

KOMMISSIONENS DIREKTIV 2003/126/EG

av den 23 december 2003

om analysmetoder för identifiering av beståndsdelar av animaliskt ursprung i foder för den officiella foderkontrollen

(Text av betydelse för EES)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR ANTAGIT
DETTA DIREKTIV

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska gemenskapen,

med beaktande av rådets direktiv 70/373/EEG av den 20 juli 1970 om införande av gemenskapsmetoder för provtagning och analys vid den officiella foderkontrollen ⁽¹⁾, särskilt artikel 2 i detta, och

av följande skäl:

- (1) Enligt direktiv 70/373/EEG skall den officiella foderkontroll som syftar till att pröva överensstämmelsen med de krav som fastlagts i lagar och andra författningar om kvalitet och sammansättning av foder utföras enligt gemenskapens metoder för provtagning och analys.
- (2) Bestämmelserna om märkning av foder och kraven på att vissa typer av animaliskt protein inte får användas i foder för vissa kategorier av djur medför krav på att föreskriva om tillförlitliga analysmetoder för att påvisa närvaron av dessa och, i förekommande fall, den procentuella andelen.
- (3) Den metod som beskrivs i kommissionens direktiv 98/88/EG av den 13 november 1998 om riktlinjer för identifiering och bedömning i mikroskop av beståndsdelar av animaliskt ursprung i foder för den officiella foderkontrollen ⁽²⁾ är för närvarande den enda validerade metoden för kontroll av om det förekommer animaliskt protein i foder, inklusive sådant protein som hettas upp till 133 °C under 3 bars tryck i 20 minuter.
- (4) Enligt en jämförande studie som nyligen utfördes för att identifiera beståndsdelar av bearbetat animaliskt protein i foder för den officiella foderkontrollen resulterade variationen i tillämpningen av de tester i mikroskop som föreskrivs i direktiv 98/88/EG i betydande skillnader när det gäller känslighet, specificitet och noggrannhet. För att identifieringen av bearbetat animaliskt protein skall kunna harmoniseras och förbättras bör bestämmelserna rörande mikroskopmetoden närmare specificeras och göras obligatoriska. Det är nödvändigt att säkerställa att den kemist som tillämpar metoden har lämplig utbildning, eftersom resultatet är avhängigt av kemistens kompetens.
- (5) Direktiv 98/88/EG bör därför ersättas.

- (6) De åtgärder som föreskrivs i detta direktiv är förenliga med yttrandet från Ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsa.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Medlemsstaterna skall föreskriva att om en officiell analys av foder görs i syfte att utföra en officiell kontroll av förekomsten av beståndsdelar av animaliskt ursprung i foder, identifiering av dessa och/eller uppskattning av deras mängd, inom ramen för ett samordnat kontrollprogram enligt rådets direktiv 95/53/EG ⁽³⁾, skall denna analys utföras i överensstämmelse med bestämmelserna i bilagan till detta beslut.

Artikel 2

Medlemsstaterna skall säkerställa att de laboratorier som utför officiella kontroller av förekomsten av animaliska beståndsdelar i foder regelbundet deltar i kompetenstestning av analysmetoderna och att den laboratoriepersonal som utför analyserna erhåller lämplig utbildning.

Artikel 3

Direktiv 98/88/EG upphävs.

Hänvisningar till det upphävda direktivet skall tolkas som hänvisningar till detta direktiv.

Artikel 4

1. Medlemsstaterna skall sätta i kraft de lagar och andra författningar som är nödvändiga för att följa detta direktiv senast den 1 juli 2004. De skall genast till kommissionen överlämna texterna till dessa bestämmelser tillsammans med en jämförelsetabell för dessa bestämmelser och bestämmelserna i detta direktiv.

När en medlemsstat antar dessa bestämmelser skall de innehålla en hänvisning till detta direktiv eller åtföljas av en sådan hänvisning när de offentliggörs. Närmare föreskrifter om hur hänvisningen skall göras skall varje medlemsstat själv utfärda.

2. Medlemsstaterna skall till kommissionen överlämna texterna till de bestämmelser i nationell lagstiftning som de antar inom det område som omfattas av detta direktiv.

⁽¹⁾ EGT L 170, 3.8.1970, s. 2. Direktivet senast ändrat genom förordning (EG) nr 807/2003 (EUT L 122, 16.5.2003, s. 36).

⁽²⁾ EGT L 318, 27.11.1998, s. 45.

⁽³⁾ EGT L 265, 8.11.1995, s. 17. Direktivet senast ändrat genom direktiv 2001/46/EG (EGT L 234, 1.9.2001, s. 55).

Artikel 5

Detta direktiv träder i kraft den tjugonde dagen efter det att det har offentliggjorts i *Europeiska unionens officiella tidning*.

Artikel 6

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 23 december 2003.

På kommissionens vägnar

David BYRNE

Ledamot av kommissionen

BILAGA

Villkor för påvisande, identifiering eller uppskattning i mikroskop av beståndsdelar av animaliskt ursprung i foder**1. Syfte och tillämpningsområde**

Dessa villkor skall uppfyllas när beståndsdelar av animaliskt ursprung (definierade som beredning av kroppar och kroppsdelar av däggdjur, fjäderfä och fisk) i foder påvisas genom undersökning med mikroskop inom ramen för ett samordnat kontrollprogram enligt rådets direktiv 95/53/EG. Förutsatt att metoderna i denna bilaga används i alla officiella tester, får även ett andra test utföras med användande av avvikande eller alternativa metoder i syfte att med större tillförlitlighet kunna påvisa vissa typer av animaliska beståndsdelar eller ytterligare specificera de animaliska beståndsdelarnas ursprung. Ett avvikande protokoll får dessutom användas då särskilda animaliska beståndsdelar undersöks, såsom plasma eller ben i talg (se även punkt 9), under förutsättning att dessa analyser utgör ett komplement till de analyser som föreskrivs i det samordnade kontrollprogrammet.

2. Känslighet

Beroende på beskaffenheten hos de animaliska beståndsdelarna, kan mycket små mängder (< 0,1 %) i foder påvisas.

3. Princip

Ett representativt prov, som tagits i enlighet med bestämmelserna i kommissionens direktiv 76/371/EEG av den 1 mars 1976 om gemenskapsmetoder för provtagning vid den officiella foderkontrollen⁽¹⁾ och som genomgått lämplig beredning, skall användas vid identifieringen. Följande protokoll lämpar sig för hantering av foder med låg fukthalt. Foder med en fukthalt som överstiger 14 % skall torkas (kondenseras) före hantering. Specialfoder eller -foderråvaror (till exempel fetter och oljor) kräver särskild behandling (se punkt 9). Beståndsdelarna av animaliskt ursprung identifieras på grundval av typiska kännetecken som kan identifieras i mikroskop (det vill säga muskelfibrer och andra köttpartiklar, brosk, ben, horn, hår, borst, blod, fjädrar, äggskal, fiskben och fjäll). Identifieringen måste göras både på siktfraktionen (6.1) och på det koncentrerade sedimentet (6.2) av provet.

4. Reagenser**4.1 Inbäddningsmedel****4.1.1** Kloralhydrat (60-procentig vattenlösning)**4.1.2** Lut (NaOH 2,5-procentig vattenlösning eller KOH 2,5-procentig vattenlösning) för siktfraktioner.**4.1.3** Paraffinolja eller glycerol (viskositet: 68–81) för observation i mikroskop av sedimentet.**4.2 Sköljmedel****4.2.1** Alkohol, 96 %**4.2.2** Aceton**4.3 Koncenteringsmedel****4.3.1** Perkloretylen (densitet 1,62)**4.4 Färgreagenser****4.4.1** Jod/kaliumjodidlösning (lös upp 2 g kaliumjodid i 100 ml vatten och tillsätt 1 g jod under regelbunden omskakning)**4.4.2** Alizarin (späd ut 2,5 ml 1M saltsyra i 100 ml vatten och tillsätt 200 mg alizarin till denna lösning)**4.4.3** Cystin-reagenser (2 g blyacetat, 10 g NaOH/100 ml H₂O)**4.4.4** Jod/kaliumjodidlösning (löst i 70 % etanol)

⁽¹⁾ EGT L 102, 15.4.1976, s. 1.

4.5 *Blekmedel*

4.5.1 Kommersiell natriumhypokloritlösning (9,6 % aktiv klorit)

5. **Utrustning och tillbehör**

5.1 Analysvåg (noggrannhet 0,01 g utom för koncentrerat sediment 0,001 g)

5.2 Utrustning för malning (kvarn eller mortel, särskilt för foder innehållande > 15 % ingående fett vid analystillfället)

5.3 Sikt med kvadratiska maskor som är maximalt 0,5 mm stora

5.4 Separertratt eller sedimentbägare med konisk botten

5.5 Stereomikroskop (minst 40 ggr förstoring)

5.6 Sammansatt mikroskop (minst 400 ggr förstoring), genomgående ljus eller polariserat ljus

5.7 Vanligt laboratorieglas

All utrustning skall noggrant rengöras. Separertrattar och glas skall rengöras i maskin. Siktar skall rengöras med borste med styva hår.

6. **Metod**

Foderpellets får siktas före analys om båda fraktionerna analyseras som separata prover.

Minst 50 g av provet skall behandlas (vid behov genomgå noggrann malning med lämplig malningsutrustning (5.2) för att lämplig struktur skall erhållas). Två representativa delar skall tas från det malda materialet, en från siktfraktionen (minst 5 g) (6.1) och en från det koncentrerade sedimentet (minst 5 g) (6.2). Som komplement kan färgning med färgreagenser (6.3) utföras för identifieringen.

För att ange de animaliska proteinernas egenskaper och partiklarnas ursprung kan ett beslutstödssystem, såsom ARIES, användas och referensprover dokumenteras.

6.1 *Identifiering av beståndsdelar av animaliskt ursprung i siktfraktionerna*

Minst 5 g av provet delas genom siktning (5.3) i två fraktioner.

Siktfraktion(erna) (eller en representativ del av fraktionen) med de stora partiklarna appliceras i ett tunt lager på lämpligt underlag och undersöks systematiskt i stereomikroskop (5.5) i olika förstöringsgrader efter beståndsdelar av animaliskt ursprung.

Objektglas med siktfraktionen(erna) innehållande de små partiklarna undersöks systematiskt i det sammansatta mikroskopet (5.6) i olika förstöringsgrader efter beståndsdelar av animaliskt ursprung.

6.2 *Identifiering av beståndsdelar av animaliskt ursprung i koncentrerat sediment*

Minst 5 g (med en noggrannhet av 0,01 g) av provet skall föras över i en separertratt eller en sedimentbägare med konisk botten och behandlas med minst 15 ml tetrakloretylen (4.3.1). Blandingen skall röras om eller skakas flera gånger.

— Om en separertratt med lock används skall sedimentet få stå tillräckligt länge (minst tre minuter) innan det separeras. Sedan skall det skakas igen och få stå under ytterligare minst tre minuter. Därefter skall sedimentet separeras igen.

— Om en öppen bägare används skall sedimentet få stå under minst 5 minuter innan det separeras.

Den totala mängden sediment skall torkas och därefter vägas (med en noggrannhet på 0,001 g). Vägning är endast nödvändig om en uppskattning krävs. Om sedimentet består av många stora partiklar, får det siktas (5.3) i två fraktioner. Det torkade sedimentet skall undersökas efter benbeståndsdelar i stereomikroskop (5.5) och i sammansatt mikroskop (5.6).

6.3 Användning av inbäddningsmedel och färgreagenser

Genom användning av särskilda inbäddningsmedel och färgreagenser kan identifieringen med mikroskop av beståndsdelar av animaliskt ursprung underlättas.

- Kloralhydrat (4.1.1): Vid försiktig uppvärmning kan cellstrukturerna synas tydligare, eftersom stärkelsekornen gelatiniseras och oönskat cellinnehåll avlägsnas.
- Lut (4.1.2): Natriumhydroxid eller kaliumhydroxid renar foderråvaran och bidrar till att påvisa muskelfibrer, hår och andra keratiner.
- Paraffinolja och glycerol (4.1.3): Benbeståndsdelar kan tydligt identifieras i detta inbäddningsmedel eftersom de flesta håligheter förblir luftfyllda och syns som svarta hål på 5–15 µm.
- Jod/kaliumjodidlösning (4.4.1): Används för att påvisa stärkelse (blå-lila färg) och protein (gul-orange färg). Lösningarna kan spädas vid behov.
- Alizarinlösning (4.4.2): Röd-rosa färgning av ben, fiskben och fjäll. Innan sedimentet torkas (se avsnitt 6.2) skall den totala mängden sediment överföras i ett provrör och sköljas två gånger med cirka 5 ml alkohol (4.2.1) (varje gång skall en vortexblandare användas, och lösningsmedlet skall få avsätta sig under ungefär en minut och därefter hällas av). Innan färgreagenser används skall sedimentet blekas genom tillsats av minst 1 ml natriumhypokloritlösning (4.5.1). Reaktionen skall tillåtas pågå under 10 minuter. Provröret skall fyllas med vatten, och sedimentet skall få avsätta sig under 2–3 minuter. Därefter skall vattnet och de ej sedimenterade partiklarna hällas av. Sedimentet skall sköljas ytterligare två gånger med ungefär 10 ml vatten (använd vortexblandare, låt sedimentet avsätta sig och håll av vattnet varje gång). Två till tio droppar (beroende på mängden rester) alizarinlösning skall tillsättas. Blandningen skall skakas, och reaktionen skall få pågå några sekunder. Det infärgade sedimentet skall sköljas två gånger med cirka 5 ml alkohol (4.2.1) och sedan en gång med aceton (4.2.2) (använd en vortexblandare varje gång, låt lösningsmedlet avsätta sig och håll därefter av det). Därefter är sedimentet klart för torkning.
- Cystin-reagenser (4.4.3): Vid försiktig uppvärmning blir beståndsdelar som innehåller cystin (hår, fjädrar m.m.) brun-svarta.

6.4 Undersökning av foder möjligen innehållande fiskmjöl

Minst ett objektglas från den fina siktfraktionen och ett från den fina fraktionen av sedimentet skall undersökas med sammansatt mikroskop (se avsnitten 6.1 och 6.2).

Om etiketten anger att fiskmjöl ingår, eller om förekomst av fiskmjöl misstänks eller påvisas vid den inledande undersökningen, skall minst ytterligare två objektglas från den fina siktfraktionen tillhörande det ursprungliga provet samt den totala mängden sediment undersökas.

7. Beräkning och bedömning

Medlemsstaterna skall säkerställa att de procedurer som beskrivits i denna punkt tillämpas då officiella analyser i syfte att uppskatta mängd (inte endast förekomst) av animaliska beståndsdelar.

Beräkningen kan endast utföras om beståndsdelarna av animaliskt ursprung innehåller benfragment.

Benfragment av varmblodiga landdjur (t.ex. däggdjur och fåglar) kan i objektglaset särskiljas från olika typer av fiskben genom typiska håligheter. Andelen beståndsdelar av animaliskt ursprung i de olika proven bedöms på grundval av

- den uppskattade andelen (viktprocent) benfragment i det koncentrerade sedimentet, och
- andelen (viktprocent) ben i beståndsdelarna av animaliskt ursprung.

Bedömningen måste vara grundad på minst tre (om möjligt) objektglas och minst fem fält per objektglas. I foderblandningar innehåller det koncentrerade sedimentet i regel inte bara ben från landdjur och fiskbenfragment utan också andra partiklar med hög specifik vikt, t.ex. mineraler, sand, förvedade växtfragment och liknande.

7.1 Uppskattad procentandel benfragment

% benfragment från landdjur = $(S \times c)/W$

% fiskben- och fjällfragment = $(S \times c)/W$

(S = sedimentvikt (mg), c = korrektionsfaktor (%) för den uppskattade andelen ben från landdjur i sedimentet, d = korrektionsfaktor (%) för den uppskattade andelen fiskben- och fjällfragment i sedimentet, W = vikten hos proverna till sedimenteringen (mg)).

7.2 Uppskattad mängd beståndsdelar av animaliskt ursprung

Andelen ben i animaliska produkter kan variera kraftigt. (Andelen ben i benmjöl är cirka 50–60 % och i köttmjöl cirka 20–30 %. I fiskmjöl varierar andelen ben och fjäll beroende på fiskmjölets klass och ursprung, vanligtvis ligger den på cirka 10–20 %).

Om typen av djurmjöl i provet är känd kan innehållet uppskattas på följande sätt:

Uppskattat innehåll av beståndsdelar av landdjursprodukter (%) = $(S \times c)/(W \times f) \times 100$

Uppskattat innehåll av beståndsdelar av fiskprodukter (%) = $(S \times d)/(W \times f) \times 100$

(S = sedimentvikt (mg), c = korrektionsfaktor (%) för den uppskattade andelen benbeståndsdelar från landdjur i sedimentet, d = korrektionsfaktor (%) för den uppskattade andelen fiskben- och fjällfragment i sedimentet, f = korrektionsfaktor för andelen ben i beståndsdelarna av animaliskt ursprung i det undersökta provet, W = vikten hos proverna till sedimenteringen (mg)).

8. Beskrivning av undersökningsresultatet

Rapporten skall åtminstone innehålla information om huruvida beståndsdelar av landdjur och fiskmjöl förekommer. De olika fallen kan rapporteras på följande sätt:

8.1 När det gäller förekomst av beståndsdelar av landdjur:

— Det har i mikroskop inte kunnat urskiljas några beståndsdelar av landdjur i det inlämnade provet.

Eller:

— Det har i mikroskop kunnat urskiljas beståndsdelar av landdjur i det inlämnade provet.

8.2 När det gäller förekomsten av fiskmjöl:

— Det har i mikroskop inte kunnat urskiljas några beståndsdelar av fisk i det inlämnade provet.

Eller:

— Det har i mikroskop kunnat urskiljas beståndsdelar av fisk i det inlämnade provet.

Om beståndsdelar av fisk eller landdjur påvisas, kan rapporten vid behov även innehålla en uppskattning av de påvisade beståndsdelarna (x %, < 0,1 %, 0,1–0,5 %, 0,5–5 % eller > 5), ytterligare specifikation av typen av landdjur om möjligt och av de identifierade beståndsdelarna (muskelfibrer, brosk, ben, horn, hår, borst, blod, fjädrar, blod, äggskal, fiskben och fjäll).

Om mängden animaliska beståndsdelar uppskattas, skall den korrektionsfaktor f som används anges.

Om benbeståndsdelar från landdjur identifieras, skall även följande anges i rapporten:

”Det kan inte uteslutas att ovannämnda beståndsdelar härstammar från däggdjur.”

Denna kompletterande angivelse är inte nödvändig om det för benfragment från landdjur görs åtskillnad mellan benfragment från fjäderfä och benfragment från däggdjur.

9. **Fakultativt protokoll för analys av fett eller olja**

Följande protokoll får användas för analys av fett eller olja:

- Om fettet är fast, värms det tills det blir flytande i till exempel en mikrovågsugn.
 - Med en pipett överförs 40 ml av fettet från botten av provet till ett centrifugrör.
 - Centrifugera under 10 minuter med 4 000 varv per minut.
 - Om fettet är fast efter centrifugeringen, värms det på nytt i ugn tills det blir flytande. Upprepa centrifugeringen under 5 minuter med 4 000 varv per minut.
 - Med en liten sked eller spatel överförs hälften av de dekanterade föroreningarna till en liten petriskål eller ett objektglas för mikroskopisk identifiering av förekomst av animaliska beståndsdelar (köttfibrer, fjädrar, benfragment m.m.). Som inbäddningsmedel för undersökningen med mikroskop rekommenderas paraffinolja eller glycerol.
 - De återstående föroreningarna används för sedimentering enligt beskrivning i punkt 6.2.
-