

32003L0126

L 339/78

EIROPAS SAVIENĪBAS OFICIĀLAIS VĒSTNESIS

24.12.2003.

KOMISIJAS DIREKTĪVA 2003/126/EK**(2003. gada 23. decembris)****par dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu noteikšanas analīzes metodi oficiālai lopbarības pārbaudei****(Dokuments attiecas uz EEZ)**

EIROPAS KOPIENU KOMISIJA,

ņemot vērā Eiropas Kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1970. gada 20. jūlija Direktīvu ⁽¹⁾ 70/373/EEK par Kopienas metožu ieviešanu paraugu ņemšanai un analīzēm oficiālai lopbarības pārbaudei un jo īpaši tās 2. pantu,

tā kā:

- (1) Oficiālās lopbarības pārbaudes, ar kurām pārbauda, vai barība atbilst prasībām, kas izriet no normatīvajiem un administratīvajiem aktiem, kuri reglamentē tās kvalitāti un sastāvu, atbilstoši Direktīvai 70/373/EEK ir jāveic, izmantojot Kopienas paraugu ņemšanas un analīžu metodes.
- (2) Lopbarības marķēšanas noteikumi un prasības, kas aizliedz dažu dzīvnieku proteīnu lietošanu lopbarībā atsevišķu dzīvnieku kategorijām, norāda, ka nepieciešams nodrošināt ticamas analīžu metodes, lai noteiktu to esamību un, ja vajadzīgs, to procentuālo sastāvu.
- (3) Metode, kas aprakstīta Komisijas 1998. gada 13. novembra Direktīvā 98/88/EK, ar ko nosaka dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu mikroskopiskas identifikācijas un novērtēšanas pamatnostādnes oficiālai lopbarības pārbaudei ⁽²⁾, pašlaik ir vienīgā metode, kas apstiprināta, lai pārbaudītu dzīvnieku proteīnu esamību lopbarībā, tostarp tos, kas apstrādāti 133°C/3 Bar/20.
- (4) Nesen veiktais salīdzinošais pētījums apstrādātu dzīvnieku proteīnu noteikšanai parādīja, ka dažādu Direktīvā 98/88/EK noteikto mikroskopisko testu izmantošana rada ievērojamas atšķirības metodes jutībā, specifiskumā un precizitātē. Lai līdzsvarotu un uzlabotu apstrādātu dzīvnieku proteīnu noteikšanas noteikumus, par mikroskopisko metodi jānorāda sīkāk un tai jābūt obligātai. Ir nepieciešamas nodrošināt, ka analītiskis, kas izpilda metodi, ir atbilstoši apmācīts, jo izpilde ir atkarīga no analītiķa iemaņām.
- (5) Tādēļ Direktīva 98/88/EK ir jāaizstāj.

- (6) Šajā direktīvā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Pastāvīgās pārtikas aprites un dzīvnieku veselības komitejas atzinumu,

IR PIENĒMUSI ŠO DIREKTĪVU.

1. pants

Dalībvalstis nodrošina, ka lopbarības oficiālo analīzi, kas paredzēta, lai pārbaudītu dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu esamību, to identifikāciju un/vai daudzuma novērtēšanu lopbarībā saskaņā ar koordinētās kontroles programmu dzīvnieku barošanas jomā, ņemot vērā Padomes Direktīvu 95/53/EK ⁽³⁾, veic saskaņā ar šīs Direktīvas pielikuma noteikumiem.

2. pants

Dalībvalstis nodrošina, ka laboratorijas, kas oficiāli pārbauda dzīvnieku sastāvdaļu esamību lopbarībā, periodiski piedalās kvalifikācijas pārbaudēs attiecībā uz analīžu metodēm un ka laboratorijas personāls, kas veic analīzes, saņem atbilstošu apmācību.

3. pants

Direktīvu 98/88/EK atceļ.

Norādes uz atcelto direktīvu saprot kā norādes uz šo direktīvu.

4. pants

1. Dalībvalstīs stājas spēkā normatīvie un administratīvie akti, kas vajadzīgi, lai vēlākais līdz 2004. gada 1. jūlijam izpildītu šīs direktīvas prasības. Dalībvalstis tūlīt dara zināmus Komisijai minēto aktu tekstus un minēto aktu un šīs direktīvas korelācijas tabulu.

Kad dalībvalstis pieņem minētos tiesību aktus, tajos ietver atsauci uz šo direktīvu vai šādu atsauci pievieno to oficiālai publikācijai. Dalībvalstis nosaka, kā izdarāma šāda atsauce.

2. Dalībvalstis dara zināmus Komisijai savu tiesību aktu noteikumus, ko tās pieņem jomā, uz kuru attiecas šī direktīva.

⁽¹⁾ OV L 170, 3.8.1970., 2. lpp. Direktīvā jaunākie grozījumi izdarīti ar Regulu (EK) Nr. 807/2003 (OV L 122, 16.5.2003., 36. lpp.)

⁽²⁾ OV L 318, 27.11.1998., 45. lpp.

⁽³⁾ OV L 265, 8.11.1995., 17. lpp. Direktīvā jaunākie grozījumi izdarīti ar Eiropas Parlamenta un Padomes Direktīvu 2001/46/EK (OV L 234, 1.9.2001., 55. lpp.).

5. pants

Šī direktīva stājas spēkā divdesmitajā dienā pēc publicēšanas *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.

6. pants

Šī direktīva ir adresēta dalībvalstīm.

Briselē, 2003. gada 23. decembrī

Komisijas vārdā —
Komisijas loceklis
David BYRNE

PIELIKUMS

Nosacījumi dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu mikroskopiskai atklāšanai, identifikācijai un novērtēšanai lopbarībā**1. Mērķis un piemērošanas joma**

Šīs pamatnostādnes būtu jāizmanto, ja ar mikroskopu nosaka dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļas (ko definē kā zīdītāju, mājputnu un zivju liemeņu pārstrādes produktus un liemeņu daļas) lopbarībā saskaņā ar koordinētās kontroles programmu dzīvnieku barošanas jomā, ņemot vērā Padomes Direktīvu 95/53/EK. Ja šā pielikuma metodes izmanto visās oficiālajās pārbaudēs, var veikt arī otru pārbaudi, izmantojot atšķirīgas vai alternatīvas metodes, lai uzlabotu dažu dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu veidu noteikšanu vai precizētu sīkāk dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu izcelsmi. Turklāt var izmantot atšķirīgu protokolu, pārbaudot atsevišķas dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļas, piemēram, plazmu vai kaulus taukos (sk. arī 9. punktu), ar noteikumu, ka šīs analīzes veic papildus tām, kas paredzētas koordinētajā kontroles programmā.

2. Jūtība

Atkarībā no dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu veida lopbarībā iespējams atklāt ļoti nelielu daudzumu (< 0,1 %).

3. Princips

Identifikācijai izmanto pienācīgi sagatavotu reprezentatīvu paraugu, kas ņemts atbilstoši noteikumiem, kuri izklāstīti Komisijas 1976. gada 1. marta Direktīvā 76/371/EEK par Kopienas metodikas noteikšanu lopbarības oficiālās pārbaudes paraugu ņemšanai⁽¹⁾. Šis protokols ir piemērots barības apstrādei, kurā ir neliels mitruma saturs. Barība, kuras mitruma saturs pārsniedz 14 %, ir jāžāvē (jākondensē) pirms apstrādes. Īpašai barībai vai barības materiāliem (piemēram, taukiem, eļļām) vajadzīga speciāla apstrāde (sk. 9. punktu). Dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļas identificē, pamatojoties uz raksturīgiem, ar mikroskopu nosakāmiem elementiem (t.i., muskuļu šķiedras un citas gaļas daļiņas, skrīmšļi, kauli, ragi, dzīvnieku spalvas, sari, asinis, putnu spalvas, olu čaumalas, asakas, zvīņas). Identifikācija jāveic gan parauga sijātā frakcijā (6.1), gan koncentrētās nogulsnēs (6.2).

4. Reaģenti**4.1. Ieslēdzošs aģents**

4.1.1. Hloralhidrāts (šķīdums ūdenī, 60 % m/V)

4.1.2. Sārms (NaOH 2,5 % w/v vai KOH 2,5 % w/v) sijātajām frakcijām

4.1.3. Parafīnēļa vai glicerīns (viskozitāte: 68-81) nogulšņu mikroskopiskiem pētījumiem

4.2. Skalošanas aģenti

4.2.1. Spirts, 96 %

4.2.2. Acetons

4.3. Koncentrēšanas aģents

4.3.1. Tetrahloretilēns (blīvums 1,62)

4.4. Krāsošanas reaģenti

4.4.1. Joda/kālija jodīda šķīdums (šķīdina 2 g kālija jodīda 100 ml ūdens un pievieno 1 g joda, bieži kratot)

4.4.2. Alizarīnsarakanais (atšķaida 2,5 ml 1M sālskābi 100 ml ūdens un pievieno 200 mg alizarīnsarkano šim šķīdumam)

4.4.3. Cistīna reaģents (2 g svina acetāta, 10 g NaOH/100 ml H₂O)

4.4.4. Joda/kālija jodīda šķīdums (izšķīdināts 70 % etanolā)

(¹) OV L 102, 15.4.1976., 1. lpp.

- 4.5. *Balināšanas reaģents*
- 4.5.1. Tirdzniecībā laists nātrija hipohlorīta šķīdums (9,6 % aktīvais hlors)

5. **Iekārtas un piederumi**

- 5.1. Analītiskie svāri (pareizība 0,01 g, izņemot koncentrētas nogulsnes: 0,001 g).
- 5.2. Smalcināšanas ierīce (smalcinātājs vai piesta, jo īpaši barībai, kas satur > 15 % tauku analīzē)
- 5.3. Siets ar maksimāli 0,50 mm platām kvadrātveida acīm
- 5.4. Dalāmpiltuve vai izgulsnēšanas vārglāze ar konisku dibenu
- 5.5. Stereomikroskops (ar palielinājumu līdz 40)
- 5.6. Saliktais optiskais mikroskops (ar palielinājumu līdz 400X), caurejoša gaisma vai polarizēta gaisma
- 5.7. Laboratorijas standarta stikla trauki

Visas iekārtas rūpīgi jātīra. Dalāmpiltuves un stikla trauki jāmazgā trauku mazgājamā mašīnā. Sietus tīra, izmantojot suku ar cietiem sariem.

6. **Procedūra**

Granulētu barību var priekšsijāt, ja abas frakcijas analizē kā atsevišķus paraugus.

Apstrādā vismaz 50 g no parauga (rūpīgi sasmalcina, izmantojot piemērotu smalcināšanas ierīci (5.2.), ja nepieciešams, lai iegūtu atbilstošu struktūru). No sasmalcinātā materiāla paņem divus reprezentatīvus paraugus, vienu sijātai frakcijai (vismaz 5 g) (6.1) un vienu koncentrētām nogulsnēm (vismaz 5 g) (6.2). Identifikācijai papildus var izmantot iekrāsošanu ar krāsošanas reaģentiem (6.3).

Lai norādītu dzīvnieku proteīnu veidu un daļiņu izcelsmi, var izmantot lēmumatbalsta sistēmu, piemēram ARIES un var noformēt kontrolparaugus.

6.1. *Dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu identifikācija sijātās frakcijās*

Vismaz 5 g parauga izsijā caur sietu (5.3) divās frakcijās.

Sijāto frakciju (-as) ar lielām daļiņām (vai frakcijas reprezentatīvu daļu) izmanto plānas kārtiņas veidā uz piemērota balsta un regulāri pārbauda zem stereomikroskopa (5.5) ar dažādiem papilinājumiem attiecībā uz dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļām.

Priekšmetstikliņus ar sijāto frakciju (-ām) ar smalkām daļiņām regulāri pārbauda zem saliktā optiskā mikroskopa (5.6) ar dažādiem palielinājumiem attiecībā uz dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļām.

6.2. *Dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu identifikācija koncentrētās nogulsnēs*

Vismaz 5 g parauga (ar precizitāti līdz 0,01 g) pārceļ dalāmpiltuvē vai izgulsnēšanas vārglāzē ar konisku dibenu un apstrādā ar vismaz 50 ml tetrahloretilēna (4.3.1). Maisījumu atkārtoti krata vai samaisa.

— Ja izmanto slēgtu dalāmpiltuvi, nogulsnes atstāj nostāvēties pietiekamu laiku (vismaz trīs minūtes) pirms nogulšņu atdalīšanas. Kratīšanu atkārtoti un nogulsnes atkal atstāj nostāvēties vismaz trīs minūtes. Nogulsnes atdala vēlreiz.

— Ja izmantot atklātu vārglāzi, nogulsnes atstāj nostāvēties vismaz piecas minūtes pirms nogulšņu atdalīšanas.

Kopējo nogulšņu daudzumu izžāvē un pēc tam nosver (ar precizitāti līdz 0,001 g). Svēršana vajadzīga tikai tad, ja jāveic novērtējums. Ja nogulsnes sastāv no daudz lielām daļiņām, tās var izsijāt caur sietu (5.3) divās frakcijās. Izžāvētās nogulsnēs pārbauda, vai nav kaulu sastāvdaļas, ar stereomikroskopu (5.5) un salikto mikroskopu (5.6).

6.3. Ieslēdzošo aģentu un krāsošanas reaģentu izmantošana

Lai mikroskopiski identificētu dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļas, var izmantot īpašus ieslēdzošus aģentus un krāsošanas reaģentus.

Hloralhidrāts (4.1.1):	Uzmanīgi karsējot, var skaidrāk saskatīt šūnu struktūras, jo cietes graudi sarec un izdalās liekais šūnu saturs.
Sārms (4.1.2)	Vai nu nātrija hidroksīds vai kālija hidroksīds dzidrina barības materiālu, palīdzot atklāt muskuļu šķiedras, dzīvnieku spalvas un citas keratīna struktūras.
Parafinēļa vai glicerīns (4.1.3):	Šajā preparātu ieslēdzošajā aģentā var labi identificēt kaulu sastāvdaļas, jo lielākā daļa lakūnas paliek pildīta ar gaisu un izskatās kā melni caurumi apmēram 5 - 15 μm.
Joda/kālija jodīda šķīdums (4.4.1):	Izmanto cietes (zili violeta krāsa) un proteīna (dzeltenī oranža krāsa) noteikšanai. Šķīdumus var atšķaidīt, ja vajadzīgs.
Alizarīnsarkanā šķīdums (4.4.2):	Kaulu, asaku un zvīņu sarkans/rozā krāsojums. Pirms nogulšņu žāvēšanas (skatīt 6.2 punktā), visas nogulsnes pārceļ uz stikla mēģeni un divreiz samaisa ar apmēram 5 ml spirta (4.2.1) (ikreiz izmanto virpuļmikseri, šķīdinātājam ļauj noslāņoties apmēram vienu minūti un pēc tam to nolej). Pirms krāsošanas reaģenta lietošanas nogulsnes balina, pievienojot vismaz 1 ml nātrija hipohlorīta šķīduma (4.5.1). Reakcijai ļauj turpināties apmēram 10 minūtes. Mēģeni piepilda ar ūdeni, nogulsnēm ļauj noslāņoties divas līdz trīs minūtes un ūdeni un cietās daļiņas nolej. Nogulsnes vēl divreiz samaisa ar apmēram 10 ml ūdens (izmanto virpuļmikseri, ļauj noslāņoties, ikreiz nolejot ūdeni). Pievieno divus līdz 10 vai vairāk (atkarībā no atliekvielas) alizarīnsarkanā šķīduma pilienus. Maisījumu krata un ļauj reakcijai notikt dažas sekundes. Krāsainās nogulsnes divreiz samaisa ar apmēram 5 ml spirta (4.2.1), pēc tam vienreiz samaisa ar acetonu (4.2.2) (katru reizi izmanto virpuļmikseri, šķīdinātājam ļauj noslāņoties apmēram vienu minūti un pēc tam nolej). Nogulsnes ir sagatavotas žāvēšanai.
Cistīna reaģents (4.4.3):	Uzmanīgi karsējot, sastāvdaļas, kurās ir cistīns (dzīvnieku spalvas, putnu spalvas, utt.), kļūst melni brūnas.

6.4. Tādas lopbarības pārbaude, kas, iespējams, satur zivju miltus

Vismaz vienu priekšmetstikliņu pārbauda no smalki sijātās frakcijas un no nogulšņu smalkās frakcijas zem saliktā mikroskopa (skatīt 6.1 un 6.2 iedaļu).

Ja marķējums norāda, ka sastāvdaļas ietver zivju miltus vai ja uzskata vai atklāj zivju miltu esamību sākotnējā pārbaudē, pārbauda vismaz vēl divus smalki sijātās priekšmetstikliņus no sākotnējā parauga un no kopējās nogulšņu frakcijas.

7. Aprēķināšana un novērtēšana

Dalībvalstis nodrošina, ka šajā punktā aprakstītās procedūras izmanto, veicot oficiālu analīzi, lai novērtētu dzīvnieku sastāvdaļu daudzumu (ne tikai esamību).

Aprēķinus var veikt vienīgi tad, ja dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļās ir kaulu fragmenti.

Sauszemes siltasiņu dzīvnieku sugu (t.i., zīdītāju un putnu) kaulu fragmentus uz mikroskopa priekšmetstikliņa var atšķirt no dažāda veida asakām pēc raksturīgās lakūnas. Dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu proporcionālo daudzumu parauga materiālā novērtē, ņemot vērā:

- novērtēto kaulu fragmentu proporcionālo daudzumu (masas %) koncentrētās nogulsnēs un
- kaulu proporcionālo daudzumu (masas %) dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļās.

Novērtējumā jāņem vērā vismaz trīs (ja iespējams) priekšmetstikliņi un vismaz pieci laukumi katram priekšmetstikliņam. Barības maisījumos parasti koncentrētājās nogulsnēs ir ne vien sauszemes dzīvnieku kaulu un zivju asaku fragmenti, bet arī citas daļiņas, kam piemīt ļoti īpatnējs svars, piem., minerāli, smilts, pārkoksnejušās augu daļas un tamlīdzīgi.

7.1. *Kaulu fragmentu novērtētā procentuālā vērtība*

$$\% \text{ sauszemes dzīvnieku kaulu fragmenti} = (S \times c)/W$$

$$\% \text{ zivju asaku un zvīņu fragmenti} = (S \times d)/W$$

(S = nogulšņu masa (mg), c = korekcijas koeficients (%) novērtētajai sauszemes dzīvnieku kaulu daļai nogulsnēs, d = korekcijas koeficients (%) novērtētajai zivju asaku un zvīņu daļai nogulsnēs, W = nogulsnēšanās paraugu materiālu masa (mg)).

7.2. *Dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu novērtētā procentuālā vērtība*

Kaulu proporcija dzīvnieku produktos var būt ļoti dažāda. (Kaulu procentuālais daudzums kaulu miltiem ir 50 līdz 60 % un gaļas miltiem ir 20 līdz 30 %; zivju miltiem asaku un zvīņu saturs ir atšķirīgs atkarībā no zivju milšu kategorijas un izcelsmes, parasti tas ir 10 līdz 20 %).

Ja ir zināms, kāda veida dzīvnieku milti atrodas paraugā, tad ir iespējams novērtēt saturu:

$$\text{Sauszemes dzīvnieku produktu sastāvdaļu novērtētais saturs (\%)} = (S \times c)/(W \times f) \times 100$$

$$\text{Zivju produktu sastāvdaļu novērtētais saturs (\%)} = (S \times d)/(W \times f) \times 100$$

(S = nogulšņu masa (mg), c = korekcijas koeficients (%) novērtētajai sauszemes dzīvnieku kaulu daļai nogulsnēs, d = korekcijas koeficients (%) novērtētajai zivju asaku un zvīņu daļai nogulsnēs, f = korekcijas koeficients kaulu daļai pārbaudāmajā paraugā esošajām dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļām, W = nogulsnēšanās paraugu materiālu masa (mg)).

8. **Pārbaudes rezultātu izteikšana**

Ziņojumā jābūt vismaz informācijai par sastāvdaļu, kas radušās no sauszemes dzīvniekiem vai zivju miltiem, esamību. Dažādos gadījumus varētu paziņot šādi:

8.1. *Attiecībā uz to sastāvdaļu esamību, kas radušās no sauszemes zīdītājiem:*

— tik, cik varēja saskatīt ar mikroskopu, iesniegtajā paraugā neatrada nevienu sastāvdaļu, kas radusies no sauszemes zīdītājiem,

vai:

— tik, cik varēja saskatīt ar mikroskopu, iesniegtajā paraugā atrada sastāvdaļas, kas radušās no sauszemes zīdītājiem.

8.2. *Attiecībā uz zivju milšu esamību:*

— tik, cik varēja saskatīt ar mikroskopu, iesniegtajā paraugā neatrada nevienu sastāvdaļu, kas radusies no zivīm,

vai:

— tik, cik varēja saskatīt ar mikroskopu, iesniegtajā paraugā atrada sastāvdaļas, kas radušās no zivīm.

Gadījumā, ja atrod sastāvdaļas, kas radušās no zivīm vai sauszemes zīdītājiem, pārbaudes rezultātu ziņojumā, ja vajadzīgs, var sīkāk norādīt atrasto sastāvdaļu daudzuma novērtējumu (x %, < 0,1 %, 0,1-0,5 %, 0,5-5 % vai > 5 %), sauszemes zīdītāja veida, ja iespējams, un identificēto sastāvdaļu sīkāku specifikāciju (muskulu šķiedras, skrimšļi, kauli, ragi, dzīvnieku spalvas, sari, putnu spalvas, asinis, olu čaumalas, asakas, zvīņas).

Gadījumā, ja novērtē dzīvnieku sastāvdaļu daudzumu, piemin izmantoto korekcijas koeficientu f.

Attiecībā uz gadījumiem, kad identificē sauszemes zīdītāju kaulu sastāvdaļas, ziņojumā iekļauj papildu klauzulu:

“Nevar izslēgt iespēju, ka iepriekš minētās sastāvdaļas ir iegūtas no zīdītājiem.”

Šī papildu klauzula nav vajadzīga, ja sauszemes dzīvnieku kaulu fragmenti ir uzskaitīti kā mājputnu vai zīdītāju kaulu fragmenti.

9. **Papildprotokols tauku un eļļas analīzei**

Šo protokolu var izmantot tauku vai eļļas analīzei:

- Ja tauki ir cieti, tos sasilda, piemēram, mikroviļņu krāsnī, līdz tie ir šķidri.
 - Izmantojot pipeti, 40 ml tauku no parauga apakšpusē pārceļ uz centrifugēšanas mēģeni.
 - Centrifugē 10 minūtes ar 4 000 apgriezieniem minūtē.
 - Ja tauki ir cieti pēc centrifugēšanas, tos vēlreiz sasilda krāsnī, līdz tie ir šķidri. Atkārtojiet centrifugēšanu piecas minūtes ar 4 000 apgriezieniem minūtē.
 - Izmantojot nelielu karoti vai lāpstiņu, pusi no dekantētā piemaisījuma pārceļ uz nelielu Petri trauciņu vai mikroskopa priekšmetstikliņu, lai ar mikroskopu identificētu iespējamo dzīvnieku sastāvdaļu saturu (gaļas šķiedras, putni spalvas, kaulu fragmenti). Kā mikroskopijas ieslēdzošais aģents ieteicama parafinēļa vai glicerīns.
 - Pārējos piemaisījumus izmanto nogulsnešanai, kā aprakstīts 6.2. punktā.
-