

KOMMISSIONENS DIREKTIV 98/88/EF

af 13. november 1998

om retningslinjer for identificering af og skøn over indhold af animalske bestanddele i foderstoffer ved mikroskopi med henblik på officiel kontrol af foderstoffer

(EØS-relevant tekst)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det Europæiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv 70/373/EØF af 20. juli 1970 om indførelse af fællesskabsprøveudtagningsmåder og analysemetoder for så vidt angår den officielle kontrol med foderstoffer⁽¹⁾, senest ændret ved akten vedrørende Østrigs, Finlands og Sveriges tiltrædelse, særlig artikel 2, og

ud fra følgende betragtninger:

Ifølge direktiv 70/373/EØF skal den officielle kontrol med foderstoffer til konstatering af, om de betingelser, der er fastsat på grundlag af administrativt eller ved lov fastsatte bestemmelser om foderstoffernes beskaffenhed og sammensætning, er opfyldt, foretages efter fællesskabsprøveudtagningsmåder og analysemetoder;

Kommissionens beslutning 94/381/EF af 27. juni 1994 om bestemte beskyttelsesforanstaltninger med hensyn til bovin spongiform encephalopati og opfodring af protein af pattedyr⁽²⁾, ændret ved beslutning 95/60/EF⁽³⁾, forbyder fodring af drøvtyggere med protein hidrørende fra alt pattedyrvæv med undtagelse af visse animalske produkter og biprodukter;

Kommissionens beslutning 91/516/EØF af 9. september 1991 om listen over råvarer, som det er forbudt at anvende i foderblandinger⁽⁴⁾, senest ændret ved beslutning 97/582/EF⁽⁵⁾, forbyder anvendelse af protein hidrørende fra pattedyrvæv i foderblandinger til drøvtyggere;

ifølge artikel 5c i Rådets direktiv 79/373/EØF af 2. april 1979 om handel med foderblandinger⁽⁶⁾, senest ændret ved Kommissionens direktiv 97/47/EF⁽⁷⁾, skal samtlige bestanddele nævnes, når bestanddelene er anført, og

bestanddelene skal anføres efter bestemte regler, bl.a. i rækkefølge efter faldende vægt, når der er tale om foderblandinger til andre dyr end selskabsdyr;

ved direktiv 97/47/EF om ændring af bilagene til Rådets direktiv 77/101/EØF⁽⁸⁾, 79/373/EØF og 91/357/EØF⁽⁹⁾ er der indført mærkningsbestemmelser, for så vidt angår forbuddet mod anvendelse af disse produkter i drøvtyggerfoder;

medlemsstaterne kan have vedtaget strengere bestemmelser, jf. artikel 1, stk. 2, i Rådets direktiv 90/667/EØF af 27. november 1990 om sundhedsmæssige bestemmelser for bortskaftelse, forarbejdning og afsætning af animalsk affald og for beskyttelse mod forekomst af patogener i foder fremstillet af dyr, herunder fisk, og om ændring af direktiv 90/425/EØF⁽¹⁰⁾, senest ændret ved akten vedrørende Østrigs, Finlands og Sveriges tiltrædelse;

tilstedeværelsen af animalske bestanddele kan fastslås ved mikroskopi; ved mikroskopi kan der skelnes mellem knogler fra landdyr og ben fra fisk; muligheden for at skelne mellem knogler fra pattedyr og knogler fra fjerkræ afhænger af laborantens erfaring; muligheden for at foretage et skøn over mængden af animalske bestanddele afhænger også i vid udstrækning af laborantens erfaring; på baggrund af udviklingen i den videnskabelige og tekniske viden kan det være hensigtsmæssigt at kombinere mikroskopi med andre analysemetoder; fastsættelsen af disse retningslinjer for mikroskopi udelukker ikke, at der som erstatning eller supplement anvendes andre videnskabeligt underbyggede analysemetoder end mikroskopi;

bestemmelserne vedrørende mikroskopi bør derfor fastsættes som retningslinjer;

de i dette direktiv fastsatte foranstaltninger er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Foderstofkomité —

⁽¹⁾ EFT L 170 af 3. 8. 1970, s. 2.

⁽²⁾ EFT L 172 af 7. 7. 1994, s. 23.

⁽³⁾ EFT L 55 af 11. 3. 1995, s. 43.

⁽⁴⁾ EFT L 281 af 9. 10. 1991, s. 23.

⁽⁵⁾ EFT L 237 af 28. 8. 1997, s. 39.

⁽⁶⁾ EFT L 86 af 6. 4. 1979, s. 30.

⁽⁷⁾ EFT L 211 af 5. 8. 1997, s. 45.

⁽⁸⁾ EFT L 32 af 3. 2. 1977, s. 1.

⁽⁹⁾ EFT L 193 af 17. 7. 1991, s. 34.

⁽¹⁰⁾ EFT L 363 af 27. 12. 1990, s. 51.

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

Artikel 1

Medlemsstaterne fastsætter, at eventuel mikroskopi med henblik på officiel kontrol af identificering af og/eller skøn over indholdet af animalske bestanddele i foderstoffer foretages efter retningslinjerne i bilaget.

I overensstemmelse med myndighedernes krav til analysen betragtes punkt 7 »Beregning og bedømmelse« i disse retningslinjer som valgfrit, dog skal retningslinjerne i punkt 7 følges, hvis der foretages skøn over mængden.

Fastsættelsen af disse retningslinjer for fremgangsmåden for mikroskopi udelukker ikke, at der som erstatning eller supplement anvendes andre videnskabeligt underbyggede analysemetoder end mikroskopi til identificering af og/eller skøn over indholdet af animalske bestanddele.

Artikel 2

Medlemsstaterne sætter de nødvendige love og administrative bestemmelser i kraft for at efterkomme dette

direktiv senest den 1. september 1999. De underretter straks Kommissionen herom.

Disse love og bestemmelser skal ved vedtagelsen indeholde en henvisning til dette direktiv eller skal ved offentliggørelsen ledsages af en sådan henvisning. De nærmere regler for henvisningen fastsættes af medlemsstaterne.

Artikel 3

Dette direktiv træder i kraft på tyvendedagen efter offentliggørelsen i *De Europæiske Fællesskabers Tidende*.

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 13. november 1998.

På Kommissionens vegne

Franz FISCHLER

Medlem af Kommissionen

BILAG

Retningslinjer for identificering af og skøn over indhold af animalske bestanddele i foderstoffer ved mikroskopi1. *Mål og anvendelsesområde*

Disse retningslinjer bør følges ved påvisning af indhold af animalske bestanddele (defineret som produkter fra forarbejdning af kroppe og kropsdele af pattedyr, fjerkræ og fisk) i foderstoffer ved hjælp af mikroskopi.

Hvis der foretages skøn over mængden af animalske bestanddele, skal bestemmelserne under punkt 7 følges.

2. *Følsomhed*

Afhængigt af arten af de animalske bestanddele kan der påvises meget små mængder (<0,1 %) i foderstoffer.

3. *Princip*

Til identifikation benyttes en repræsentativ prøve, som er udtaget i overensstemmelse med bestemmelserne i Kommissionens direktiv 76/371/EØF af 1. marts 1976 om fastsættelse af fællesskabsmåder for udtagning af prøver til den officielle kontrol med foderstoffer⁽¹⁾ og passende forberedt. Animalske bestanddele identificeres på grundlag af karakteristika, der kan iagttages mikroskopisk (f.eks. muskelfibre og andre kødpartikler, brusk, knogler, horn, hår, børster, blod, fjer, æggeskaller, fiskeben og skæl). Identifikationen foretages på såvel en sigtet fraktion af prøven (6.1) som et koncentreret sediment af prøven (6.2).

4. *Reagenser*⁽²⁾

4.1. Immersionsvæsker

4.1.1. Chloralhydrat (vandigt, 60 % w/v)

4.1.2. Paraffinolie

4.2. Koncentreringsmiddel

4.2.1. Tetrachlorethylen (densitet 1,62)

4.3. Farvningsreagenser

4.3.1. Bradfords reagens

4.3.2. Iod/kaliumiodid-opløsning

4.3.3. Millons reagens

4.3.4. Cystin-reagens (2g blyacetat og 10 g NaOH i 100 ml H₂O)

De opregnede reagenser kan udskiftes med andre, der giver tilsvarende resultater.

5. *Udstyr og hjælpemidler*

5.1. Analysevægt (nøjagtighed 0,001 g)

5.2. Udstyr til findeling (rasp, mølle m.v.)

5.3. Sigte med kvadratiske masker med en maskevidde på 0,1 - 2 mm

5.4. Stereomikroskop (op til 50 × forstørrelse)

5.5. S sammensat mikroskop (op til 400 × forstørrelse) med lystransmission/polariseret lys

5.6. Standard laboratorieglasudstyr

⁽¹⁾ EFT L 102 af 15. 4. 1976, s. 1.

⁽²⁾ De opregnede reagenser fås i handelen, medmindre andet er anført.

6. Fremgangsmåde

En prøve på mindst 10 g — afhængigt af materialets art — behandles (f.eks. forsigtig knusning af pillerne ved hjælp af passende findelingsudstyr) om nødvendigt, hvorefter den deles i to repræsentative dele, én på mindst 5 g til sigtefraktionering (6.1) og én på mindst 2 g til sedimentkoncentrering (6.2). Det anbefales at benytte farvning med farvningsreagenser (6.3) til identifikation.

6.1. Identifikation af animalske bestanddele i sigtefraktioner

Mindst 5 g prøve deles i to fraktioner ved sigtning (5.3).

Fraktionen (fraktionerne) $>0,5$ mm (eller en repræsentativ del deraf) spredes ud i et tyndt lag på et passende underlag og screenes systematisk for animalske bestanddele under stereomikroskop ved forskellige forstørrelser (5.4).

Objektglas med fraktionen (fraktionerne) $<0,5$ mm screenes systematisk for animalske bestanddele under sammensat mikroskop ved forskellige forstørrelser (5.5).

6.2. Identifikation af animalske bestanddele i koncentreret sediment

En prøve på mindst 2 g afvejes med en nøjagtighed på 0,001 g i et reagensglas eller en skilletragt og behandles med mindst 15 ml tetrachlorethylen (4.2.1). Når blandingen er omrørt/omrystet flere gange og har henstået tilstrækkelig længe (mindst 1 minut, men højst 2-3 minutter), skilles sedimentet fra.

Sedimentet tørres i stinkskab og vejes (med en nøjagtighed på 0,001 g). Vejning er kun påkrævet, hvis der ønskes et skøn over indholdet. Hele det tørrede sediment eller en del deraf undersøges for knoglebestanddele under stereomikroskop (5.4) og sammensat mikroskop (5.5).

6.3. Brug af immersionsvæsker og farvningsreagenser

Identifikation af animalske bestanddele ved mikroskopi kan lettes ved brug af specielle immersionsvæsker og farvningsreagenser.

Chloralhydrat (4.1.1): Ved forsigtig opvarmning ses cellestrukturene tydeligere, da stivelseskorngelatinerer, og uønsket celleindhold fjernes.

Paraffinolie (4.1.2): Knoglebestanddele kan tydeligt identificeres i denne immersionsvæske, da de fleste behuler forbliver luftfyldte og fremtræder som sorte huller med en størrelse på ca. 5 - 15 μm .

Bradford's reagens (4.3.1): Benyttes til påvisning af protein (typisk blå farve). Det fortyndes med vand i forholdet ca. 1:4.

Iod/kaliumiodid-opløsning (4.3.2): Benyttes til påvisning af stivelse (blåviolet farve) og protein (orange-gul farve). Kan eventuelt fortyndes.

Millon's reagens (4.3.3): Farver knoglebestanddele rosa ved forsigtig opvarmning.

Cystin-reagens (4.3.4): Cystinholdige bestanddele (hår, fjer mv.) farves brunsorte ved forsigtig opvarmning.

7. Beregning og bedømmelse

Hvis der foretages skøn over mængden af animalske bestanddele, skal bestemmelserne i dette punkt følges.

Der kan kun foretages beregning, hvis de animalske bestanddele indeholder knoglefragmenter.

Knoglefragmenter af varmblodede landdyr (f.eks. pattedyr og fugle) kan i mikroskoppræparatet skelnes fra forskellige typer fiskeben ved hjælp af de typiske behuler. Andelen af animalske bestanddele i prøvematerialet kan skønnes på grundlag af

— den skønnede andel (vægtprocent) af knoglefragmenter i det koncentrerede sediment

— knogleandelen (vægtprocent) af de animalske bestanddele.

Skønnet skal baseres på mindst tre (om muligt) præparater og mindst fem felter pr. præparat. I foderstofblandinger indeholder det koncentrerede sediment som hovedregel ikke blot knogle- og fiskebensfragmenter, men også andre partikler med høj densitet, f.eks. mineraler, sand og forveddede plantedele.

7.1. Skønnet tal for procentdelen af knoglefragmenter

$$\begin{aligned} \% \text{ knoglefragmenter} &= \frac{S \times c}{W} \\ \% \text{ fiskebens- og skælfragmenter} &= \frac{S \times d}{W} \end{aligned}$$

(S = vægten af sediment (mg), c = korrektionsfaktor (%) for den skønnede knogleandel i sedimentet, d = korrektionsfaktor (%) for den skønnede andel af fiskebens- og skælfragmenter i sedimentet, W = vægten af prøvemateriale til sedimenteringen (mg)).

7.2. Skønnet værdi for animalske bestanddele

Andelen af knogler i animalske produkter kan variere betragteligt (i benmel er knogle/benandelen ca. 50-60 %, og for kødmel ca. 20-30 %; i fiskemel varierer indholdet af ben og skæl med meleets kategori og oprindelse, men er normalt ca. 10-20 %).

Hvis det vides, hvilken type dyremel der er til stede i prøven, kan indholdet deraf skønnes således:

$$\text{Skønnet indhold af bestanddele af landdyrprodukter (\%)} = \frac{S \times c}{W \times f} \times 100$$

$$\text{Skønnet indhold af bestanddele af fiskeprodukter (\%)} = \frac{S \times d}{W \times f} \times 100$$

(S = vægten af sediment (mg), c = korrektionsfaktor (%) for den skønnede knogleandel i sedimentet, d = korrektionsfaktor (%) for den skønnede andel af fiskebens- og skælfragmenter i sedimentet, f = korrektionsfaktor for knogle/benandelen af de animalske bestanddele i den undersøgte prøve, W = vægten af prøvemateriale til sedimenteringen (mg)).

8. *Angivelse af undersøgelsens resultat*

De forskellige tilfælde afrapporteres på følgende måde:

8.1. Der har ikke under mikroskop kunnet iagttages animalske bestanddele (jf. definitionen i punkt 1) i den forelagte prøve.

8.2. Der har under mikroskop kunnet iagttages animalske bestanddele (!) i den forelagte prøve.

I sidstnævnte tilfælde kan rapporten over undersøgelsens resultater eventuelt yderligere specificeres som følger:

8.2.1. Der har under mikroskop kunnet iagttages en mindre mængde animalske bestanddele (!) i den forelagte prøve.

8.2.2. Afhængigt af operatørens erfaring:

— enten: Der har under mikroskop kunnet iagttages animalske bestanddele (!) i den forelagte prøve. Indholdet af knogle-/benfragmenter (ved knoglefragmenter fra landdyr kan der eventuelt skelnes mellem fragmenter fra fjerkræ og pattedyr, jf. bemærkning 9.3) anslås til at være af størrelsesordenen ... % svarende til ... % animalske bestanddele beregnet på grundlag af ... % knogler/ben i det animalske produkt (= korrektionsfaktor f anvendt).

— eller: Der har under mikroskop kunnet iagttages animalske bestanddele (!) i en målelig mængde i den forelagte prøve.

(!) Her anføres, hvilken type bestanddel der er fundet, f.eks. dyrekogler, fiskeben eller kødbestanddele.

I tilfælde 8.2, 8.2.1 og 8.2.2, skal der i rapporten anføres følgende, hvis der er påvist knoglebestanddele fra landdyr:

»Det kan ikke udelukkes, at fornævnte bestanddele hidrører fra pattedyr.«

Dette er ikke nødvendigt, hvis knoglefragmenterne fra landdyr er blevet udspecificeret i fragmenter fra fjerkræ og pattedyr (jf. bemærkning 9.3).

9. *Bemærkninger*

- 9.1. Er der mange og grove bestanddele i det koncentrerede sediment, anbefales det at sigte sedimentet i to fraktioner (f.eks. gennem en 320 µm sigte). Fraktionen med de grove bestanddele kan undersøges som paraffinoliepræparat i stereomikroskop med transmitteret lys. Fraktionen med de fine bestanddele undersøges i sammensat mikroskop.
 - 9.2. Det koncentrerede sediment (6.2) kan eventuelt opdeles yderligere med et koncentreringsmiddel med højere densitet.
 - 9.3. Operatøren kan afhængigt af sin erfaring skelne mellem bestanddele fra pattedyr og fjerkræ på grundlag af specifikke histologiske kendetegn.
-