

**RICHTLINIE 2003/126/EG DER KOMMISSION
vom 23. Dezember 2003**

**über die Analysemethode zur Bestimmung der Bestandteile 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⁾, insbesondere auf Artikel 2,

in Erwägung nachstehender Gründe:

- (1) 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.
- (2) Bestimmungen über die Kennzeichnung von Futtermitteln und das Verbot der Verwendung bestimmter Arten tierischer Proteine in Futtermitteln für bestimmte Tierkategorien setzen zuverlässige Analysemethoden voraus, mit deren Hilfe ihr Vorhandensein und gegebenenfalls ihr Anteil ermittelt werden kann.
- (3) Bei der in der 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 ⁽²⁾ beschriebenen Methode handelt es sich um die derzeit einzige validierte Methode zur Untersuchung von Futtermitteln auf das Vorhandensein tierischer Proteine, einschließlich der Proteine, die nach dem Standard 133 °C/3 bar/20' behandelt wurden.
- (4) In einer vergleichenden Untersuchung zur Bestimmung verarbeiteter tierischer Proteine wurde vor kurzem nachgewiesen, dass die unterschiedliche Anwendung der in der Richtlinie 98/88/EG festgelegten mikroskopischen Untersuchungen zu deutlichen Unterschieden führt, was Empfindlichkeit, Spezifität und Genauigkeit der Methode anbelangt. Zur Harmonisierung und Verbesserung der Bestimmung verarbeiteter tierischer Proteine sollten die Bestimmungen über die mikroskopische Methode weiter spezifiziert und zwingend vorgeschrieben werden. Es ist sicherzustellen, dass die Laboranten, die diese Methode anwenden, entsprechend geschult sind, da die erfolgreiche Durchführung von den Fertigkeiten des untersuchenden Laboranten abhängt.
- (5) Die Richtlinie 98/88/EG sollte daher ersetzt werden.

- (6) Die in dieser Richtlinie vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Ausschusses für die Lebensmittelkette und Tiergesundheit —

HAT FOLGENDE RICHTLINIE ERLASSEN:

Artikel 1

Die Mitgliedstaaten stellen sicher, dass die amtliche Untersuchung von Futtermitteln, sofern sie zur amtlichen Kontrolle des Vorhandenseins, der Ermittlung und/oder Schätzung der Menge an Bestandteilen tierischen Ursprungs in Futtermitteln im Rahmen des koordinierten Kontrollprogramms im Bereich der Tierernährung gemäß der Richtlinie 95/53/EG des Rates ⁽³⁾ durchgeführt werden, in Übereinstimmung mit den Bestimmungen des Anhangs zur vorliegenden Richtlinie vorgenommen werden.

Artikel 2

Die Mitgliedstaaten stellen sicher, dass Laboratorien, die amtliche Kontrollen auf das Vorhandensein von Bestandteilen tierischen Ursprungs in Futtermitteln durchführen, regelmäßig an Leistungstests zu den Analysemethoden teilnehmen und dass das mit der Durchführung befasste Laborpersonal die entsprechenden Schulungen erhält.

Artikel 3

Die Richtlinie 98/88/EG wird aufgehoben.

Bezugnahmen auf die aufgehobene Richtlinie gelten als Bezugnahmen auf die vorliegende Richtlinie.

Artikel 4

- (1) Die Mitgliedstaaten erlassen die erforderlichen Rechts- und Verwaltungsvorschriften, um dieser Richtlinie spätestens am 1. Juli 2004 nachzukommen. Sie teilen der Kommission unverzüglich den Wortlaut dieser Rechtsvorschriften mit und fügen eine Entsprechungstabelle dieser Rechtsvorschriften und der vorliegenden Richtlinie bei.

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

- (2) Die Mitgliedstaaten teilen der Kommission den Wortlaut der innerstaatlichen Rechtsvorschriften mit, die sie auf dem unter diese Richtlinie fallenden Gebiet erlassen.

⁽¹⁾ ABl. L 170 vom 3.8.1970, S. 2. Richtlinie zuletzt geändert durch die Verordnung (EWG) Nr. 807/2003 (AbL. L 122 vom 16.5.2003, S. 36).

⁽²⁾ ABl. L 318 vom 27.11.1998, S. 45.

⁽³⁾ ABl. L 265 vom 5.11.1995, S. 17. Richtlinie zuletzt geändert durch die Richtlinie 2001/46/EG (AbL. L 234 vom 1.9.2001, S. 55).

Artikel 5

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

Artikel 6

Diese Richtlinie ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

Brüssel, den 23. Dezember 2003

Für die Kommission
David BYRNE
Mitglied der Kommission

ANHANG

Bedingungen für die mikroskopische Feststellung, den Nachweis und die Schätzung von Bestandteilen tierischen Ursprungs in Futtermitteln**1. Zweck und Anwendungsbereich**

Diese Bedingungen gelten bei der Feststellung von Bestandteilen tierischen Ursprungs (definiert als Erzeugnisse aus der Verarbeitung von Tierkörpern oder Teilen von Tierkörpern von Säugetieren, Geflügel und Fischen) in Futtermitteln durch mikroskopische Untersuchung im Rahmen des koordinierten Kontrollprogramms im Bereich der Futtermittel gemäß der Richtlinie 95/53/EG. Unter der Voraussetzung, dass die in diesem Anhang aufgeführten Methoden bei allen amtlichen Untersuchungen angewandt werden, kann auch eine zweite Untersuchung mittels alternativer Methoden durchgeführt werden, um die Feststellung bestimmter Arten von tierischen Bestandteilen zu verbessern oder den Ursprung der tierischen Bestandteile weiter zu spezifizieren. Außerdem kann bei der Untersuchung bestimmter spezifischer Bestandteile, wie z. B. Plasma oder Knochen in Talg (siehe auch Ziffer 9), ein anderes Protokoll verwendet werden, sofern diese Analysen zusätzlich zu den im koordinierten Kontrollprogramm vorgesehenen durchgeführt werden.

2. Empfindlichkeit

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

3. Prinzip

Eine 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⁾ entnommene Probe wird nach geeigneter Aufbereitung zum Nachweis verwendet. Das nachfolgende Protokoll eignet sich für die Handhabung von Futtermitteln mit geringem Feuchtigkeitsgehalt. Futtermittel mit einem Feuchtigkeitsgehalt von über 14 % sind vor der Handhabung zu trockenen (zu kondensieren). Spezielle Futtermittel oder Futtermittel-Ausgangserzeugnisse (z. B. Fette, Öle) müssen gezielt behandelt werden (siehe Ziffer 9). 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**4.1. Einbettungsmittel**

4.1.1. Chloralhydrat (wässrig, 60 Gew.-%)

4.1.2. Lauge (NaOH 2,5 Gew.-% oder KOH 2,5 Gew.-%) für die Siebfractionen

4.1.3. Paraffinöl oder Glycerin (Viskosität: 68-81) für mikroskopische Beobachtungen im Sediment

4.2. Spülmittel

4.2.1. Alkohol, 96 %

4.2.2. Azeton

4.3. Konzentrationsmittel

4.3.1. Tetrachlorethylen (Dichte 1,62)

4.4. Färbemittel

4.4.1. Jod-/Jodkalium-Lösung (Löse 2 g Jodkalium in 100 ml Wasser und füge unter häufigem Schütteln 1 g Jod zu.)

4.4.2. Alizarinrot (Löse 2,5 ml 1 M Salzsäure in 100 ml Wasser und füge dieser Lösung 200 mg Alizarinrot bei.)

4.4.3. Cystin-Reagens (2 g Bleidiazetat, 10 g NaOH/100 ml H₂O)

4.4.4. Jod-/Jodkalium-Lösung (gelöst in 70 % Ethanol)

⁽¹⁾ ABl. L 102 vom 15.4.1976, S. 1.

4.5. Bleichmittel

4.5.1. Handelsübliche Natriumhydroxidlösung (9,6 % aktives Chlorid)

5. Geräte und Hilfsmittel

5.1. Analytische Waage (Genauigkeit von 0,01 g, außer für das konzentrierte Sediment: 0,001 g)

5.2. Zerkleinerungsgeräte (Mühle oder Mörser, insbesondere für Futtermittel > 15 % Fett bei Analyse)

5.3. Sieb mit einer Maschenweite von höchstens 0,50 mm

5.4. Scheidetrichter oder Absetzglas mit konischem Boden

5.5. Stereomikroskop (mindestens 40fache Vergrößerung)

5.6. Zusammengesetztes Mikroskop (mindestens 400fache Vergrößerung), mit Durchlicht oder Polarisierungseinrichtung

5.7. Standardglaswaren für Laboratorien

Alle Geräte sind gründlich zu reinigen. Scheidetrichter und Glaswaren sind in einer Spülmaschine zu waschen. Siebe sind mit einer steifborstigen Bürste zu reinigen.

6. Verfahren

Pelletierte Futtermittel können vorgesiebt werden, sofern beide Fraktionen als getrennte Probe untersucht werden.

Mindestens 50 g der Untersuchungsprobe werden behandelt (mittels geeigneter Zerkleinerungsgeräte (5.2) vorsichtig zerkleinert, sofern dies zur Erreichung einer geeigneten Struktur erforderlich ist). Das zerkleinerte Material wird in zwei repräsentative Teile geteilt, einen für die Siebfraction (mindestens 5 g) (6.1) und einen für das konzentrierte Sediment (mindestens 5 g) (6.2). Färbungen mit Nachweisreagenzien (6.3) können zum Nachweis zusätzlich verwendet werden.

Zur Angabe der Art des tierischen Proteins und des Ursprungs der Partikel kann ein System zur Unterstützung der Entscheidungsfindung, wie z. B. ARIES, verwendet werden, und Referenzproben können dokumentiert werden.

6.1. Nachweis von Bestandteilen tierischen Ursprungs in den Siebfractionen

Mindestens 5 g der Probe werden durch Sieben (5.3) in zwei Fraktionen getrennt.

Die Siebfraction(en) mit den großen Partikeln (oder ein repräsentativer Teil der Fraktion) wird in einer dünnen Schicht auf einer geeigneten Unterlage aufgebracht und unter dem Stereomikroskop (5.5) bei verschiedenen Vergrößerungen systematisch auf Bestandteile tierischen Ursprungs untersucht.

Präparate mit der Feinpartikel-Siebfraction(en) werden systematisch unter dem zusammengesetzten Mikroskop (5.6) bei verschiedenen Vergrößerungen auf Bestandteile tierischen Ursprungs untersucht.

6.2. Nachweis von Bestandteilen tierischen Ursprungs im konzentrierten Sediment

Mindestens 5 g (auf 0,01 g genau) der Probe werden in einen Scheidetrichter oder ein Absetzglas mit konischem Boden eingewogen und mit mindestens 50 ml Tetrachlorethylen (4.3.1) versetzt. Die Mischung wird wiederholt geschüttelt oder umgerührt.

— Wird ein geschlossener Scheidetrichter verwendet, so wird das Sediment nach einer ausreichenden Standzeit (mindestens 3 Minuten) abgetrennt. Es wird noch einmal geschüttelt und nach weiteren mindestens 3 Minuten Standzeit noch einmal abgetrennt.

— Wird ein offener Scheidetrichter verwendet, so wird das Sediment nach einer Standzeit von mindestens 5 Minuten abgetrennt.

Das gesamte Sediment wird getrocknet und anschließend ausgewogen (auf 0,001 g genau). Das Wiegen ist nur notwendig, wenn eine Schätzung erforderlich ist. Besteht das Sediment aus vielen großen Partikeln, kann es durch ein Sieb (5.3) in zwei Fraktionen gesiebt werden. Das trockene Sediment wird unter dem Stereomikroskop (5.5) und dem zusammengesetzten Mikroskop (5.6) 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.
- Lauge (4.1.2): Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid klären das Material und tragen so zur Feststellung von Muskelfasern, Haaren und sonstigen Keratinstrukturen bei.
- Paraffinöl und Glycerin (4.1.3): Knochenbestandteile sind in diesem Einbettungsmittel gut nachzuweisen, weil die meisten Lakunen mit Luft gefüllt bleiben und als schwarze, etwa 5-15 µm große Löcher zu erkennen sind.
- Jod-/Jodkalium-Lösung (4.4.1): Wird zum Nachweis von Stärke (Blau-Violett-färbung) und Protein (Gelb-Orange-färbung) verwendet. Kann bei Bedarf verdünnt werden.
- Alizarinrot-Lösung (4.4.2): Rot-/Pinkfärbung von Knochen, Gräten und Schuppen. Das gesamte Sediment wird vor der Trocknung (siehe 6.2) in ein Reagenzglas gefüllt und zweimal mit etwa 5 ml Alkohol (4.2.1) gespült (jedes Mal wird verwirbelt, nach etwa einer Minute Absetzzeit wird das Lösungsmittel abgegossen). Vor der Verwendung dieses Nachweisreagens wird das Sediment durch Zusatz von mindestens 1 ml Natriumhydroxidlösung (4.5.1) gebleicht. Die Reaktionszeit beträgt etwa 10 Minuten. Danach wird das Reagenzglas mit Wasser gefüllt, nach einer Absetzzeit des Sediments von 2-3 Minuten werden das Wasser und die suspendierten Partikel abgeschüttelt. Das Sediment wird noch zweimal mit etwa 10 ml Wasser gespült (dabei wird verwirbelt, absetzen lassen, und das Wasser wird jedes Mal abgegossen). Zwei bis zehn oder mehr Tropfen (je nach Rückstandsmenge) der Alizarinrot-Lösung werden dann zugefügt. Die Mischung wird geschüttelt, und die Reaktion kann ein paar Sekunden lang stattfinden. Das eingefärbte Sediment wird zweimal mit etwa 5 ml Alkohol (4.2.1) gespült und anschließend einmal mit Azeton (4.2.2) (jedes Mal wird verwirbelt, das Lösungsmittel wird nach einer Absetzzeit von einer Minute abgegossen). Danach ist das Sediment fertig zur Trocknung.
- Cystin-Reagens (4.4.3): Durch vorsichtiges Erhitzen werden cystinhaltige Bestandteile (Haare, Federn usw.) schwarzbraun gefärbt.

6.4. Untersuchung von Futtermitteln, die möglicherweise Fischmehl enthalten

Mindestens ein Objektträger mit der feinen Siebfraction und der feinen Fraction des Sediments wird unter dem zusammengesetzten Mikroskop untersucht (siehe 6.1 und 6.2).

Enthält die Etikettierung die Angabe, dass Fischmehl zu den Zutaten zählt, oder sofern das Vorhandensein von Fischmehl vermutet oder in der ersten Untersuchung festgestellt wird, werden mindestens zwei weitere Objektträger mit der feinen Siebfraction der ursprünglichen Probe sowie die gesamte Sedimentfraction untersucht.

7. Berechnung und Auswertung

Die Mitgliedstaaten stellen sicher, dass die unter dieser Ziffer beschriebenen Verfahren angewandt werden, wenn eine amtliche Analyse zur Schätzung des Anteils (und nicht nur des Vorhandenseins) von Bestandteilen tierischen Ursprungs durchgeführt wird.

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 Bestandteile tierischen Ursprungs.

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*

Knochenfragmente von Landtieren (%) = $S \times c \times W$

Gräten- und Schuppenfragmente (%) = $S \times d \times W$

(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 an Bestandteilen tierischen Ursprungs*

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

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

Geschätzter Anteil an Bestandteilen von Landtiererzeugnissen (%) = $(S \times c) (W \times f) \times 100$

Geschätzter Anteil an Bestandteilen von Fischerzeugnissen (%) = $(S \times d) (W \times f) \times 100$

(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 Bestandteile tierischen Ursprungs der Untersuchungsprobe, W = Einwaage des Probenmaterials für die Sedimentation (mg))

8. **Darstellung der Untersuchungsergebnisse**

Der Bericht enthält zumindest Informationen über das Vorhandensein von Bestandteilen, die von Landtieren oder von Fischmehl stammen. Die verschiedenen Befunde können wie folgt dargestellt werden:

8.1. *hinsichtlich des Vorhandenseins von Bestandteilen von Landtieren:*

— Soweit mikroskopisch erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe keine Bestandteile von Landtieren festgestellt.

Oder:

— Soweit mikroskopisch erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe Bestandteile von Landtieren festgestellt;

8.2. *und hinsichtlich des Vorhandenseins von Fischmehl:*

— Soweit mikroskopisch erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe keine Bestandteile von Fischen festgestellt.

Oder:

— Soweit mikroskopisch erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe Bestandteile von Fischen festgestellt.

Sofern von Fischen oder Landtieren stammende Bestandteile festgestellt werden, enthält der Bericht über die Untersuchungsergebnisse erforderlichenfalls auch eine Schätzung der Menge an nachgewiesenen Bestandteilen (x %, < 0,1 %, 0,1-0,5 %, 0,5-5 % oder > 5 %), nach Möglichkeit eine weitere Bestimmung der Art von Landtieren und der nachgewiesenen tierischen Bestandteile (Muskelfasern, Knorpel, Knochen, Horn, Haare, Borsten, Federn, Blut, Eierschalen, Gräten, Schuppen).

Wird die Menge an tierischen Bestandteilen geschätzt, ist der verwendete Korrekturfaktor f anzugeben.

Werden Knochenbestandteile von Landtieren nachgewiesen, 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.

9. **Fakultatives Protokoll zur Analyse von Fett oder Öl**

Folgendes Protokoll kann zur Analyse von Fett oder Öl verwendet werden:

- Handelt es sich um festes Fett, wird es beispielsweise in einem Mikrowellenofen erhitzt, bis es flüssig ist.
 - Mittels einer Pipette werden der Probe am Boden 40 ml entnommen und in ein Zentrifugenröhrchen gegeben.
 - Zentrifugieren 10 Minuten bei 4 000 U/min.
 - Ist das Fett nach der Zentrifugierung fest, wird es noch einmal in einem Ofen erwärmt, bis es flüssig ist. Danach ist die Zentrifugierung 5 Minuten lang bei 4 000 U/min zu wiederholen.
 - Mit Hilfe eines kleinen Löffels oder eines Spatels wird eine Hälfte der abgegossenen Verunreinigungen auf eine kleine Petrischale oder einen Objektträger zum mikroskopischen Nachweis eines möglichen Gehalts an tierischen Bestandteilen aufgebracht (Fleischfasern, Federn, Knochenfragmente, ...). Als Einbettungsmittel für die mikroskopische Untersuchung wird Paraffinöl oder Glycerin empfohlen.
 - Die verbleibenden Verunreinigungen werden zur Sedimentierung gemäß Ziffer 6.2 verwendet.
-