

KOMISSION ASETUS (EY) N:o 765/2002,**annettu 3 päivänä toukokuuta 2002,****vientitukeen oikeuttavien luuttomiksi leikattujen naudanlihapalojen fyysisten tarkastusten näytteenotosta ja näihin tarkastuksiin liittyvistä tietyistä yksityiskohtaisista säännöistä**

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon naudanliha-alan yhteisestä markkinajärjestelystä 17 päivänä toukokuuta 1999 annetun neuvoston asetuksen (EY) N:o 1254/1999⁽¹⁾, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna komission asetuksella (EY) N:o 2345/2001⁽²⁾, ja erityisesti sen 33 artiklan 12 kohdan,ottaa huomioon tukea tai muita taloudellisia suorituksia saavien maataloustuotteiden viennin yhteydessä suoritettavasta valvonnasta 12 päivänä helmikuuta 1990 annetun neuvoston asetuksen (ETY) N:o 386/90⁽³⁾, sellaisena kuin se on muutettuna asetuksella (EY) N:o 163/94⁽⁴⁾, ja erityisesti sen 6 artiklan,

sekä katsoo seuraavaa:

- (1) Asetuksen (EY) N:o 1254/1999 33 artiklan mukaisesti asetuksen (EY) N:o 1254/1999 1 artiklassa tarkoitettujen tuotteiden maailmanmarkkinahintojen ja yhteisön hintojen ero voidaan kattaa vientituella. Maataloustuotteiden osalta tämän järjestelmän soveltamista koskevat yksityiskohtaiset säännöt on vahvistettu maataloustuotteiden vientitukijärjestelmän soveltamista koskevista yhteisistä yksityiskohtaisista säännöistä 15 päivänä huhtikuuta 1999 annetulla komission asetuksella (EY) N:o 800/1999⁽⁵⁾, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna asetuksella (EY) N:o 2299/2001⁽⁶⁾.
- (2) Maataloustuotteiden nimikkeistä vientitukia varten 17 päivänä joulukuuta 1987 annetun komission asetuksen (ETY) N:o 3846/87⁽⁷⁾, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna asetuksella (EY) N:o 488/2002⁽⁸⁾, liitteen viidennessä ryhmässä säädetään tuen myöntämisestä tietynlaisille luuttomiksi leikatuille paloille sillä edellytyksellä, että vähärasvaisen naudanlihan vähimmäispitoisuus on paloissa tietynlainen ja että täysikasvaisista urospuolista naudoista tulevat palat on yksittäispakattu.
- (3) Komission asetuksessa (EY) N:o 2221/95⁽⁹⁾, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna asetuksella (EY) N:o 2655/1999⁽¹⁰⁾, säädetään fyysisiä tarkastuksia koskevista yksityiskohtaisista säännöistä tukea saavien maata-

loustuotteiden viennissä. Tiedyt naudanlihaa koskevat erityisedellytykset on vahvistettu vientitukeen oikeuttavien luuttomiksi leikattujen naudanlihapalojen fyysisten tarkastusten näytteenotosta 10 päivänä joulukuuta 1997 annetulla komission asetuksella (EY) N:o 2457/97⁽¹¹⁾.

- (4) Yhdenmukaisuuden vuoksi olisi säädettävä luuttomaksi leikattujen palojen tarkastamisesta sen toteamiseksi, että palat ovat lähtöisin täysikasvaisista urospuolisista naudoista, ja tarkastuksissa sovellettavasta menetelmästä sekä tarkoituksenmukaisista seuraamuksista siltä varalta, että lähtöisyyttä koskevaa edellytystä ei noudateta. Lisäksi asetus (EY) N:o 2457/97 olisi saatettava ajan tasalle, jotta huomioon voidaan ottaa muutokset, joita on tehty maataloustuotteiden vientitukien osalta sovellettavaan, asetuksessa (ETY) N:o 3846/87, sellaisena kuin se on muutettuna asetuksella (EY) N:o 2556/2001⁽¹²⁾, säädettyyn nimikkeistöön.
- (5) Selkeyden vuoksi on aiheellista kumota ja korvata asetus (EY) N:o 2457/97.
- (6) Tässä asetuksessa säädetyt toimenpiteet ovat naudanlihan hallintokomitean lausunnon mukaiset,

ON ANTANUT TÄMÄN ASETUKSEN:

1 artikla

1. Tätä asetusta sovelletaan asetuksen (ETY) N:o 386/90 2 artiklan a alakohdan mukaiseen tuotteen luonteeseen ja ominaisuuksien fyysiseen tarkastukseen, joka koskee:

- a) velvoitetta yksittäispakata seuraaviin tuotekoodeihin kuuluvat luuttomiksi leikatut palat:
- 0201 30 00 9100,
 - 0201 30 00 9120;
- b) seuraaviin tuotekoodeihin kuuluvien luuttomiksi leikattujen palojen lähtöisyyttä täysikasvaisista urospuolisista nautaeläimistä:
- 0201 30 00 9100,
 - 0201 30 00 9120;

⁽¹⁾ EYVL L 160, 26.6.1999, s. 1.⁽²⁾ EYVL L 315, 1.12.2001, s. 29.⁽³⁾ EYVL L 42, 16.2.1990, s. 6.⁽⁴⁾ EYVL L 24, 29.1.1994, s. 2.⁽⁵⁾ EYVL L 102, 17.4.1999, s. 11.⁽⁶⁾ EYVL L 308, 27.11.2001, s. 19.⁽⁷⁾ EYVL L 366, 24.12.1987, s. 1.⁽⁸⁾ EYVL L 76, 19.3.2002, s. 11.⁽⁹⁾ EYVL L 224, 21.9.1995, s. 13.⁽¹⁰⁾ EYVL L 325, 17.12.1999, s. 12.⁽¹¹⁾ EYVL L 340, 11.12.1997, s. 29.⁽¹²⁾ EYVL L 348, 31.12.2001, s. 1.

- c) seuraaviin tuotekoodeihin kuuluvien luuttomiksi leikattujen palojen vähärasvaisen lihan keskimääräisen vähimmäispitoisuuden noudattamista:
- 0201 30 00 9100,
 - 0201 30 00 9120,
 - 0201 30 00 9060,
 - 0202 30 90 9200.

2. Edellä 1 kohdassa tarkoitettujen tuotteiden kuvaus on asetuksen (ETY) N:o 3846/87 liitteessä I olevassa 5 ryhmässä oleva, vientitukia varten annetun maataloustuotteiden nimikkeistön kuvaus.

2 artikla

1. Fyysisen tarkastuksen näyte muodostuu erän kahdesta eri kohdasta otetuista kahdesta kokonaisesta laatikosta. Ensimmäinen laatikko on tarkoitettu valvontaviranomaisille ja toinen on varanäyte tulliviranomaisille.

2. Eränä pidetään tuotemäärää, jonka osalta jokin seuraavista ilmoituksista hyväksytään:

- a) asetuksen (EY) N:o 800/1999 5 artiklan 1 kohdassa tarkoitettu ilmoitus;
- b) asetuksen (EY) N:o 800/1999 26 artiklan 1 kohdassa tarkoitettu ilmoitus kyseisessä kohdassa tarkoitettua olettamuksen täyttyessä ja ainoastaan varastoinnin osalta.

3 artikla

Edellä olevan 1 artiklan 1 kohdan a alakohdassa tarkoitettujen edellytysten noudattamisen valvomiseksi tulliviranomaiset tutkivat, onko jokainen 2 artiklassa tarkoitettua näytteen ensimmäisessä laatikossa oleva pala yksittäispakattu ja sisältääkö jokainen pakkaus enintään yhden palan. Jos näin ei ole, tulliviranomaiset tekevät samat tutkimukset toisen laatikon osalta.

Silloin kun kahdessa laatikossa on vain yksi pala, jota ei ole yksittäispakattu, tai jos vain yhdessä pakkauksessa on enemmän kuin yksi pala, ja kun kaikki tuen myöntämiseen liittyvät muut edellytykset täyttyvät, erää ei pidetä sääntöjenvastaisuutena. Muussa tapauksessa todetaan sääntöjenvastaisuus.

Jos sääntöjenvastaisuus havaitaan, erän painon perusteella laskettu tuki lasketaan uudelleen korjatun painon perusteella. Korjattu paino saadaan vähentämällä ilmoitetusta nettopainosta prosenttiosuus, joka vastaa säännösten vastaisten palojen määrää suhteessa näytteen kokonaisnettopainoon.

Tämä asetus on kaikilta osiltaan velvoittava, ja sitä sovelletaan sellaisenaan kaikissa jäsenvaltioissa.

Tehty Brysselissä 3 päivänä toukokuuta 2002.

Komission puolesta

Franz FISCHLER

Komission jäsen

4 artikla

Edellä 1 artiklan 1 kohdan b alakohdassa tarkoitettua, lähtösiyettä koskevan edellytyksen täyttymisen tarkastamiseksi analysoitavan näytteen on koostuttava 2 artiklassa tarkoitettua näytteen ensimmäisestä laatikosta satunnaisesti otetuista yhdestä tai kahdesta palasta. Jos analyysissä havaitaan muuta lihaa kuin täysikasvuisten urospuolisten nautaeläinten lihaa, erälle ei myönnetä tukea.

Tarkastus on tehtävä liitteessä kuvatun menetelmän mukaisesti.

Tarkastus tehdään satunnaistarkastuksena, kattaa kaikki vientitoimet ja tehdään vähintään kolmasosalle fyysisiin tarkastuksiin valituista toimijoista, sanotun kuitenkin rajoittamatta valvonnan lisäämistä, silloin kun sääntöjenvastaisuuksia oletetaan esiintyvän.

5 artikla

Edellä olevan 1 artiklan 1 kohdan c alakohdan edellytysten noudattamisen varmistamiseksi 2 artiklassa tarkoitettua näytteen koko ensimmäisen laatikon sisältö silputaan ja sekoitetaan tasa-aineisen näytteen aikaansaamiseksi. Jos tämä näyte ei noudata vähärasvaisen lihan säädettyä pitoisuutta, toisen laatikon sisältö tutkitaan samalla tavalla. Jos näiden kahden laatikon keskiarvo ei vastaa säädettyä vähärasvaisen lihan keskimääräistä pitoisuutta, erälle ei myönnetä tukea.

6 artikla

Neuvoston asetuksen (ETY) N:o 2913/92⁽¹⁾ 68 artiklan mukaisesti ja sanotun rajoittamatta kyseisen asetuksen 78 artiklan soveltamista tässä asetuksessa säädetty näytteenotto ja valvonta toteutetaan tämän asetuksen 2 artiklan 2 kohdassa tarkoitettujen hyväksytyjen ilmoitusten tarkastuksen yhteydessä.

7 artikla

Kumotaan asetus (EY) N:o 2457/97.

8 artikla

Tämä asetus tulee voimaan 1 päivänä heinäkuuta 2002.

Sitä sovelletaan toimiin, joiden osalta 2 artiklan 2 kohdassa tarkoitettu ilmoitus hyväksytään 1 päivästä heinäkuuta 2002 alkaen.

⁽¹⁾ EYVL L 302, 19.10.1992, s. 1.

LIITE

TIETTYJEN LUUTTOMIKSI LEIKATTUJEN LIHAPALOJEN TUTKIMINEN SEN SELVITTÄMISEKSI, ONKO LIHA PERÄISIN TÄYSIKASVUISISTA UROSPUOLISISTA NAUDOISTA

Menetelmä nautaeläimen lihasta sukupuolen määrittämiseksi

Menetelmä perustuu polymeerasiketjureaktioon (PCR) ja siinä selostetaan näytteenotto, DNA:n eristäminen, PCR ja geelielektroforeesi.

1. Näytteenotto ja näytteen jakaminen pienempiin osiin

Osanäyte leikataan annetun lihapalan sisäosasta steriilillä (*) veitsellä (skalpelli tai vastaava). Näyte jauhetaan hienoksi tai leikataan pieniksi paloiksi, jotta DNA:n eristämisen tehokkuus voidaan varmistaa kohtuudella.

Näytteiden valmistus ei saa tapahtua PCR-työpisteessä. Materiaaleja on käsiteltävä helposti puhdistettavassa ympäristössä, mieluiten puhtaalla työpöydällä, sen varmistamiseksi, etteivät muut näytteet aiheuta ristikontaminaatiota.

Lihanäytteiden valmistelussa on käytettävä steriilejä (*) veitsiä, skalpelleja tai vastaavia välineitä.

2. DNA:n eristäminen ja puhdistaminen

DNA eristetään ja puhdistetaan joko tavanomaisilla menetelmillä⁽¹⁾, käyttövalmiilla reagenssipakkauksilla (periaate: lihanäyte liuotetaan hajotuspuskuriin, jossa on pinta-aktiivisia aineita, detergenttejä ja proteinaasi K:ta, liuotettu näyte siirretään DNA:ta sitovaan hartsin, muut kuin DNA-yhdisteet poistetaan useilla pesuilla ja lopuksi puhdistettu DNA eluoidaan veteen tai vähäsuolaiseen puskuriin) tai uuttamalla DNA natriumhydroksidiliuokseen⁽²⁾.

Geelielektroforeesilla tehdyn DNA-eristyksen kontrollointi on suositeltavaa, mutta ei pakollista.

Validointi: jokaisen uutettavan näyte-erän osalta on tehtävä samanaikaisesti yksi eristyskontrolli (eli ei lihaa) sovelletun menetelmän luotettavuuden todistamiseksi.

3. Polymeerasiketjureaktio (PCR)

Periaate: PCR:ssä on kolme vaihetta (denaturaatio, alukkeiden eli primerien jäähdyttäminen, pidentyminen eli ekstensio), ja se on toistettava 25–40 kertaa ("sykliin" määrä menetelmässä). Reagenssit (reaktiopuskuri, MgCl₂, deoksinukleotidit, alukkeet, lämpöstabiili DNA-polymeraasi, steriili vesi) sekoitetaan keskenään kehitetyn menetelmän mukaan, jolloin saadaan "mastermix". Mastermixin valmistuksessa on käytettävä tähän tarkoitukseen varattuja pipetteja. Tämän jälkeen mastermix lisätään DNA-templaattiin (eristetty DNA). Reaktio tehdään lämpötilasäädettävässä PCR-laitteessa. Reaktion päätyttyä PCR-tuotteet analysoidaan geelielektroforeesilla tai varastoidaan 4 °C:ssa tai -20 °C:ssa.

Suosittelussa⁽³⁾ menetelmässä on templaattista riippuen amplifioitava joko amelogeniiniilokuksen sisällä (homologinen geeni) tai ZFX/Y-alueen sisällä (allele-spesifinen PCR) oleva sekvenssi.

Näiden kahden menetelmätyypin spesifiset alukkeet ovat:

Amelogeniini eteenpäin -aluke: 5'-CAGCCAAACCTCCCTCTGC-3'

Amelogeniini taaksepäin -aluke: 5'-CCCGCTTGGTCTGTCTGTTC-3'

(Ennis, S. ja Gallagher, T.F. (1994) *Anim.Genet.* 25: 425–427)

Amelogeniini eteenpäin -aluke'-AAATTCTCTCACAGTCCAAG-3'

Amelogeniini taaksepäin -aluke: 5'-CAACAGGTAATTTTCCTTTAG-3'

(Chen, C.M., Hu, C.L., Wang, C.H., Hung, C.M., Wu, H.K., Choo, K.B., ja Cheng, W.T.K. (1999) *Mol.Reprod.Dev.* 54, 209–214)

ZFX (alleelispesifinen), eteenpäin: 5'-GACAGCTGAACAAGTGTACTG-3'

ZFX (alleelispesifinen), taaksepäin: 5'-AATGTCACACTTGAATCGCATC-3'

ZFY (alleelispesifinen), eteenpäin: 5'-GAAGGCCTTCCAATGTGATAAC-3'

ZFY (alleelispesifinen), taaksepäin: 5'-CTGACAAAAGGTGGCGATTCA-3'

(Kirkpatrick, B.W. ja Monson, R.L. (1993) *J.Reprod.Fertil.* 98: 335–340)

ZFX eteenpäin -aluke: 5'-AGCTGAACAAGGGTACTG -3'

ZFY taaksepäin -aluke: 5'-CAAGCTTACCAGCAAGTCA-3'

ZFX/Y eteenpäin -aluke: 5'-CCAGTATGGATTTCGCATGT-3'

(Zinovieva, N., Palma, G., Müller, M. ja Brem G. (1995) *Theriogenology* 43: 265)

(*) Ei DNA-kontaminaatiota.

(1) Sambrook, J., Fritsch, E.F. ja Maniatis, T. (toim.): *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbour Laboratory Press (1989).

(2) Elphinstone, J.G., Hennessey, J., Wilson, J.K. ja Stead, D.E. (1996) *Bulletin OEP/EPPO* 26, 663–678.

(3) Muiden kuin tässä suositellun PCR-menetelmän on oltava nimetyn vertailulaboratorion hyväksymä.

PCR-mastermixit on valmistettava puhtaalla työpöydällä, joka dekontaminoidaan töiden jälkeen detergenteillä ja UV-valolla.

- *Menetelmän kehittäminen*: julkaistuihin menetelmiin joudutaan ehkä tekemään muutoksia, jotka voivat koskea esimerkiksi mastermixin tarkkaa koostumusta (esim. MgCl₂-konsentraatio, alukekonsentraatio), käytetyn templaatti-DNA:n määrä ja mukautettu lämpötilaohjelma (lämpötilat, pitoajat). Jos esiintyy ei-spesifistisiä amplifikaatiotuotteita, on menetelmä optimoitava (esim. jäähdytyslämpötila, MgCl₂-konsentraatio, alukekonsentraatiot) tulosten laadun takaamiseksi.
- *Validointi*: rutiinianalyyseissä käytettävä menetelmä on validoitava asianmukaisesti. Näytejoukkoon on sisällytettävä seuraavat kontrollit: eristämiskontrolli (ei lihaa), negatiivinen PCR-kontrolli ja vertailunäytteet (uros- ja naaraspuolisten nautaeläinten lihaa, mutta myös yksi muuta kuin nautanlihaa oleva lihanäyte). Lisäksi on tehtävä revalidointi, jos menettelyn tärkeimpiä tekijöitä, kuten DNA-polymeraasi (eri toimittaja tai tuote) tai alukkeet (uusi erä), muutetaan.
- *Hyvä laboratorikäytäntö* on ensiarvoisen tärkeää, esim. työpisteen ja käytettyjen välineiden asianmukainen puhdistus ja dekontaminaatio, alukkeiden jakaminen pienempiin osiin, pipettien käyttö pelkästään kyseisissä kokeissa.

4. Amplimeerien analysointi geielektroforeesilla

Saadut PCR-fragmentit (amplimeerit) on analysoitava geielektroforeesilla. Tässä käytetään joko etidiumbromidilla värjättyjä agarosigeelejä, tai polyakryyliamidigeelejä, jotka värjätään hopeavärillä elektroforeettisen erotuksen jälkeen. Geelissä on käytettävä tarkoituksenmukaista molekyylipainomarkkeria saatujen amplimeerien koon määrittämiseksi likimääräisesti.

5. Dokumentaatio

Saadut tulokset on dokumentoitava asianmukaisesti (geelikuva, tulosten kuvaus, odottamattomien tulosten kirjaaminen).
