

RICHTLINIE 98/88/EG DER KOMMISSION**vom 13. November 1998****mit Leitlinien für den mikroskopischen Nachweis und die Schätzung von Bestandteilen tierischen Ursprungs bei der amtlichen Untersuchung von Futtermitteln****(Text von Bedeutung für den EWR)**

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Gemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 70/373/EWG des Rates vom 20. Juli 1970 über die Einführung gemeinschaftlicher Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln⁽¹⁾, zuletzt geändert durch die Akte über den Beitritt Österreichs, Finnlands und Schwedens, insbesondere auf Artikel 2,

in Erwägung nachstehender Gründe:

Mit der Richtlinie 70/373/EWG wurde festgelegt, daß die amtlichen Untersuchungen von Futtermitteln zur Feststellung, ob die aufgrund der Rechts- oder Verwaltungsvorschriften festgelegten Anforderungen hinsichtlich der Beschaffenheit und der Zusammensetzung der Futtermittel erfüllt sind, nach gemeinschaftlichen Probenahmeverfahren und Analysemethoden durchgeführt werden.

Mit der Entscheidung 94/381/EG der Kommission vom 27. Juni 1994 über Schutzmaßnahmen in bezug auf die spongiforme Rinderenzephalopathie und die Verfütterung von aus Säugetieren gewonnenen Futtermitteln⁽²⁾, zuletzt geändert durch die Entscheidung 95/60/EG⁽³⁾, wurde die Verfütterung von aus Säugetieren gewonnenen Proteinen mit Ausnahme bestimmter tierischer Erzeugnisse und Nebenerzeugnisse verboten.

Mit der Entscheidung 91/516/EG der Kommission vom 9. September 1991 zur Festlegung des Verzeichnisses von Ausgangserzeugnissen, deren Verwendung in Mischfuttermitteln verboten ist⁽⁴⁾, zuletzt geändert durch die Entscheidung 97/582/EG⁽⁵⁾, wurde die Verwendung von aus Säugetiergewebe gewonnenen Proteinen in Mischfuttermitteln für Wiederkäuer verboten.

Artikel 5c der Richtlinie 79/373/EWG des Rates vom 2. April 1979 über den Verkehr mit Mischfuttermitteln⁽⁶⁾, zuletzt geändert durch die Richtlinie 97/47/EG der Kommission⁽⁷⁾, sieht vor, daß alle verwendeten Ausgangserzeugnisse genannt werden müssen, wenn Angaben über die Ausgangserzeugnisse angebracht

werden, und daß die Aufzählung der Ausgangserzeugnisse mehreren Regeln unterliegt, wie z. B. der Aufzählung in absteigender Reihenfolge ihres Gewichtsanteils bei Mischfuttermitteln für andere Tiere als Heimtiere.

Mit der Richtlinie 97/47/EG zur Änderung der Anhänge der Richtlinien 77/101/EWG⁽⁸⁾, 79/373/EWG und 91/357/EWG⁽⁹⁾ des Rates wurden angemessene Kennzeichnungsvorschriften im Hinblick auf das Verbot dieser Erzeugnisse und ihrer Verwendung in Mischfuttermitteln eingeführt.

Gemäß Artikel 1 Absatz 2 der Richtlinie 90/667/EWG des Rates vom 27. November 1990 zum Erlass veterinärrechtlicher Vorschriften für die Beseitigung, Verarbeitung und Vermarktung tierischer Abfälle und zum Schutz von Futtermitteln tierischen Ursprungs, auch aus Fisch, gegen Krankheitserreger sowie zur Änderung der Richtlinie 90/425/EWG⁽¹⁰⁾, zuletzt geändert durch die Akte über den Beitritt Österreichs, Finnlands und Schwedens, können die Mitgliedstaaten strengere Vorschriften erlassen.

Durch mikroskopische Untersuchungen können Bestandteile tierischen Ursprungs nachgewiesen werden, wobei man zwischen Knochen von Landtieren und Fischgräten unterscheiden kann. Die Möglichkeit der Unterscheidung zwischen Knochenbestandteilen von Säugetieren und von Geflügel bei der mikroskopischen Untersuchung hängt von der Erfahrung des Analytikers ab. Dasselbe gilt weitgehend auch für die mengenmäßige Schätzung der Bestandteile tierischen Ursprungs. Angesichts des wissenschaftlichen und technischen Fortschritts könnte es angebracht sein, mikroskopische Untersuchungen mit anderen Analyseverfahren zu kombinieren. Die Festlegung dieser Leitlinien für die mikroskopische Untersuchung schließt die alternative oder zusätzliche Verwendung anderer, wissenschaftlich erprobter Analyseverfahren, außer der mikroskopischen Untersuchung, nicht aus.

Es gilt daher, die Bestimmungen für die mikroskopische Untersuchung in Form von Leitlinien festzulegen.

Die in dieser Richtlinie vorgeschlagenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Futtermittelausschusses —

⁽¹⁾ ABl. L 170 vom 3. 8. 1970, S. 2.

⁽²⁾ ABl. L 172 vom 7. 7. 1994, S. 23.

⁽³⁾ ABl. L 55 vom 11. 3. 1995, S. 43.

⁽⁴⁾ ABl. L 281 vom 9. 10. 1991, S. 23.

⁽⁵⁾ ABl. L 237 vom 28. 8. 1997, S. 39.

⁽⁶⁾ ABl. L 86 vom 6. 4. 1979, S. 30.

⁽⁷⁾ ABl. L 211 vom 5. 8. 1997, S. 45.

⁽⁸⁾ ABl. L 32 vom 3. 2. 1977, S. 1.

⁽⁹⁾ ABl. L 193 vom 17. 7. 1991, S. 34.

⁽¹⁰⁾ ABl. L 363 vom 27. 12. 1990, S. 51.

HAT FOLGENDE RICHTLINIE ERLASSEN:

Artikel 1

Die Mitgliedstaaten stellen sicher, daß, sofern bei amtlichen Untersuchungen zum Nachweis und/oder zur mengenmäßigen Schätzung von Bestandteilen tierischen Ursprungs in Futtermitteln die mikroskopische Untersuchung durchgeführt wird, gemäß den im Anhang dargelegten Leitlinien verfahren wird.

Im Einvernehmen mit den Anforderungen der zuständigen Behörden an die Untersuchung ist der Punkt 7 „Berechnung und Auswertung“ dieser Leitlinien als fakultativ zu betrachten, vorausgesetzt, daß, wenn eine mengenmäßige Schätzung durchgeführt wird, die Bestimmungen gemäß Punkt 7 befolgt werden müssen.

Die Festlegung dieser Leitlinien für das Verfahren der mikroskopischen Untersuchung schließt die alternative oder zusätzliche Verwendung anderer Analyseverfahren, außer der mikroskopischen Untersuchung, die sich als wissenschaftlich geeignet für den Nachweis und/oder die mengenmäßige Schätzung tierischer Bestandteile erwiesen haben, nicht aus.

Artikel 2

Die Mitgliedstaaten erlassen die erforderlichen Rechts- und Verwaltungsvorschriften, um dieser Richtlinie spätestens bis zum 1. September 1999 nachzukommen. Sie setzen die Kommission unverzüglich davon in Kenntnis.

Wenn die Mitgliedstaaten diese Vorschriften erlassen, nehmen sie in den Vorschriften selbst oder durch einen Hinweis bei der amtlichen Veröffentlichung auf diese Richtlinie Bezug. Die Mitgliedstaaten regeln die Einzelheiten dieser Bezugnahme.

Artikel 3

Diese Richtlinie tritt am zwanzigsten Tag nach ihrer Veröffentlichung im *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* in Kraft.

Diese Richtlinie ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

Brüssel, den 13. November 1998

Für die Kommission

Franz FISCHLER

Mitglied der Kommission

ANHANG

Leitlinien für den mikroskopischen Nachweis und die Schätzung von tierischen Bestandteilen in Futtermitteln**1. Zweck und Anwendungsbereich**

Diese Leitlinien sollten verwendet werden, wenn der Nachweis von Bestandteilen tierischen Ursprungs (definiert als Erzeugnisse aus der Verarbeitung von Körpern und Körperteilen von Säugetieren, Geflügel und Fischen) in Futtermitteln durch mikroskopische Untersuchung geführt wird.

Wird eine mengenmäßige Schätzung der tierischen Bestandteile durchgeführt, so sind die Bestimmungen unter Punkt 7 dieser Leitlinien zu befolgen.

2. Genauigkeit

Je nach Art der tierischen Bestandteile können sehr kleine Mengen (<0,1 %) in Futtermitteln nachgewiesen werden.

3. Prinzip

Eine repräsentative Untersuchungsprobe, die gemäß den Bestimmungen der Richtlinie 76/371/EWG der Kommission vom 1. März 1976 zur Festlegung gemeinschaftlicher Probenahmeverfahren für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln⁽¹⁾ gezogen und in geeigneter Weise vorbereitet wurde, wird zum Nachweis verwendet. Identifiziert werden die tierischen Bestandteile anhand charakteristischer, mikroskopisch erkennbarer Merkmale (d. h. Muskelfasern und andere Fleischpartikel, Knorpel, Knochen, Horn, Haare, Borsten, Blut, Federn, Eierschalen, Gräten, Schuppen). Der Nachweis wird sowohl in der Siebfraction (6.1) als auch im konzentrierten Sediment (6.2) der Probe erbracht.

4. Reagenzien⁽²⁾**4.1. Einbettungsmittel****4.1.1. Chloralhydrat (60 Gew.-%)****4.1.2. Paraffinöl****4.2. Konzentrationsmittel****4.2.1. Tetrachlorethylen (Dichte 1,62)****4.3. Nachweisreagenzien****4.3.1. Bradford-Reagenz****4.3.2. Jod-/Jodkalium-Lösung****4.3.3. Millon-Reagenz****4.3.4. Cystin-Reagenz (2 g Bleiacetat, 10 g NaOH/100 ml H₂O)**

Die aufgeführten Reagenzien können durch andere ersetzt werden, die zu vergleichbaren Ergebnissen führen.

5. Geräte und Hilfsmittel**5.1. Analytische Waage (Genauigkeit von 0,001 g)****5.2. Zerkleinerungsgeräte (Reibe, Mühle usw.)****5.3. Sieb mit einer Maschenweite von 0,1 mm bis 2 mm****5.4. Stereomikroskop (bis zu 50fache Vergrößerung)****5.5. Zusammengesetztes Mikroskop (bis zu 400fache Vergrößerung), mit Durchlicht/Polarisierungseinrichtung****5.6. Standardglaswaren für Laboratorien**

⁽¹⁾ ABl. L 102 vom 15. 4. 1976, S. 1.

⁽²⁾ Die aufgeführten Reagenzien sind kommerziell erhältlich, sofern keine anderen Angaben gemacht sind.

6. *Verfahren*

Mindestens 10 g der Untersuchungsprobe werden, abhängig von der Art des vorliegenden Materials, falls notwendig behandelt (depelletiert oder mittels geeigneter Zerkleinerungsgeräte vorsichtig zerkleinert) und dann in zwei repräsentative Teile geteilt, einen von mindestens 5 g für die Siebfraction (6.1) und einen von mindestens 2 g für das konzentrierte Sediment (6.2). Färbungen mit Nachweisreagenzien (6.3) sind für die Identifikation empfehlenswert.

6.1. Nachweis tierischer Bestandteile in den Siebfractionen

Mindestens 5 g werden durch Sieben (5.3) in mindestens zwei Fractionen getrennt.

Die Siebfraction(en) > 0,5 mm (oder ein repräsentativer Teil der Fraction) werden in einer dünnen Schicht auf einer geeigneten Unterlage aufgebracht und unter dem Stereomikroskop (5.4) bei verschiedenen Vergrößerungen systematisch auf tierische Bestandteile untersucht.

Präparate mit der (den) Siebfraction(en) < 0,5 mm werden systematisch unter dem zusammengesetzten Mikroskop (5.5) bei verschiedenen Vergrößerungen auf tierische Bestandteile untersucht.

6.2. Nachweis tierischer Bestandteile aus dem konzentrierten Sediment

Mindestens 2 g (auf 0,001 g genau) der Probe werden in ein Reagenzglas oder einen Scheidetrichter eingewogen und mit mindestens 15 ml Tetrachlorethylen (4.2.1) versetzt. Nach mehrmaligem Umrühren/Schütteln und ausreichender Standzeit (mindestens 1 Minute und nicht mehr als 2 bis 3 Minuten) wird das Sediment abgetrennt.

Das Sediment wird in einem Abzugschrank getrocknet und anschließend ausgewogen (auf 0,001 g genau). Das Wiegen ist nur notwendig, wenn eine Schätzung erforderlich ist. Das gesamte trockene Sediment oder ein Teil davon wird unter dem Stereomikroskop (5.4) und dem zusammengesetzten Mikroskop (5.5) auf Knochenbestandteile untersucht.

6.3. Verwendung von Einbettungsmitteln und Nachweisreagenzien

Die mikroskopische Bestimmung der Bestandteile tierischen Ursprungs kann durch spezielle Einbettungsmittel und Nachweisreagenzien unterstützt werden.

Chloralhydrat (4.1.1):	Durch vorsichtiges Erhitzen können Zellenstrukturen eindeutiger erkannt werden, weil Stärketeilchen gelatinieren und unerwünschter Zelleninhalt entfernt wird.
Paraffinöl (4.1.2):	Knochenbestandteile sind in diesem Einbettungsmittel gut nachzuweisen, weil die meisten Lakunen mit Luft gefüllt bleiben und als schwarze etwa 5 bis 15 µm große Löcher zu erkennen sind.
Bradford-Reagenz (4.3.1):	Wird für den Nachweis von Eiweiß verwendet (typische Blaufärbung). Mit Wasser im Verhältnis von ungefähr 1:4 verdünnen.
Jod/Jodkalium (4.3.2):	Wird für den Nachweis von Stärke (Blau-Violett-färbung) und Eiweiß (Gelb-Orange-färbung) verwendet. Kann bei Bedarf verdünnt werden.
Millon-Reagenz (4.3.3):	Durch vorsichtiges Erhitzen werden die Knochenbestandteile rosa gefärbt.
Cystin-Reagenz (4.3.4):	Durch vorsichtiges Erhitzen werden cystinhaltige Bestandteile (Haare, Federn usw.) schwarzbraun gefärbt.

7. *Berechnung und Auswertung*

Wird eine mengenmäßige Schätzung der tierischen Bestandteile durchgeführt, so sind Bestimmungen dieses Punktes zu befolgen.

Die Berechnung kann nur erfolgen, wenn die tierischen Bestandteile Knochenfragmente enthalten.

Knochenfragmente warmblütiger Landtiere (d. h. Säugetiere und Vögel) sind von den verschiedenen Fischknochen im mikroskopischen Präparat durch die charakteristischen Lakunen (Knochenzellenhöhlen) zu unterscheiden. Die Schätzung des Anteils der tierischen Bestandteile in der Untersuchungsprobe erfolgt unter Berücksichtigung

- des geschätzten Anteils (Gew. — %) der Knochenfragmente im konzentrierten Sediment und
- des Knochenanteils (Gew. — %) der tierischen Bestandteile.

Die Schätzung ist auf der Grundlage von (wenn möglich) mindestens drei Präparaten und mindestens fünf Feldern pro Präparat durchzuführen. Das konzentrierte Sediment enthält in der Regel bei Mischfuttermitteln neben Knochenfragmenten von Landtieren und Fischknochenfragmenten auch andere Partikel mit hohem spezifischen Gewicht, z. B. Mineralien, Sand, verholzte Pflanzenfragmente usw.

7.1. Geschätzter Anteil der Knochenfragmente

$$\text{Knochenfragmente von Landtieren (\%)} = \frac{S \times c}{W}$$

$$\text{Gräten- und Schuppenfragmente (\%)} = \frac{S \times d}{W}$$

(S = Sediment (mg), c = Korrekturfaktor (%) für den geschätzten Anteil von Landtierknochen im Sediment, d = Korrekturfaktor (%) für den geschätzten Anteil von Fischknochen- und Schuppenfragmenten im Sediment, W = Einwaage des Probenmaterials für die Sedimentation (mg)).

7.2. Geschätzter Anteil tierischer Bestandteile

Der Knochenanteil in tierischen Erzeugnissen kann sehr stark variieren. (Der Prozentsatz liegt im Fall von Knochenmehlen in der Größenordnung von 50 bis 60 % und im Fall von Fleischmehlen bei 20 bis 30 %; bei Fischmehlen variiert der Knochen- und Schuppenanteil je nach Kategorie und Ursprung des Fischmehls und liegt normalerweise bei 10 bis 20 %).

Ist die Art des Tiermehls in der Probe bekannt, so ist es möglich, den Anteil zu schätzen:

$$\text{Geschätzter Anteil an Bestandteilen von Landtieren (\%)} = \frac{S \times c}{W \times f} \times 100$$

$$\text{Geschätzter Anteil an Bestandteilen von Fischen (\%)} = \frac{S \times d}{W \times f} \times 100$$

(S = Sediment (mg), c = Korrekturfaktor (%) für den geschätzten Anteil von Landtierknochenbestandteilen im Sediment, d = Korrekturfaktor (%) für den geschätzten Anteil von Fischknochen- und Schuppenfragmenten im Sediment, f = Korrekturfaktor für Knochenanteil der tierischen Bestandteile der Untersuchungsprobe, W = Einwaage des Probenmaterials für die Sedimentation (mg)).

8. Darstellung der Untersuchungsergebnisse

Die verschiedenen Befunde können wie folgt dargestellt werden:

- 8.1. Soweit mikroskopisch erfaßbar, wurden in der vorliegenden Probe keine tierischen Bestandteile (wie unter Punkt 1 definiert) festgestellt.
- 8.2. Soweit mikroskopisch erfaßbar, wurden in der vorliegenden Probe tierische Bestandteile ⁽¹⁾ festgestellt.
In diesem Fall kann das Ergebnis der Untersuchung erforderlichenfalls weiter präzisiert werden:
 - 8.2.1. Soweit mikroskopisch erfaßbar, wurden in der vorliegenden Probe geringe Mengen tierischer Bestandteile ⁽¹⁾ nachgewiesen.
 - 8.2.2. Je nach Erfahrung des Analytikers,
 - entweder: soweit mikroskopisch erfaßbar, wurden in der vorliegenden Probe tierische Bestandteile ⁽¹⁾ festgestellt. Der Anteil der Knochenfragmente (von Fischen oder Landtieren — im Fall von Knochenfragmenten von Landtieren, gegebenenfalls Spezifikation in Knochenfragmenten von Geflügel oder von Säugetieren, siehe Bemerkung 9.3) wird auf eine Größenordnung von ... % geschätzt, was ... % der tierischen Bestandteile bei Berechnung auf der Grundlage eines Knochenanteils von ... % entspricht (= Anwendung des Korrekturfaktors f);
 - oder: soweit mikroskopisch erfaßbar, wurden in der vorliegenden Probe tierische Bestandteile ⁽¹⁾ in meßbarer Größenordnung festgestellt.

⁽¹⁾ Hier sollte angegeben werden, welche Bestandteile gefunden wurden, z. B. Knochen (Fisch oder Landtiere), Fleischbestandteile usw.

In den Fällen der Punkte 8.2, 8.2.1 und 8.2.2, d. h. wenn Knochenbestandteile von Landtieren nachgewiesen wurden, sollte der Bericht folgenden Zusatz enthalten:

„Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß es sich um Bestandteile von Säugetieren handelt.“

Dieser Zusatz ist nicht notwendig in den Fällen, in denen die Knochenfragmente von Landtieren spezifiziert sind in Knochenfragmente von Geflügel oder von Säugetieren (siehe Bemerkung 9.3).

9. *Bemerkungen*

- 9.1. Bei vielen und großen Bestandteilen im konzentrierten Sediment ist es empfehlenswert, das Sediment in zwei Fraktionen zu sieben (d. h. ein 320-µm-Sieb zu benutzen). Die grobe Fraktion wird als Paraffinölpräparat unter einem Stereomikroskop mit Durchlicht untersucht. Die feine Fraktion wird unter dem zusammengesetzten Mikroskop untersucht.
 - 9.2. Das konzentrierte Sediment (6.2) kann falls erforderlich mit Hilfe eines Konzentrationsmittels mit höherer Dichte weiter unterteilt werden.
 - 9.3. Je nach Erfahrung des Analytikers kann zwischen Bestandteilen von Säugetieren und von Geflügel anhand spezifischer histologischer Eigenschaften unterschieden werden.
-