DIRETTIVA 98/88/CE DELLA COMMISSIONE

del 13 novembre 1998

che stabilisce gli orientamenti per l'identificazione al microscopio e la stima dei costituenti di origine animale nell'ambito del controllo ufficiale degli alimenti per animali

(Testo rilevante ai fini del SEE)

LA COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il trattato che istituisce la Comunità europea,

vista la direttiva 70/373/CEE del Consiglio, del 20 luglio 1970, relativa all'introduzione di modi di prelievo di campioni e di metodi di analisi comunitari per il controllo ufficiale degli alimenti per animali ⁽¹⁾, modificata da ultimo dall'atto di adesione dell'Austria, della Finlandia e della Svezia, in particolare l'articolo 2,

considerando che la direttiva 70/373/CEE stabilisce che i controlli ufficiali degli alimenti per animali, volti a verificare l'osservanza delle condizioni prescritte in virtù delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative concernenti la qualità e la composizione degli alimenti per animali, siano effettuati secondo metodi di prelievo di campioni e metodi di analisi comunitari;

considerando che la decisione 94/381/CE della Commissione, del 27 giugno 1994, concernente misure di protezione per quanto riguarda l'encefalopatia spongiforme bovina e la somministrazione, con la dieta, di proteina derivata da mammiferi ⁽²⁾, modificata da ultimo dalla decisione 95/60/CE ⁽³⁾, vieta la somministrazione ai ruminanti, con la dieta, di proteine derivate da tutti i tessuti di mammiferi, fatta eccezione per taluni prodotti animali e prodotti derivati;

considerando che la decisione 91/516/CEE della Commissione, del 9 settembre 1991, che stabilisce l'elenco degli ingredienti di cui è vietato l'impiego negli alimenti composti per animali ⁽⁴⁾, modificata da ultimo dalla decisione 97/582/CE ⁽⁵⁾, vieta l'impiego, quali ingredienti negli alimenti composti per ruminanti, di proteine derivate da tessuti di mammiferi;

considerando che la direttiva 79/373/CEE del Consiglio, del 2 aprile 1979, relativa alla commercializzazione degli alimenti composti per gli animali ⁽⁶⁾, modificata da ultimo dalla direttiva 97/47/CE della Commissione ⁽⁷⁾, stabilisce all'articolo 5 quater che, qualora siano fornite indicazioni in merito agli ingredienti, tutti gli ingredienti utilizzati debbano essere citati e che gli ingredienti vadano elencati

rispettando varie norme, tra cui l'enumerazione degli stessi nell'ordine decrescente della loro importanza ponderale nei mangimi composti per animali diversi dagli animali familiari;

considerando che la direttiva 97/47/CE, che modifica gli allegati delle direttive 77/101/CEE ⁽⁸⁾, 79/373/CEE e 91/357/CEE ⁽⁹⁾ del Consiglio, stabilisce idonee disposizioni in materia di etichettatura dei prodotti il cui utilizzo è vietato nella dieta dei ruminanti;

considerando che gli Stati membri possono aver adottato disposizioni più severe ai sensi dell'articolo 1, paragrafo 2, della direttiva 90/667/CEE del Consiglio, del 27 novembre 1990, che stabilisce le norme sanitarie per l'eliminazione, la trasformazione e l'immissione sul mercato dei rifiuti di origine animale e la protezione dagli agenti patogeni degli alimenti per animali di origine animale o a base di pesce e che modifica la direttiva 90/425/CEE ⁽¹⁰⁾, modificata da ultimo dall'atto di adesione dell'Austria, della Finlandia e della Svezia;

considerando che l'esame microscopico rivela la presenza di costituenti di origine animale; che esso consente altresì di operare una distinzione tra le ossa di animali terrestri e le ossa di pesce; che la possibilità di distinguere, grazie ad un esame microscopico, le ossa di mammiferi dalle ossa di pollame dipende dall'esperienza dell'analista; che la possibilità di stimare la qualità dei costituenti di origine animale dipende ugualmente in larga misura dall'esperienza dell'analista; che, tenuto conto dei progressi scientifici e tecnologici, è opportuno associare all'esame microscopico altri metodi di analisi; che la fissazione dei presenti orientamenti concernenti l'esame microscopico non esclude l'impiego, alternativo o complementare, di altri metodi di analisi — diversi dall'esame microscopico — la cui validità scientifica sia stata comprovata;

considerando che occorre pertanto stabilire gli orientamenti in materia di esame microscopico;

considerando che le misure previste dalla presente direttiva sono conformi al parere del comitato permanente degli alimenti per animali,

⁽¹⁾ GU L 170 del 3. 8. 1970, pag. 2.

⁽²⁾ GU L 172 del 7. 7. 1994, pag. 23.

⁽³⁾ GU L 55 dell'11. 3. 1995, pag. 43.

⁽⁴⁾ GU L 281 del 9. 10. 1991, pag. 23.

⁽⁵⁾ GU L 237 del 28. 8. 1997, pag. 39.

⁽⁶⁾ GU L 86 del 6. 4. 1979, pag. 30.

⁽⁷⁾ GU L 211 del 5. 8. 1997, pag. 45.

⁽⁸⁾ GU L 32 del 3. 2. 1977, pag. 1.

⁽⁹⁾ GU L 193 del 17. 7. 1991, pag. 34.

⁽¹⁰⁾ GU L 363 del 27. 12. 1990, pag. 51.

HA ADOTTATO LA PRESENTE DIRETTIVA:

Articolo 1

Gli Stati membri provvedono affinché gli esami microscopici effettuati nell'ambito dei controlli ufficiali volti ad identificare e/o a fornire una stima quantitativa dei costituenti di origine animale negli alimenti per animali si svolgano in conformità degli orientamenti esposti nell'allegato della presente direttiva.

Sulla base dei requisiti stabiliti per l'analisi dalle autorità responsabili, il punto 7 dei presenti orientamenti, «Calcolo e valutazione», è da ritenersi facoltativo, restando inteso che le disposizioni ivi contenute devono essere applicate nei casi in cui si proceda a stime quantitative.

La fissazione dei presenti orientamenti per quanto concerne il procedimento dell'esame microscopico non esclude l'impiego, alternativo o complementare, di altri metodi di analisi — diversi dall'esame microscopico — la cui validità scientifica nell'identificazione e/o nella stima quantitativa dei costituenti di origine animale sia stata comprovata.

Articolo 2

Gli Stati membri adottano le disposizioni legislative, regolamentari e amministrative necessarie per conformarsi alle disposizioni della presente direttiva entro il 1° settembre 1999. Essi ne informano immediatamente la Commissione.

Quando gli Stati membri adottano tali disposizioni, queste contengono un riferimento alla presente direttiva o sono corredate di un siffatto riferimento all'atto della pubblicazione ufficiale. Le modalità del riferimento sono decise dagli Stati membri.

Articolo 3

La presente direttiva entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee*.

Gli Stati membri sono destinatari della presente direttiva.

Fatto a Bruxelles, il 13 novembre 1998.

Per la Commissione

Franz FISCHLER

Membro della Commissione

ALLEGATO

Orientamenti per l'identificazione al microscopio e la stima dei costituenti di origine animale negli alimenti per animali1. *Obiettivo e campo di applicazione*

I presenti orientamenti devono essere applicati per l'identificazione, mediante esame microscopico, dei costituenti di origine animale (definiti come i prodotti della trasformazione di carcasse e parti di carcasse di mammiferi, pollame e pesce) presenti negli alimenti per animali.

Qualora si proceda a una stima quantitativa di detti costituenti, devono essere applicate le disposizioni di cui al punto 7 dei presenti orientamenti.

2. *Sensibilità*

In funzione della natura dei costituenti di origine animale, è possibile individuare negli alimenti per animali quantità molto piccole (<0,1 %).

3. *Principio*

Per l'identificazione si utilizza un campione rappresentativo, prelevato in conformità delle disposizioni stabilite nella direttiva 76/371/CEE della Commissione, del 1° marzo 1976, che fissa i modi comunitari di prelevamento dei campioni per il controllo ufficiale degli alimenti per animali⁽¹⁾, e preparato in maniera adeguata. I costituenti di origine animale sono identificati sulla base di caratteristiche tipiche riconoscibili al microscopio (ad esempio fibre muscolari e altre particelle di carne, cartilagini, ossa, corno, peli, setole, sangue, piume, gusci d'uovo, lische di pesce, scaglie). L'identificazione deve essere effettuata sia sulla frazione setacciata (6.1) che sul sedimento concentrato (6.2) del campione.

4. *Reagenti*⁽²⁾4.1. *Agente di fissazione*

4.1.1. Cloradio idrato (acquoso, 60 % p/v)

4.1.2. Olio di paraffina

4.2. *Agente di concentrazione*

4.2.1. Tetracloroetilene (densità: 1,62)

4.3. *Reagenti di colorazione*

4.3.1. Reagente di Bradford

4.3.2. Iodio/soluzione di ioduro di potassio

4.3.3. Reagente di Millon

4.3.4. Reagente per la cistina (2 g di acetato di piombo, 10 g NaOH/100 ml H₂O)

I reagenti elencati possono essere sostituiti con altri che producono i medesimi risultati.

5. *Attrezzatura e accessori*

5.1. Bilancia analitica (allo 0,001 g)

5.2. Strumenti per la frantumazione (raspa, polverizzatore, ecc.)

5.3. Setaccio a maglie quadrate di ampiezza da 0,1 a 2 mm

5.4. Stereomicroscopio (ingrandimento fino a 50 volte)

5.5. Microscopio composto (ingrandimento fino a 400 volte), luce trasmessa/luce polarizzata

5.6. Normale vetreria da laboratorio

⁽¹⁾ GU L 102 del 15. 4. 1976, pag. 1.

⁽²⁾ I reagenti elencati sono disponibili in commercio, salvo indicazione contraria.

6. Procedura

Almeno 10 g di campione, eventualmente triturati con strumenti idonei se in pellet, vengono suddivisi in due parti rappresentative, una di almeno 5 g per la frazione setacciata (6.1) e l'altra di almeno 2 g per il sedimento concentrato (6.2). Per agevolare l'identificazione si consiglia la colorazione con uno degli appositi reagenti (6.3).

6.1. Identificazione dei costituenti di origine animale nelle frazioni setacciate

Almeno 5 g del campione vengono passati al setaccio (5.3) in almeno due frazioni. La frazione setacciata >0,5 mm (o una sua parte rappresentativa) è stesa in uno strato sottile su un supporto adeguato e osservata sistematicamente allo stereomicroscopio (5.4) a vari ingrandimenti per identificare i costituenti di origine animale.

Le sezioni preparate con la frazione setacciata <0,5 mm sono osservate sistematicamente al microscopio composto (5.5) a vari ingrandimenti per identificare i costituenti di origine animale.

6.2. Identificazione dei costituenti di origine animale nel sedimento concentrato

Almeno 2 g (con un'approssimazione di 0,001 g) del campione sono pesati in una provetta o in un imbuto separatore e trattati con almeno 15 ml di tetracoloroetilene (4.2.1). Dopo aver mescolato/agitato la miscela ripetutamente e averla lasciata decantare per un tempo sufficiente (non meno di 1 minuto e non oltre 2-3 minuti), si separa il sedimento.

Il sedimento è essiccato sotto cappa e successivamente pesato (con un'approssimazione di 0,001g). La pesatura è necessaria solo se è richiesta una stima. L'intero sedimento essiccato, o una sua parte, è poi esaminato allo stereomicroscopio (5.4) e al microscopio composto (5.5) per identificare i costituenti ossei.

6.3. Utilizzo degli agenti di fissazione e di colorazione

L'identificazione al microscopio dei costituenti di origine animale può essere agevolata utilizzando speciali agenti di fissazione e di colorazione.

Itrato di cloralo (4.1.1): riscaldando con precauzione, le strutture cellulari diventano più visibili, in quanto i grani di amido si gelatinizzano e i contenuti indesiderati della cellula vengono espulsi.

Olio di paraffina (4.1.2): i costituenti ossei possono essere chiaramente identificati nell'agente di fissazione in quanto la maggior parte delle lacune rimangono piene d'aria e si presentano come cavità nere delle dimensioni di 5-15 µm.

Reagente di Bradford (4.3.1): è utilizzato per l'individuazione delle proteine (tipica colorazione blu); diluire 1:4 circa con acqua.

Iodo/soluzione di ioduro di potassio (4.3.2): è utilizzata per l'individuazione dell'amido (colorazione blu-violetta) e delle proteine (colorazione giallo-arancione); può essere diluita se necessario.

Reagente di Million (4.3.3): riscaldando con precauzione, i costituenti ossei acquistano una colorazione rosa.

Reagente per la cistina (4.3.4): riscaldando con precauzione, i costituenti contenenti cistina (peli, piume, ecc.) acquistano una colorazione nero-bruna.

7. Calcolo e valutazione

L'applicazione delle disposizioni del presente punto è obbligatoria nei casi in cui si proceda a una stima quantitativa dei costituenti di origine animale.

Il calcolo può essere effettuato solo se i costituenti di origine animale contengono frammenti ossei.

Nei preparati al microscopio si possono distinguere i frammenti di ossa delle specie terrestri a sangue caldo (ossia mammiferi e uccelli) dai diversi tipi di ossa di pesce grazie alle tipiche lacune. La proporzione di costituenti di origine animale nel campione di materiale è valutata prendendo in considerazione:

- la percentuale stimata (peso %) di frammenti ossei nel sedimento concentrato, e
- la proporzione di osso (peso %) nei costituenti di origine animale.

La stima deve essere basata su almeno tre (se possibile) preparati e almeno cinque campi per preparato. Nelle miscele di alimenti, il sedimento concentrato contiene generalmente non solo frammenti di ossa di animali terrestri e di lische di pesce, ma anche altre particelle dal peso specifico elevato, come ad esempio minerali, sabbia, frammenti di vegetali lignificati, ecc.

7.1. Stima della percentuale di frammenti ossei

$$\text{Frammenti di ossa di animali terrestri (\%)} = \frac{S \times c}{W}$$

$$\text{Frammenti di lische e scaglie di pesce (\%)} = \frac{S \times d}{W}$$

[S= peso del sedimento (mg), c= fattore di correzione (%) per la porzione stimata di ossa di animali terrestri nel sedimento, d= fattore di correzione (%) per la porzione stimata di frammenti di ossa e scaglie di pesce nel sedimento, W= peso del campione di materiale utilizzato per la sedimentazione (mg)].

7.2. Stima dei costituenti di origine animale

La proporzione di ossa nei prodotti di origine animale può variare considerevolmente (la percentuale di ossa nelle farine di carne e ossa è dell'ordine del 50-60 %, nelle farine di carne del 20-30 %; nelle farine di pesce il tenore di ossa e di scaglie varia in funzione della categoria e dell'origine della farina di pesce, ma è normalmente compreso tra il 10 e il 20 %).

Se si conosce il tipo di farina animale contenuta nel campione, è possibile effettuare delle stime.

$$\text{Stima del contenuto dei costituenti di animali terrestri (\%)} = \frac{S \times c}{W \times f} \times 100$$

$$\text{Stima del contenuto dei costituenti di pesce (\%)} = \frac{S \times d}{W \times f} \times 100$$

[S= peso del sedimento (mg), c= fattore di correzione (%) per la porzione stimata di ossa di animali terrestri nel sedimento, d= fattore di correzione (%) per la porzione stimata di frammenti di ossa e scaglie di pesce nel sedimento, f= fattore di correzione per la proporzione di ossa nei costituenti di origine animale presenti nel campione esaminato, W= peso del campione di materiale utilizzato per la sedimentazione (mg)].

8. *Presentazione dei risultati dell'esame*

I diversi casi potrebbero essere presentati nella maniera seguente:

8.1. Per quanto visibile al microscopio, nel campione esaminato non sono stati rinvenuti costituenti di origine animale (come definiti al punto 1).

8.2. Per quanto visibile al microscopio, nel campione esaminato sono stati rinvenuti costituenti di origine animale (¹).

In questo caso i risultati dell'esame, se necessario, possono essere specificati come segue.

8.2.1. Per quanto visibile al microscopio, nel campione esaminato sono state rinvenute piccole quantità di costituenti di origine animale (¹).

8.2.2. In funzione dell'esperienza dell'analista:

— per quanto visibile al microscopio, nel campione esaminato sono stati rinvenuti costituenti di origine animale (¹); il tenore di frammenti ossei (pesce/animali terrestri: nel caso di frammenti ossei di animali terrestri, per l'eventuale distinzione tra frammenti ossei di pollame e di mammiferi vedasi osservazione al punto 9.3) è stimato nell'ordine di grandezza del ...%, pari al ...% di costituenti di origine animale calcolato sulla base del ...% di ossa nel prodotto dei costituenti di origine animale (fattore di correzione f utilizzato); oppure

— per quanto visibile al microscopio, nel campione esaminato sono stati rinvenuti costituenti di origine animale (¹) in quantità misurabili.

(¹) Indicare qui il tipo di costituenti trovato, ad esempio ossa di animali terrestri o ossa di pesce, componenti di carne, ecc.

Per i casi di cui ai punti 8.2, 8.2.1 e 8.2.2, qualora siano identificate ossa di animali terrestri, la relazione deve riportare la seguente clausola aggiuntiva:

«Non si può escludere la possibilità che i costituenti sopra descritti provengano da mammiferi.»

Detta clausola non è necessaria qualora sia stato determinato se i frammenti ossei di animali terrestri provengano da pollame o da mammiferi (cfr. osservazione al punto 9.3).

9. *Osservazioni*

- 9.1. Qualora il sedimento concentrato contenga numerosi costituenti di grandi dimensioni, si consiglia di setacciarlo in due frazioni (ossia utilizzando un setaccio di 320 μ). La frazione contenente i costituenti di grandi dimensioni può essere esaminata come una preparazione all'olio di paraffina allo stereomicroscopio in trasparenza, mentre la frazione con i costituenti più fini va osservata al microscopio composto.
 - 9.2. Il sedimento concentrato ottenuto (6.2) può, se necessario, essere ulteriormente suddiviso utilizzando un agente di concentrazione a densità superiore.
 - 9.3. In funzione dell'esperienza dell'analista, si possono distinguere i costituenti derivanti da mammiferi da quelli derivanti da pollame sulla base di specifiche caratteristiche istologiche.
-