

**KOMISSION DIREKTIIVI 98/88/EY,**  
**annettu 13 päivänä marraskuuta 1998,**  
**eläinperäisten ainesosien mikroskooppisen tutkimuksen ja arvioinnin suuntavi-**  
**voista rehujen virallista tarkastusta varten**

(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon yhteisön näytteenotto- ja määritysmenetelmistä rehujen virallista tarkastusta varten 20 päivänä heinäkuuta 1970 annetun neuvoston direktiivin 70/373/EY<sup>(1)</sup>, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna Itävallan, Suomen ja Ruotsin liittymisasiakirjalla, ja erityisesti sen 2 artiklan,

sekä katsoo, että

direktiivissä 70/373/EY edellytetään, että rehujen viralliset tarkastukset sen toteamiseksi, että ne noudattavat niiden laatua ja koostumusta koskevista laeista, asetuksista ja hallinnollisista määräyksistä johtuvia vaatimuksia, on tehtävä käyttämällä yhteisön näytteenotto- ja määritysmenetelmiä,

BSE-tautiin ja nisäkkäistä saatuja valkuaisaineita sisältävään ruokintaan liittyvistä tietyistä suoja-toimenpiteistä 27 päivänä kesäkuuta 1994 tehdyllä komission päätöksellä 94/381/EY<sup>(2)</sup>, sellaisena kuin se on muutettuna päätöksellä 95/60/EY<sup>(3)</sup>, kielletään kaikki nisäkäskudoksesta peräisin olevan valkuaisen käyttö märehtijöiden ruokinnassa, lukuun ottamatta tiettyjä eläinperäisiä tuotteita ja sivutuotteita,

rehuseoksissa kiellettyjen rehujen ja aineksien luettelosta 9 päivänä syyskuuta 1991 tehdyllä komission päätöksellä 91/516/EY<sup>(4)</sup>, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna päätöksellä 97/582/EY<sup>(5)</sup>, kielletään nisäkäskudoksesta peräisin olevan valkuaisen käyttö märehtijöille tarkoitetuissa rehuseoksissa,

rehuseosten pitämisestä kaupan 2 päivänä huhtikuuta 1979 annetun komission direktiivin 79/373/EY<sup>(6)</sup>, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna komission direktiivillä 97/47/EY<sup>(7)</sup>, 5 artiklan c alakohdassa säädetään, että jos aineksia koskevat tiedot on ilmoitettava, kaikki ainekset on lueteltava ja että useat säännöt koskevat

aineksien luetteloa, mukaan lukien aineksien luettelaminen painon mukaan painavimmasta kevyimpään muille kuin lemmikkieläimille tarkoitetuissa rehuseoksissa,

direktiivien 77/101/EY<sup>(8)</sup>, 79/373/EY ja 91/357/EY<sup>(9)</sup> liitteiden muuttamisesta annetussa komission direktiivissä 97/47/EY otetaan käyttöön asianmukaista merkitsemistä koskevat säännökset, jotka liittyvät kieltoon käyttää kyseisiä tuotteita märehtijöiden ruokinnassa,

jäsenvaltiot ovat voineet hyväksyä tiukempia säännöksiä eläinlääkintäsäännöistä eläinjätteen hävittämisessä, käsitteilyssä ja markkinoille saattamisessa sekä taudinaiheuttajien ehkäisemisestä eläin- ja kalaperäisissä rehuissa sekä direktiivin 90/425/EY<sup>(10)</sup>, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna Itävallan, Suomen ja Ruotsin liittymisasiakirjalla, muuttamisesta 27 päivänä marraskuuta 1990 annetun neuvoston direktiivin 90/667/EY 1 artiklan 2 kohdan mukaisesti,

eläinperäisten ainesosien esiintyminen voidaan todeta mikroskooppisella tutkimuksella; maaeläinten luut ja kalanruodot voidaan erottaa toisistaan mikroskooppisella tutkimuksella; nisäkkäistä peräisin olevien luiden ja kanoista peräisin olevien luiden toisistaan erottamisen mahdollisuus mikroskooppisella tutkimuksella riippuu määritysten tekijän kokemuksesta; myös eläinperäisten ainesosien määrän arviointi riippuu paljolti määritysten tekijän kokemuksesta; tieteellisen ja teknologisen tietämyksen edistymisen perusteella voi olla tarkoituksenmukaista käyttää mikroskooppista tutkimusta muiden määritysmenetelmien ohella; näiden mikroskooppista tutkimusta koskevien suuntaviivojen vahvistaminen ei estä muiden kuin mikroskooppista tutkimusta koskevien tieteellisesti päteviksi todettujen määritysmenetelmien käyttöä sen asemesta tai sen lisäksi,

sen vuoksi on suositeltavaa antaa mikroskooppista tutkimusta koskevat säännökset suuntaviivoina, ja

tässä direktiivissä säädetyt toimenpiteet ovat pysyvän rehukomitean lausunnon mukaiset,

<sup>(1)</sup> EYVL L 170, 3.8.1970, s. 2

<sup>(2)</sup> EYVL L 172, 7.7.1994, s. 23

<sup>(3)</sup> EYVL L 55, 11.3.1995, s. 43

<sup>(4)</sup> EYVL L 281, 9.10.1991, s. 23

<sup>(5)</sup> EYVL L 237, 28.8.1997, s. 39

<sup>(6)</sup> EYVL L 86, 6.4.1979, s. 30

<sup>(7)</sup> EYVL L 211, 5.8.1997, s. 45

<sup>(8)</sup> EYVL L 32, 3.2.1977, s. 1

<sup>(9)</sup> EYVL L 193, 17.7.1991, s. 34

<sup>(10)</sup> EYVL L 363, 27.12.1990, s. 51

ON ANTANUT TÄMÄN DIREKTIIVIN:

*1 artikla*

Jäsenvaltioiden on säädettävä, että jos rehun eläinperäisten ainesosien määrän tunnistamiseksi ja/tai arvioimiseksi virallisia tarkastuksia varten tehdään mikroskooppinen tutkimus, se tehdään käyttämällä tämän direktiivin liitteessä olevia suuntaviivoja.

Määrityksestä vastaavien toimivaltaisten viranomaisten asettamien vaatimusten mukaisesti näiden suuntaviivojen kohta 7 "Laskutoimitukset ja arviointi" on katsottava suuntaa-antaviksi edellyttäen, että jos määrä arvioidaan, noudatetaan kohdan 7 säännöksiä.

Näiden mikroskooppisen tutkimuksen menetelmää koskevien suuntaviivojen vahvistaminen ei estä muiden kuin mikroskooppista tutkimusta koskevien sellaisten määritysmenetelmien käyttöä sen asemesta tai sen lisäksi, jotka on tieteellisesti todettu päteviksi eläinperäisten ainesosien määrän tunnistaminen ja/tai arvioimiseksi.

*2 artikla*

Jäsenvaltioiden on annettava ja julkaistava viimeistään 1 päivänä syyskuuta 1999 tämän direktiivin edellyttämät

lait, asetukset ja hallinnolliset määräykset. Niiden on ilmoitettava tästä komissiolle viipymättä.

Jäsenvaltioiden antamissa säädöksissä on viitattava tähän direktiiviin tai niihin on liitettävä tällainen viittaus, kun ne virallisesti julkaistaan. Jäsenvaltioiden on säädettävä siitä, miten viittaukset tehdään.

*3 artikla*

Tämä direktiivi tulee voimaan kahdentenakymmenentenä päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan yhteisöjen virallisessa lehdessä*.

Tämä direktiivi on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

Tehty Brysselissä 13 päivänä marraskuuta 1998.

*Komission puolesta*

Franz FISCHLER

*Komission jäsen*

## LIITE

## Rehujen eläinperäisten ainesosien mikroskooppisen tutkimuksen ja arvioinnin suuntaviivat

1. *Tavoite ja soveltamisala*

Näitä suuntaviivoja olisi käytettävä, jos eläinperäisiä ainesosia (jotka on määritelty nisäkkäiden, siipikarjan ja kalojen ruhojen tai ruhon osien käsittelystä saataviksi tuotteiksi) tutkitaan rehuista mikroskooppisen tutkimuksen avulla.

Jos eläinperäisten ainesosien määrä arvioidaan, on noudatettava näiden suuntaviivojen kohtaa 7.

2. *Herkkyyys*

Eläinperäisten ainesosien luonteesta riippuen voidaan tutkia ainesosien hyvin pieniä määriä (< 0,1 %).

3. *Periaate*

Tutkimukseen käytetään asianmukaisesti valmisteltua edustavaa näytettä, joka on otettu 1 päivänä maaliskuuta 1976 yhteisön näytteenottomenetelmästä rehujen virallista tarkastusta varten annetun komission direktiivin 76/371/ETY<sup>(1)</sup> säännösten mukaisesti. Eläinperäiset ainesosat tutkitaan tyyppilisten mikroskoopilla tunnistettavien ominaisuuksien (esim. lihassäikeiden ja muiden lihan osien, ruston, luiden, sarvien, karvojen, harjasten, veren, höyhenten, munankuorten, kalanruotojen, suomujen) perusteella. Tutkimus on tehtävä näytteen sekä siiviläfraktiosta (6.1) että tiiviistä sakasta (6.2).

4. *Reagenssit<sup>(2)</sup>*

## 4.1 Petausreagenssi

## 4.1.1 Kloraalihydraatti (vesipitoinen, 60 % w/v)

## 4.1.2 Paraffiiniöljy

## 4.2 Konsentroimisreagenssi

## 4.2.1 Tetrakloorietyleenä (tiheys 1,62)

## 4.3 Värjäysreagenssit

## 4.3.1 Bradfordin reagenssi

## 4.3.2 Jodi- tai kaliumjodiliuos

## 4.3.3 Millonin reagenssi

## 4.3.4 Kystiinireagenssi (2 g lyijyasetaattia ja 10 g NaOH:ta 100 ml:ssa vettä)

Luetellut reagenssit voidaan korvata muilla, joilla saadaan vastaavia tuloksia.

5. *Laitteet ja tarvikkeet*

## 5.1 Analyysivaaka (tarkkuus 0,001 g)

## 5.2 Jauhamisvälineet (raastin, mylly)

## 5.3 Seula, jossa on neliönmuotoiset reiät, silmäkoko 0,1–2 mm.

## 5.4 Stereomikroskooppi (enintään 50-kertainen suurennus)

## 5.5 Yhdistelmämikroskooppi (enintään 400-kertainen suurennus), jossa on läpivalo- ja polarisaatio-optiikka

## 5.6 Normaalit laboratorioon kuuluvat lasiastiat.

<sup>(1)</sup> EYVL L 102, 15.4.1976, s. 1

<sup>(2)</sup> Käytetään kaupallisesti saatavilla olevia reagensseja, ellei toisin ole mainittu.

## 6. Menetelmä

Vähintään 10 g näytettä (aineksen laadusta riippuen) olisi tarvittaessa käsiteltävä (pelletti hajotettava tai aines jauhattava huolellisesti sopivalla jauhamisvälineellä) ja jaettava kahteen osaan. Vähintään 5 g käytetään seulontaan (6.1) ja vähintään 2 g tiiviiseen sakkaan (6.2). Värjäämistä (6.3) suositellaan tunnistusta varten.

### 6.1 Eläinperäisten ainesosien osoittaminen seulafraktioista

Vähintään 5 g näytettä seulotaan seuloilla (5.3) vähintään kahteen fraktioon.

Seulafraktio(t), joiden koko on vähintään 0,5 mm (tai edustava osa fraktiota), levitetään ohuena kerroksena sopivalle alustalle ja tutkitaan järjestelmällisesti stereomikroskoopissa (5.4) erilaisilla suurennuksilla eläinperäisten ainesosien osoittamiseksi.

Alle 5 mm:n kokoisista seulafraktioista valmistetut objektilasinäytteet tutkitaan järjestelmällisesti yhdistelmä-mikroskoopissa (5.5) erilaisilla suurennuksilla eläinperäisten ainesosien osoittamiseksi.

### 6.2 Eläinperäisten ainesosien osoittaminen tiiviistä sakasta

Vähintään 2 g näytettä punnitaan 0,001 gramman tarkkuudella koeputkeen tai erotussuppiloon ja käsitellään vähintään 15 millilitralla tetrakloorietyleeniä (4.2.1). Seosta sekoitetaan tai ravistellaan usean kerran ja annetaan seistä riittävän kauan (vähintään 1 minuutti ja korkeintaan 2–3 minuuttia), jonka jälkeen sakka erotetaan.

Sakka kuivataan vetokaapissa ja punnitaan 0,001 gramman tarkkuudella. Punnitus on tarpeen vain, jos vaaditaan arviota painosta. Koko kuivattua sakkaa tai osaa siitä tutkitaan stereomikroskoopissa (5.4) tai yhdistelmä-mikroskoopissa (5.5) luuaineksen osoittamiseksi.

### 6.3 Petaus- ja värjäysreagenssien käyttö

Eläinperäisten ainesosien tunnistamiseksi mikroskoopissa voidaan käyttää erityisiä petaus- ja värjäysreagenssejä.

Kloorihydraatti (4.1.1): Kuumennettaessa varovasti solurakenteet tulevat paremmin näkyviin, koska tärkkelysyyvät gelatinisoituvat ja tarpeeton solun sisältö poistuu.

Paraffiiniöljy (4.1.2): Luuaines voidaan tunnistaa hyvin tässä petausaineessa, koska useimmat luun lukuunat säilyvät täynnä ilmaa ja näkyvät mustina noin 5–15 mikrometrin kokoisina reikinä.

Bradfordin reagenssi (4.3.1): Tätä käytetään valkuaisen osoittamiseen (tyypillinen sininen väri). Laimennetaan vedellä noin 1:4.

Jodi- tai kaliumjodidi-liuos (4.3.2): Tätä käytetään tärkkelyksen osoittamiseen (sinivioletti väri) ja valkuaisen osoittamiseen (keltaoranssi väri). Voidaan laimentaa tarvittaessa.

Millonin reagenssi (4.3.3): Kuumennettaessa varovasti luuaines muuttuu vaaleanpunaiseksi.

Kystiinireagenssi (4.3.4): Kuumennettaessa varovasti kystiiniä sisältävät ainesosat (karvat, höyhenet jne.) muuttuvat mustanruskeiksi.

## 7. Laskutoimitukset ja arviointi

Jos eläinperäisten ainesosien määrä arvioidaan, on noudatettava tämän kohdan säännöksiä.

Laskutoimitukset voidaan tehdä vain, jos eläinperäiset ainesosat sisältävät luunpalasia.

Lämmenveristen maalla elävien lajien (ts. nisäkkäiden ja lintujen) luunpalat voidaan erottaa erilaisista kalanruodoista mikroskooppilaseilla tyypillisten lukuunoiden perusteella. Näytteen sisältämän eläinperäisen aineksen osuus arvioidaan ottamalla huomioon

— luunpalasten arvioitu osuus (painoprosenttia) tiiviissä sakassa ja

— luun osuus (painoprosenttia) eläinperäisissä ainesosissa.

Arvion on perustuttava vähintään kolmeen (jos mahdollista) mikroskooppilasiin ja vähintään viiteen kenttään lasia kohti. Rehuseoksissa tiivis sakka sisältää yleensä maalla elävien eläinten luunpalasten ja kalanruotopalasten lisäksi muita raskaita hiukkasia kuten mineraaleja, hiekkaa, ligniiniä sisältäviä kasvinpalasia ym.

#### 7.1 Luunpalasten osuuden arvioitu määrä

$$\text{prosenttia maalla elävien eläinten luunpalasia} = \frac{S \times c}{W}$$

$$\text{prosenttia kalanruotojen ja suomujen palasia} = \frac{S \times d}{W}$$

S= sakan paino (mg), c= korjauskerroin (%), jolla otetaan huomioon maalla elävien eläinten luiden arvioitu osuus sakasta, d= korjauskerroin (%), jolla otetaan huomioon kalanruotojen ja suomujen arvioitu osuus sakasta ja W= sakkaan käytetyn näyteaineksen paino (mg).

#### 7.2 Eläinperäisten ainesosien arvioitu määrä

Luun osuus eläintuotteissa voi vaihdella paljon. (Luujuuhossa on luuta 50–60 % ja lihajauhoissa 20–30 %; kalajauhoissa ruotojen ja suomujen osuus vaihtelee kalajauhotyypin ja sen alkuperän mukaan ja on tavallisesti 10–20 %.)

Jos näytteen sisältämän eläinjauhon tyyppi tiedetään, voidaan sen määrä arvioida:

$$\text{Kalatuotteista peräisin olevien ainesosien arvioitu määrä (\%)} = \frac{S \times c}{W \times f} \times 100$$

$$\text{Kalatuotteista peräisin olevien ainesosien arvioitu määrä (\%)} = \frac{S \times d}{W \times f} \times 100$$

S=sakan paino (mg), c= korjauskerroin (%), jolla otetaan huomioon maalla elävien eläinten luiden arvioitu osuus sakasta, d= korjauskerroin (%), jolla otetaan huomioon kalanruotojen ja suomujen arvioitu osuus sakasta, f= korjauskerroin, jolla otetaan huomioon luun osuus tutkitussa näytteessä olevista eläinperäisistä ainesosista ja W= sakkaan käytetyn näyteaineksen paino (mg).

### 8. Tutkimuksen tulosten esittäminen

Tulokset voidaan esittää seuraavasti:

8.1 Sikäli kuin mikroskoopissa voidaan havaita, näytteessä ei ollut (kohdassa 1 määriteltyjä) eläinperäisiä ainesosia.

8.2 Sikäli kuin mikroskoopissa voidaan havaita, näytteessä oli eläinperäisiä ainesosia (!).

Tällöin tutkimustuloksia esitettäessä voidaan niitä tarvittaessa täsmentää seuraavasti:

8.2.1 Sikäli kuin mikroskoopissa voidaan havaita, näytteessä oli pieniä määriä eläinperäisiä ainesosia (!).

8.2.2 Tutkimuksen tekijän kokemuksesta riippuen

— joko ”sikäli kuin mikroskoopissa voidaan havaita, näytteessä oli eläinperäisiä ainesosia (!). Luun- tai ruotojenpalasten (kalojen tai maaeläinten — jos kyseessä ovat maaeläinten luunpalaset, eritellään mahdollisesti siipikarjan tai nisäkkäiden luunpalasiin, ks. huomautus 9.3) määrän arvioidaan olevan ... prosenttia, joka vastaa ... prosenttia eläinperäisiä ainesosia, jos se lasketaan olettaen, että eläinperäistä ainesosaa sisältävässä tuotteessa on ... prosenttia luuta (käytetään korjauskerrointa f)”.  
— tai ”sikäli kuin mikroskoopissa voidaan havaita, näytteessä oli mittavia määriä eläinperäisiä ainesosia (!)”.

(!) Tässä on mainittava havaittujen ainesosien tyyppi, esim. ruotoja tai luita (kalojen tai maaeläinten), lihan ainesosia.

Kun kohdissa 8.2, 8.2.1 ja 8.2.2 havaitaan maalla elävien eläinten luun ainesosia, raporttiin on lisättävä seuraava varolauseke:

”Mahdollisuutta, että edellä mainitut ainesosat ovat peräisin nisäkkäistä, ei voida sulkea pois.”

Tämä lauseke ei ole tarpeen, jos maaeläinten luunpalaset on eritelty siipikarjan tai nisäkkäiden luunpalaasiin (ks. huomautus 9.3).

9. *Huomautuksia*

- 9.1 Jos tiiviissä sakassa on paljon ja suuria ainesosia, suositellaan sakan seulomista kahteen fraktioon (esim. 320 mikrometrin seulalla). Suuria ainesosia sisältävää fraktiota voidaan tarkastella paraffiiniöljypreparaatina stereomikroskoopissa läpivalo-optiikalla. Pieniä ainesosia sisältävää fraktiota on tarkasteltava yhdistelmämikroskoopissa.
- 9.2 Kohdassa 6.2 tarkoitettu tiivis sakka voidaan tarvittaessa fraktioida edelleen käyttämällä tiheämpää konsentroidisreagenssia.
- 9.3 Riippuen tutkimuksen tekijän pätevyydestä ero nisäkkäistä tai siipikarjasta peräisin olevien ainesosien välillä voidaan tehdä käyttämällä sellaisia histologisia löydöksiä, joilla kyseinen ero on mahdollista tehdä.
-