evaluering

Dersom det foretas anslag over mengden av animalske bestanddeler, skal bestemmelsene i dette punktet følges.

Beregningen kan bare foretas dersom bestanddelene av animalsk opprinnelse inneholder beinfragmenter.

Beinfragmenter av varmblodige landdyr (dvs. pattedyr og fugler) kan bare skjernes fra forskjellige typer fiskebein i objektglasset ved hjelp av de typiske beinhulrommene. Andelen av bestanddeler av animalsk opprinnelse i prøvematerialet kan anslås på grunnlag av

- den anslåtte andel (vektprosent) av beinfragmentene i det konsentrerte sedimentet, og
- andelen av bein (vektprosent) i bestanddelene av animalsk opprinnelse.

Anslaget skal baseres på minst tre (om mulig) objektglass og minst fem felter per objektglass. I förblandinger inneholder det konsentrerte sedimentet som regel ikke bare bein- og beinfragmenter av landdyr og fisk, men også partikler med høy spesifikk vekt, f.eks. mineraler, sand, fortreede plantefragmenter og lignende.

7.1. Anslått verdi for prosentdel av beinfragmenter

$$\begin{aligned} \% \text{ landdyrbeinfragmenter} &= \frac{S \times c}{W} \\ \% \text{ fiskebein- og skjellfragmenter} &= \frac{S \times d}{W} \end{aligned}$$

(S = sedimentvekt (mg), c = korreksjonsfaktor (%) for den anslåtte andel bestanddeler av landdyrbein i sedimentet, d = korreksjonsfaktor (%) for den anslåtte andel fragmenter av fiskebein og skjell i sedimentet, W = vekten av prøvematerialet for sedimenteringen (mg)).

7.2. Anslått verdi for bestanddeler av animalsk opprinnelse

Andelen av bein i animalske produkter kan variere betraktelig. (Prosentdelen av bein utgjør for beinmel 50-60 % og for kjøttmel 20-30 %; for fiskemel varierer innholdet av bein og skjell avhengig av melets kategori og opprinnelse, men er vanligvis 10-20 %).

Dersom det er kjent hvilken type animalsk mel som forekommer i prøven, kan innholdet anslås slik:

$$\begin{aligned} \text{Anslått innhold av bestanddeler av} \\ \text{landdyrprodukter (\%)} &= \frac{S \times c}{W \times f} \times 100 \\ \text{Anslått innhold av bestanddeler av} \\ \text{fiskeprodukter (\%)} &= \frac{S \times d}{W \times f} \times 100 \end{aligned}$$

(S = sedimentvekt (mg), c = korreksjonsfaktor (%) for den anslåtte andel bestanddeler av landdyrbein i sedimentet, d = korreksjonsfaktor (%) for den anslåtte andel fragmenter av fiskebein og skjell i sedimentet, f = korreksjonsfaktor for andelen bein i bestanddelene av animalsk opprinnelse i den undersøkte prøven, W = vekten av prøvematerialet for sedimenteringen (mg)).

8. *Presentasjon av resultatene av undersøkelsen*

De forskjellige tilfellene kan rapporteres på følgende måte:

8.1. Det kunne ikke i mikroskop påvises bestanddeler av animalsk opprinnelse (som definert i punkt 1) i den framlagte prøven.

8.2. Det ble i mikroskop påvist bestanddeler av animalsk opprinnelse⁽¹⁾ i den framlagte prøven.

I dette tilfelle kan rapporten om resultatene av undersøkelsen eventuelt spesifiseres ytterligere som følger:

8.2.1. Det ble i mikroskop påvist små mengder bestanddeler av animalsk opprinnelse⁽¹⁾ i den framlagte prøven.

8.2.2. Avhengig av analytikerens erfaring:

- enten: Det ble i mikroskop påvist bestanddeler av animalsk opprinnelse⁽¹⁾ i den framlagte prøven. Innholdet av beinfragmenter (fisk/landdyr — ved beinfragmenter fra landdyr kan det eventuelt skilles mellom fragmenter av fjørfe- og pattedyrbein, se merknad 9.3) anslås å være av størrelsesordenen ... %, som svarer til ... % animalske bestanddeler beregnet på grunnlag av ... % bein i produktet med animalske bestanddeler (= korreksjonsfaktor f er brukt),
- eller: Det ble i mikroskop påvist bestanddeler av animalsk opprinnelse⁽¹⁾ i målbare mengder i den framlagte prøven.

(1) Her angis hvilken type bestanddel som ble påvist, f.eks. landdyrbein, fiskebein, kjøttbestanddeler, osv.

I tilfellene 8.2, 8.2.1 og 8.2.2 skal det i tillegg, dersom det er identifisert bestanddeler av bein fra landdyr, angis følgende:

«Det kan ikke utelukkes at bestanddelene nevnt ovenfor stammer fra pattedyr.»

Dette er ikke nødvendig dersom beinfragmentene fra landdyr er blitt spesifisert som beinfragmenter fra fjørfe eller pattedyr (se merknad 9.3).

9. *Merknader*

- 9.1. Dersom det er mange og store bestanddeler i det konsentrerte sedimentet, anbefales det å sikte sedimentet i to fraksjoner (f.eks. ved bruk av en 320 µm sikt). Fraksjonen med de store bestanddelene kan undersøkes som parafinoljaepreparat i stereomikroskop med lystransmisjon. Fraksjonen med de fine bestanddelene undersøkes i sammensatt mikroskop.
 - 9.2. Det konsentrerte sedimentet (6.2) kan eventuelt oppdeles ytterligere med et konsentrasjonsmiddel med høyere tetthet.
 - 9.3. Avhengig av analytikerens erfaring kan det skilles mellom bestanddeler av pattedyr eller fjørfe på grunnlag av spesifikke histologiske kjennetegn.
-