

RÈGLEMENT (CE) N° 765/2002 DE LA COMMISSION

du 3 mai 2002

relatif au prélèvement d'échantillons et à l'adoption de certaines modalités du contrôle physique des morceaux désossés de viande bovine bénéficiant d'une restitution à l'exportation

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu le règlement (CE) n° 1254/1999 du Conseil du 17 mai 1999 portant organisation commune des marchés dans le secteur de la viande bovine ⁽¹⁾, modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 2345/2001 de la Commission ⁽²⁾, et notamment son article 33, paragraphe 12,

vu le règlement (CEE) n° 386/90 du Conseil du 12 février 1990 relatif au contrôle lors de l'exportation de produits agricoles bénéficiant d'une restitution ou d'autres montants ⁽³⁾, modifié par le règlement (CE) n° 163/94 ⁽⁴⁾, et notamment son article 6,

considérant ce qui suit:

- (1) Aux termes de l'article 33 du règlement (CE) n° 1254/1999, la différence entre les prix des produits visés à l'article 1^{er} du règlement (CE) n° 1254/1999 sur le marché mondial et dans la Communauté peut être couverte par une restitution à l'exportation. Pour les produits agricoles, les modalités de ce régime ont été fixées par le règlement (CE) n° 800/1999 de la Commission du 15 avril 1999 portant modalités communes d'application du régime des restitutions à l'exportation pour les produits agricoles ⁽⁵⁾, modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 2299/2001 ⁽⁶⁾.
- (2) Le secteur 5 de l'annexe I du règlement (CEE) n° 3846/87 de la Commission du 17 décembre 1987 établissant la nomenclature des produits agricoles pour les restitutions à l'exportation ⁽⁷⁾, modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 488/2002 ⁽⁸⁾, prévoit notamment l'octroi d'une restitution pour certains morceaux désossés, à condition qu'ils respectent une teneur minimale en viande bovine maigre et, pour les morceaux provenant des gros bovins mâles, à condition qu'ils soient emballés individuellement.
- (3) Le règlement (CE) n° 2221/95 de la Commission ⁽⁹⁾, modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 2655/1999 ⁽¹⁰⁾, prévoit les modalités du contrôle physique lors de l'exportation de produits agricoles bénéficiant

d'une restitution. Certaines conditions spécifiques à la viande bovine ont été fixées par le règlement (CE) n° 2457/97 de la Commission du 10 décembre 1997 relatif au prélèvement d'échantillons dans le cadre d'un contrôle physique des morceaux désossés de viande bovine bénéficiant d'une restitution à l'exportation ⁽¹¹⁾.

- (4) Il convient de prévoir un contrôle de la provenance des gros bovins mâles pour les morceaux désossés et la méthodologie à suivre pour ce contrôle, dans un souci d'uniformisation, et de fixer des sanctions appropriées en cas de non-respect de la condition de la provenance. Il convient également de mettre à jour le règlement (CE) n° 2457/97, en vue de tenir compte des modifications apportées à la nomenclature applicable pour les restitutions à l'exportation des produits agricoles prévue par le règlement (CEE) n° 3846/87, tel que modifié par le règlement (CE) n° 2556/2001 ⁽¹²⁾.
- (5) Dans un souci de clarté, il y a donc lieu d'abroger et de remplacer le règlement (CE) n° 2457/97.
- (6) Les mesures prévues au présent règlement sont conformes à l'avis du comité de gestion de la viande bovine,

A ARRÊTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

Article premier

1. Le présent règlement s'applique en cas de contrôle physique sur la nature et les caractéristiques du produit au sens de l'article 2, point a), du règlement (CEE) n° 386/90 concernant:

- a) l'obligation d'emballer individuellement chaque morceau désossé relevant des codes de produits suivants:
 - 0201 30 00 9100,
 - 0201 30 00 9120;
- b) la provenance des gros bovins mâles pour les morceaux désossés relevant des codes de produits suivants:
 - 0201 30 00 9100,
 - 0201 30 00 9120;

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

c) le respect de la teneur moyenne minimale en viande maigre pour les morceaux désossés relevant des codes de produits suivants:

- 0201 30 00 9100,
- 0201 30 00 9120,
- 0201 30 00 9060,
- 0202 30 90 9200.

2. La désignation des produits visés au paragraphe 1 est celle de la nomenclature des produits agricoles pour les restitutions à l'exportation figurant à l'annexe I, secteur 5, du règlement (CEE) n° 3846/87.

Article 2

1. L'échantillon aux fins du contrôle physique est constitué de deux cartons entiers prélevés en deux endroits différents du lot. Le premier carton est destiné aux autorités chargées du contrôle, le second carton est placé comme échantillon de réserve sous le contrôle des autorités douanières.

2. Est considéré comme lot la quantité de produits pour laquelle une des déclarations suivantes est acceptée:

- a) la déclaration visée à l'article 5, paragraphe 1, du règlement (CE) n° 800/1999;
- b) la déclaration visée à l'article 26, paragraphe 1, du règlement (CE) n° 800/1999, dans l'hypothèse visée audit paragraphe, uniquement en cas de stockage.

Article 3

Aux fins du contrôle du respect des conditions visées à l'article 1^{er}, paragraphe 1, point a), les autorités douanières examinent si chaque morceau contenu dans le premier carton de l'échantillon visé à l'article 2 est emballé individuellement et que chaque emballage ne contient pas plus d'un morceau. Si tel n'est pas le cas, il est procédé aux mêmes examens pour le deuxième carton.

Lorsque, sur le total des deux cartons, il n'y a qu'un seul morceau non emballé individuellement ou si un seul emballage contient plus d'un morceau, et que toutes les autres conditions relatives à l'octroi de la restitution sont respectées, le lot n'est pas considéré comme irrégulier. À défaut, une irrégularité est constatée.

Lorsqu'une irrégularité est constatée, la restitution due pour le poids du lot est calculée sur un poids corrigé. Le poids corrigé est obtenu en diminuant le poids net déclaré d'un pourcentage correspondant au poids des morceaux non conformes par rapport au poids net total de l'échantillon.

Le présent règlement est obligatoire dans tous ses éléments et directement applicable dans tout État membre.

Fait à Bruxelles, le 3 mai 2002.

Article 4

Aux fins du contrôle du respect de la condition de provenance visée à l'article 1^{er}, paragraphe 1, point b), l'échantillon d'analyse est constitué d'un ou deux morceaux prélevé(s) de façon aléatoire dans le premier carton de l'échantillon visé à l'article 2. Si l'analyse conclut à la présence de viande autre que de la viande bovine provenant de gros bovins mâles aucune restitution n'est octroyée pour le lot.

Le contrôle s'effectue conformément à la méthodologie décrite à l'annexe.

Sans préjudice de contrôles accrus, décidés dans le cas de présomption d'irrégularité, le contrôle est effectué sur une base aléatoire, couvrant l'ensemble des opérations d'exportation, et est réalisé pour au moins un tiers des opérations sélectionnées pour le contrôle physique.

Article 5

Aux fins du contrôle du respect des conditions visées à l'article 1^{er}, paragraphe 1, point c), on procède au hachage du contenu de l'ensemble du premier carton de l'échantillon visé à l'article 2 de façon à obtenir un mélange homogène. Si cet échantillon ne respecte pas la teneur en viande maigre prescrite, on examine de la même manière le contenu du second carton. Si la moyenne des deux cartons ne respecte pas la teneur moyenne en viande maigre prescrite, aucune restitution n'est octroyée pour le lot.

Article 6

Conformément à l'article 68 du règlement (CEE) n° 2913/92 du Conseil (¹), et sans préjudice de l'article 78 dudit règlement, les prélèvements et les contrôles prévus par le présent règlement sont effectués lors de la vérification des déclarations visées à l'article 2, paragraphe 2, du présent règlement, qui ont été acceptées.

Article 7

Le règlement (CE) n° 2457/97 est abrogé.

Article 8

Le présent règlement entre en vigueur le 1^{er} juillet 2002.

Il est applicable aux opérations pour lesquelles une déclaration visée à l'article 2, paragraphe 2, est acceptée à compter du 1^{er} juillet 2002.

Par la Commission

Franz FISCHLER

Membre de la Commission

(¹) JO L 302 du 19.10.1992, p. 1.

ANNEXE

CONTRÔLE ANALYTIQUE DE LA PROVENANCE DE CERTAINS MORCEAUX DÉSOSSÉS DE VIANDE DE GROS BOVINS MÂLES**Méthode applicable en vue de la détermination du sexe dans la viande bovine**

La méthode à appliquer est basée sur la réaction en chaîne par polymérase (RCP) et comprend le prélèvement d'échantillons, l'extraction de l'ADN, la RCP et l'électrophorèse sur gel.

1. Échantillonnage et sous-échantillonnage

Le sous-échantillon pour analyse est prélevé à l'intérieur (en évitant les couches superficielles) du morceau de viande sélectionné, en utilisant un couteau stérile (*) (scalpel ou instrument similaire). Ce prélèvement est ensuite haché au moyen d'un micro broyeur ou découpé en plus petits morceaux afin d'obtenir un rendement d'extraction satisfaisant.

Les échantillons doivent être préparés dans une zone de travail différente de celle où est réalisée la RCP. Les manipulations doivent être effectuées dans un environnement pouvant être facilement nettoyé, de préférence sur un plan de travail propre, afin d'éviter toute contamination croisée avec d'autres échantillons.

La préparation de l'échantillon de viande doit se faire au moyen de lames, de scalpels ou d'instruments similaires stériles (*).

2. Extraction et purification de l'ADN

L'extraction et la purification de l'ADN doivent être réalisées en utilisant des méthodes conventionnelles (1), ou des kits prêts à l'emploi (selon le principe suivant: solubilisation de l'échantillon de viande dans du tampon de lyse contenant des surfactants, des détergents et de la protéinase K, application de l'échantillon solubilisé sur une résine fixant l'ADN, élimination des composants autres qu'ADN par lavages successifs, et enfin élution de l'ADN purifié dans l'eau ou un tampon hyposodé), ou bien par extraction de l'ADN dans une solution d'hydroxyde de sodium (2).

Le contrôle de l'efficacité de l'extraction par électrophorèse sur gel est recommandé mais pas obligatoire.

Validation du protocole d'extraction: pour chaque lot d'échantillons à extraire, un contrôle d'extraction (c'est-à-dire sans viande) est effectué en parallèle, afin de tester l'intégrité de la procédure utilisée.

3. Réaction en chaîne par polymérase (RCP)

Principe: le principe de la RCP est une procédure en trois étapes (dénaturation, hybridation des amorces, extension) qui doit être répétée de 25 à 40 fois environ (nombre de «cycles» de la méthode). Les réactifs (tampon de réaction, MgCl₂, deoxynucléotides, amorces, polymérase d'ADN thermostable, eau stérilisée) sont mélangés conformément à la méthode établie, pour constituer un «mastermix». La préparation du «mastermix» doit se faire au moyen de pipettes spéciales. Le «mastermix» est ensuite ajouté à la matrice d'ADN (extrait d'ADN). La réaction est exécutée dans un thermocycleur. En fin d'opération, les produits de la RCP sont analysés par électrophorèse sur gel ou stockés à 4 °C ou bien à -20 °C.

La méthode recommandée (3), concernant la matrice, doit amplifier une séquence à l'intérieur du locus d'amélogénine (gène homologue) ou à l'intérieur de la région ZFX/Y (RCP allèles spécifiques).

Les amorces spécifiques pour ces deux types de méthodes sont les suivantes:

Amélogénine directe: 5'-CAGCCAAACCTCCCTCTGC-3'

Amélogénine inverse: 5'-CCCGCTTGGTCTTGCTGTTC-3'

(Emmis, S., and Gallagher, T. F. (1994) *Anim. Genet.* 25: 425-427)

Amélogénine directe: 5'-AAATTCTCTCACAGTCCAAG-3'

Amélogénine inverse: 5'-CAACAGGTAATTTTCCTTAG-3'

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

ZFX (allèle spécifique), directe: 5'-GACAGCTGAACAAGTGTTACTG-3'

ZFX (allèle spécifique), inverse: 5'-AATGTCACACTGAATCGCATC-3'

ZFY (allèle spécifique), directe: 5'-GAAGGCCTTCGAATGTGATAAC-3'

ZFY (allèle spécifique), inverse: 5'-CTGACAAAAGGTGGCGATTTC-3'

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

ZFX directe: 5'-AGCTGAACAAGGGTTACTG-3'

ZFY directe: 5'-CAAGCTTACCAGCAAGTCA-3'

ZFX/Y inverse: 5'-CCAGTATGGATTTCGCATGT-3'

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

(*) Non contaminé(s) par l'ADN.

(1) Décrites dans: Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. (eds): *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbour Laboratory Press (1989).

(2) Décrite dans Elphinstone, J. G., Hennessey, J., Wilson, J. K., and Stead, D. E. (1996) *Bulletin OEPP/EPP* 26, 663-678.

(3) Les méthodes de RCP autres que la méthode recommandée sont subordonnées à l'approbation d'un laboratoire de référence, désigné officiellement.

Les «mastermix» de RCP doivent être préparés sur un plan de travail propre qui est décontaminé après au moyen de détergents et de rayons UV.

- *Élaboration de la méthode*: il peut être nécessaire d'apporter d'éventuelles modifications aux méthodes publiées, notamment la composition exacte du «mastermix» (par exemple, concentration de $MgCl_2$, concentration des amorces), la quantité de matrices d'ADN utilisées, et une programmation de température adaptée (températures, durée de manipulation). En cas d'apparition de produits d'amplification non spécifiques, il conviendra d'optimiser la méthode (par exemple, température d'hybridation, concentration de $MgCl_2$, concentration des amorces etc.), afin de garantir la fiabilité des résultats.
- *Validation de la PCR*: la méthode applicable dans les analyses de routine doit être correctement validée. L'analyse des contrôles suivants doit être incluse dans une série d'échantillons: contrôle d'extraction (sans viande), contrôle RCP négatif et échantillons de référence (viande bovine mâle et femelle ainsi qu'un échantillon de viande non bovine). Une revalidation doit également être effectuée en cas de changement des composants essentiels de la procédure, notamment la polymérase ADN (fournisseur ou produit différent) ou les amorces (nouveau lot).
- *De bonnes pratiques de laboratoire* sont indispensables, notamment un nettoyage et une décontamination convenables de la zone de travail et des instruments utilisés, l'aliquotage des amorces, l'utilisation de pipettes spéciales etc.

4. Analyse d'amplimères par électrophorèse sur gel

Les fragments obtenus à la suite de la RCP (amplimères) doivent être analysés par électrophorèse sur gel. Il est possible d'utiliser des gels d'agarose colorés au bromure d'éthidium ou des gels de polyacrylamide recevant une coloration argentée après la séparation électrophorétique. Il convient d'utiliser un marqueur de poids moléculaire approprié, sur le gel afin de déterminer la taille approximative des amplimères obtenus.

5. Documentation

Les résultats obtenus doivent être correctement documentés (image du gel, description des résultats, relevé éventuel de résultats inattendus).
