

32003L0126

L 339/78

ÚRADNÝ VESTNÍK EURÓPSKEJ ÚNIE

24.12.2003

## SMERNICA KOMISIE 2003/126/ES

z 23. decembra 2003

## o analytickej metóde na stanovenie zložiek živočíšneho pôvodu na úradnú kontrolu krmiva

(Text s významom pre EHP)

KOMISIA EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV,

PRIJALA TÚTO SMERNICU:

so zreteľom na Zmluvu o založení Európskeho spoločenstva,

## Článok 1

so zreteľom na smernicu Rady 70/373/EHS z 20. júla 1970 o zavedení metód spoločenstva na odber vzoriek a analýzy pre úradnú kontrolu krmív<sup>(1)</sup>, najmä na jej článok 2,

Členské štáty zabezpečia, aby sa úradné analýzy krmív s cieľom úradnej kontroly prítomnosti, identifikácie a/alebo odhadu množstva zložiek živočíšneho pôvodu v krmivách v rámci koordinovaného inšpekčného programu v oblasti výživy zvierat podľa smernice Rady 95/53/ES<sup>(2)</sup> vykonávali v súlade s ustanoveniami prílohy tejto smernice.

keďže:

## Článok 2

(1) podľa smernice 70/373/EHS sa úradné kontroly krmív na účely kontroly súladu s požiadavkami zákonov, nariadení a administratívnych opatrení, ktoré stanovujú ich kvalitu a zloženie, majú uskutočňovať metódami odberu vzoriek a analýz spoločenstva;

Členské štáty zabezpečia, aby sa laboratóriá, ktoré vykonávajú úradné kontroly prítomnosti živočíšnych zložiek v krmivách, pravidelne zúčastňovali na odbornom testovaní analytických metód a aby pracovníci laboratórií, ktorí vykonávajú analýzy, boli primerane školení.

(2) ustanovenia na označovanie krmív a požiadavky zakazujúce používanie určitých druhov živočíšnych bielkovín v krmivách pre určité kategórie zvierat vyžadujú spoľahlivé analytické metódy na určenie ich prítomnosti, a ak je to vhodné ich percentuálneho zastúpenia;

## Článok 3

(3) metóda opísaná v smernici Komisie 98/88/ES z 13. novembra 1998, ktorou sa ustanovujú pravidlá pre mikroskopickú identifikáciu a odhad zložiek živočíšneho pôvodu pre úradnú kontrolu krmív<sup>(2)</sup> je v súčasnosti jedinou potvrdenou metódou na kontrolu prítomnosti živočíšnych bielkovín v krmivách, vrátane týchto bielkovín spracovaných pri 133°C/3 Bar/20;

Ruší sa smernica 98/88/EHS.

Odkazy na zrušenú smernicu budú tvorené ako odkazy na túto smernicu.

(4) porovnávacia štúdia na stanovenie spracovaných živočíšnych bielkovín nedávno preukázala, že odlišné uplatňovanie mikroskopických testov ustanovených v smernici 98/88/ES spôsobilo významné rozdiely v citlivosti, špecifickosti a presnosti metódy. S cieľom zosúladenia a zlepšenia určovania spracovaných živočíšnych bielkovín, by sa mali ustanovenia týkajúce sa mikroskopickej metódy ďalej špecifikovať a zaviesť ako povinné. Je potrebné zabezpečiť, aby analytici, ktorí vykonávajú metódu, boli primerane zaškolení vzhľadom na to, že jej vykonávanie závisí od ich zručnosti;

## Článok 4

(5) je preto potrebné nahradiť smernicu 98/88/EHS;

1. Členské štáty uvedú do účinnosti zákony, iné právne predpisy alebo správne opatrenia potrebné na dosiahnutie súladu s touto smernicou najneskôr do 1. júla 2004. Následne oznámia Komisii znenie týchto ustanovení a korelačnú tabuľku medzi týmito ustanoveniami a touto smernicou.

(6) opatrenia ustanovené v tejto smernici sú v súlade so stanoviskom Stáleho výboru pre potravinový reťazec a zdravie zvierat,

Keď členské štáty prijímajú tieto opatrenia, uvedú priamo v nich alebo pri ich úradnom uverejnení odkaz na túto smernicu. Podrobnosti o odkaze upravujú členské štáty.

2. Členské štáty oznámia Komisii znenie hlavných ustanovení vnútroštátnych právnych predpisov, ktoré prijímajú v oblasti pokrytej touto smernicou.

<sup>(1)</sup> Ú. v. ES L 170, 3.8.1970, s. 2. Nariadenie naposledy zmenené a doplnené nariadením (ES) č. 807/2003 (Ú. v. ES L 122, 16.5.2003, s. 36).

<sup>(2)</sup> Ú. v. ES L 318, 27.11.1998, s. 45.

<sup>(3)</sup> Ú. v. ES L 265, 8.11.1995, s. 17. Smernica naposledy zmenená a doplnená smernicou Európskeho parlamentu a Rady 2001/46/ES (Ú. v. ES L 234, 1.9.2001, s. 55).

*Článok 5*

Táto smernica nadobúda účinnosť 20. deň od jej uverejnenia v *Úradnom vestníku Európskej Únie*.

*Článok 6*

Táto smernica je adresovaná členským štátom.

V Bruseli 23. decembra 2003

*Za Komisiu*  
David BYRNE  
*člen Komisie*

---

## PRÍLOHA

**Podmienky pre mikroskopické zisťovanie, identifikáciu alebo odhad zložiek živočíšneho pôvodu v krmivách****1. Predmet a oblasť použitia**

Tieto podmienky sa používajú, ak sa bude zisťovanie zložiek živočíšneho pôvodu (vymedzených ako výrobky zo spracovávaných tel a častí tel cicavcov, hydiny a rýb) v krmivách uskutočňovať prostredníctvom mikroskopického skúmania v rámci koordinovaného inšpekčného programu v oblasti výživy zvierat v súlade so smernicou Rady 95/53/ES. Ak sa metódy v tejto prílohe používajú vo všetkých úradných testoch, môže sa druhý test vykonať aj s použitím variantnej alebo alternatívnej metódy pre lepšie zistenie určitých druhov živočíšnych zložiek alebo pre ďalšie špecifikovanie pôvodu živočíšnych zložiek. Ďalej sa môže použiť variantný úradný postup pri skúmaní určitých špecifických živočíšnych zložiek, ako je plazma alebo kosti v tuku (pozri aj bod 9), za predpokladu, že tieto analýzy sa vykonávajú ako doplnujúce k analýzám predpokladaným v koordinovanom inšpekčnom programe.

**2. Citlivosť**

V závislosti od druhu zložiek živočíšneho pôvodu je možné zistiť veľmi malé množstvá (< 0,1 %) v krmivách.

**3. Princíp**

Na identifikáciu sa používa vhodne pripravená reprezentatívna vzorka odobratá v súlade s ustanoveniami smernice Komisie 76/371/EHS z 1. marca 1976, ktorá stanovuje metódy vzorkovania spoločenstva na úradnú kontrolu krmív<sup>(1)</sup>. Nasledujúci úradný postup je vhodný pre manipuláciu s krmivom s nízkym obsahom vlhkosti. Krmivo s obsahom vlhkosti vyšším ako 14 % sa musí pred manipuláciou vysušiť (zahusťovať). Špeciálne krmivo alebo kŕmne suroviny (napr. tuky, oleje) vyžadujú osobitnú úpravu (pozri bod 9). Zložky živočíšneho pôvodu sa zisťujú na základe typických, mikroskopicky identifikovateľných vlastností (napr. svalové vlákna a iné časti mäsa, chrupavky, kosti, rohovina, srst, štetiny, krv, perie, vaječné škrupiny, rybie kosti, rybie šupiny). Zisťovanie sa vykonáva tak vo frakcii po preosievaní (6.1), ako aj v koncentrovanom sedimente (6.2) vzorky.

**4. Činidlá****4.1. Preparačné činidlo**

4.1.1. Chlóralhydrát (vodný roztok, 60 % w/v)

4.1.2. Lúh (NaOH 2,5 % w/v alebo KOH 2,5 % w/v) pre frakcie po preosievaní

4.1.3. Parafínový olej alebo glycerol (viskozita: 68-81) pre mikroskopické pozorovania v sedimente

**4.2. Preplachovacie činidlá**

4.2.1. Alkohol, 96 %

4.2.2. Acetón

**4.3. Zahusťovacie činidlo**

4.3.1. Tetrachlóretylén (hustota 1,62)

**4.4. Vyfarbovacie činidlá**

4.4.1. Roztok jódu/jodidu draselného (rozpusťte 2 g jodidu draselného v 100 ml vody a pridajte 1 g jódu pri častom pretrepávaní)

4.4.2. Alizarínová červeň (zriedte 2,5 ml 1M kyseliny chlorovodíkovej v 100 ml vody a pridajte 200 mg alizarínovej červene do tohto roztoku)

4.4.3. Cystínové činidlo (2 g octanu olovnateho, 10 g NaOH/100 ml H<sub>2</sub>O)

4.4.4. Roztok jódu/jodidu draselného (rozpustený v 70 % etanole)

(<sup>1</sup>) Ú. v. ES L 102, 15.4.1976, s. 1.

4.5. *Odfarbovacie činidlo*

## 4.5.1. Obchodný roztok chlórnanu sodného (9,6 % aktívneho chlóru)

5. **Vybavenie a doplnkové príslušenstvo**

5.1. Analytické váhy (s presnosťou na 0,01 g s výnimkou pre koncentrovaný sediment, kde sa vyžaduje presnosť na: 0,001 g)

5.2. Vybavenie na mletie (mlynček alebo trecia miska, osobitne pre krmivo s obsahom &gt; 15 % tuku pri analýze)

5.3. Sito so štvorcovými okami o šírke ôk najviac 0,50 mm

5.4. Separačný lievik alebo kónická sedimentačná kadička

5.5. Stereomikroskop (o zväčšení najmenej 40)

5.6. Zložený mikroskop (o zväčšení najmenej 400), prechádzajúce svetlo alebo polarizované svetlo

5.7. Štandardné laboratórne sklo

Celé vybavenie musí byť dôkladne očistené. Separačné lieviky a sklo sa umyjú v umývačke skla. Sitá treba čistiť kefou a pevnými štetinami.

6. **Postup**

Granulované krmivo možno preosiať pred analýzou, ak sa obe frakcie analyzujú ako osobitná vzorka.

Treba upraviť najmenej 50 g vzorky (starostlivo pomleť vhodným zariadením na mletie (5.2), ak je to potrebné na dosiahnutie vhodnej štruktúry). Z pomletého materiálu sa odoberú dve reprezentatívne časti, jedna pre frakciu po preosievaní (najmenej 5 g) (6.1) a jedna pre koncentrovaný sediment (najmenej 5 g) (6.2). Následne na lepšiu identifikáciu možno používať vyfarbovacie činidlá (6.3).

Na zisťovanie druhu živočíšnych bielkovín a pôvodu častíc je možné použiť systém podporujúci rozhodovanie ako je Aries a môžu sa dokumentovať referenčné vzorky.

6.1. *Identifikácia zložiek živočíšneho pôvodu vo frakciách po preosievaní*

Najmenej 5 g vzorky sa preosieva cez sito (5.3) do dvoch frakcií.

Sitová frakcia (frakcie) s veľkými časticami (alebo reprezentatívna časť frakcie) sa rozprestiera v tenkej vrstve na vhodnú podložku a systematicky preskúma na prítomnosť zložiek živočíšneho pôvodu pod stereomikroskopom (5.5) pri rôznych zväčšeniach.

Podložné sklíčka so sitovou frakciou (frakciami) s jemnými časticami sa systematicky preskúmajú na prítomnosť zložiek živočíšneho pôvodu pod zloženým mikroskopom (5.6) pri rôznych zväčšeniach.

6.2. *Identifikácia zložiek živočíšneho pôvodu z koncentrovaného sedimentu*

Najmenej 5 g (s presnosťou na 0,01 g) vzorky sa preniesie do separačného lievika alebo kónickej sedimentačnej kadičky a upraví sa najmenej 50 ml tetrachlóretylénu (4.3.1). Zmes sa pretrepáva alebo sa opakovane premieša.

— Ak sa používa uzatvorený separačný lievik, sediment sa nechá pred oddelením sedimentu dostatočnú dobu usadzovať (najmenej tri minúty). Opakovane sa pretrepe a sediment sa nechá znovu usadzovať najmenej tri minúty. Sediment sa opäť oddelí.

— Ak sa používa otvorená kadička, sediment sa nechá usadzovať najmenej päť minút pred oddelením sedimentu.

Celkový sediment sa vysuší a následne odváži (s presnosťou na 0,001 g). Váženie je potrebné len vtedy, ak sa vyžaduje odhad množstva. Ak sediment pozostáva z množstva veľkých častíc, môže sa preosievať cez sito (5.3) do dvoch frakcií. Suchý sediment sa preskúma na prítomnosť kostných zložiek pod stereomikroskopom (5.5) a pod zloženým mikroskopom (5.6).

### 6.3. Použitie preparačných činidiel a vyfarbovacích činidiel

Mikroskopickú identifikáciu zložiek živočíšneho pôvodu je možné podporiť použitím osobitných preparačných a vyfarbovacích činidiel.

Chloralhydrát (4.1.1):	Pri opatrnom zahrievaní je možné zreteľnejšie vidieť bunkové štruktúry, pretože zrníčka škrobu želatínujú a nepotrebné bunkové obsahy sa odstraňujú.
Lúh (4.1.2)	Buď hydroxid sodný alebo hydroxid draselný objasňuje materiál krmiva napomáhaním odhalenia svalových vlákien, chlpov a iných keratínových štruktúr.
Parafínový olej a glycerol (4.1.3):	V tomto preparačnom činidle je možné dobre identifikovať kostné zložky, pretože väčšina dutiniek zostáva vyplnená vzduchom a javia sa ako čierne diery o rozmeroch približne 5-15 µm.
Roztok jódu/jodidu draselného (4.4.1):	Používa sa na zisťovanie škrobu (modrofialová farba) a bielkovín (žltlooranžová farba). Roztoky je možné riediť podľa potreby.
Roztok alizarínovej červene (4.4.2):	Červené/ružové sfarbenie kostí, rybích kostí a rybích šupín. Pred sušením sedimentu (pozri časť 6.2) sa celkový sediment preniesie do sklenej skúmavky a dvakrát sa prepláchne s približne 5 ml alkoholu (4.2.1) (zakaždým sa premieša vírivým pohybom, nechá sa usadzovať asi jednu minútu a rozpúšťadlo sa vyleje). Pred použitím vyfarbovacieho činidla sa sediment odfarbí pridaním najmenej 1 ml roztoku chlórnanu sodného (4.5.1). Reakcia sa nechá pokračovať 10 minút. Skúmavka sa naplní vodou, sediment sa nechá usadzovať dve až tri minúty a voda a rozptýlené častice sa vylejú. Sediment sa ešte dvakrát prepláchne s asi 10 ml vody (premieša sa vírivým pohybom, nechá sa usadiť a voda sa zakaždým vyleje). Pridajú sa dve až 10 alebo viac kvapiek (v závislosti od množstva rezíduí) roztoku alizarínovej červene. Zmesou sa zatrepe a reakcia sa prejaví za niekoľko sekúnd. Sfarbený sediment sa dvakrát prepláchne s približne 5 ml alkoholu (4.2.1) a následne jedenkrát prepláchne s acetónom (4.2.2) (zakaždým sa premieša vírivým pohybom, rozpúšťadlo sa nechá usadzovať asi jednu minútu a vyleje sa). Sediment je potom pripravený na sušenie.
Cystínové činidlo (4.4.3)	Opatrným zahrievaním sa zložky obsahujúce cystín (chlpý, perie, atď.) sfarbia do čiernohneda.

### 6.4. Skúmanie krmiva, ktoré pravdepodobne obsahuje rybiu múčku

Preskúma sa najmenej jedno podložné sklíčko pripravené z jemnej sitovej frakcie a z jemnej frakcie sedimentu pod zloženým mikroskopom (pozri časti 6.1 a 6.2).

Ak podľa označenia je medzi zložkami krmiva rybia múčka alebo ide o podozrenie prítomnosti rybiej múčky alebo sa zistila jej prítomnosť pri úvodnom preskúmaní, najmenej dve ďalšie podložné sklíčka pripravené z jemnej sitovej frakcie pôvodnej vzorky a celková sedimentačná frakcia sa preskúmajú.

## 7. Výpočet a hodnotenie

Členské štáty zabezpečia, aby sa postupy opísané v tomto bode používali, ak sa uskutočňuje úradná analýza zameraná na odhad množstva (a nie jednoducho na prítomnosť) živočíšnych zložiek.

Výpočet sa môže robiť len vtedy, ak zložky živočíšneho pôvodu obsahujú kostné fragmenty.

Kostné fragmenty suchozemských teplokrvných druhov (napr. cicavcov a vtákov) môžu byť odlišné od rôznych druhov rybiej kosti na podložnom sklíčku mikroskopu pomocou typických dutiniek. Podiel zložiek živočíšneho pôvodu v materiále vzorky sa odhaduje s ohľadom na:

- odhadovaný podiel (hmotnostné %) kostných fragmentov v koncentrovanom sedimente a
- podiel (hmotnostné %) kostí v zložkách živočíšneho pôvodu.

Odhad sa zakladá na preskúmaní najmenej troch (ak je to možné) podložných sklíčok a najmenej piatich políčok na každé sklíčko. V krmných zmesiach koncentrovaný sediment spravidla obsahuje nielen fragmenty kostí suchozemských zvierat a kostí rýb, ale aj iné častice o vysokej špecifickej hmotnosti, napr. minerály, piesok, fragmenty zdrevnatých rastlín a podobne.

## 7.1. Odhadovaná hodnota kostných fragmentov v percentách

$$\% \text{ kostných fragmentov suchozemských zvierat} = (S \times c)/W$$

$$\% \text{ fragmentov rybích kostí a rybích šupín} = (S \times d)/W$$

(S = hmotnosť sedimentu (mg), c = korekčný faktor (%) odhadovaného množstva kostí suchozemských zvierat v sedimente, d = korekčný faktor (%) odhadovaného množstva rybích kostí a rybích šupín v sedimente, W = hmotnosť vzorky pre sedimentáciu (mg)).

## 7.2. Odhadovaná hodnota zložiek živočíšneho pôvodu

Podiel kosti sa môže v živočíšnych produktoch významne odlišovať. (Percentuálne zastúpenie kostí, ak ide o kostnú múčku je v rozpätí od 50 do 60 %, a ak ide o mäsovú múčku v rozpätí od 20 do 30 %; u rybích múčok sa množstvo kostí a šupín pohybuje v závislosti od kategórie a pôvodu rybej múčky, bežne v rozpätí od 10 do 20 %).

Ak je druh živočíšnej múčky prítomnej vo vzorke známy, je možné odhadnúť jej obsah:

$$\text{Odhadované množstvo zložiek zo suchozemských živočíšnych výrobkov (\%)} = (S \times c)/(W \times f) \times 100$$

$$\text{Odhadované množstvo zložiek z rybích výrobkov (\%)} = (S \times d)/(W \times f) \times 100$$

(S = hmotnosť sedimentu (mg), c = korekčný faktor (%) odhadovaného množstva kostných zložiek zo suchozemských zvierat v sedimente, d = korekčný faktor (%) odhadovaného množstva rybích kostí a fragmentov šupín v sedimente, f = korekčný faktor podielu kostí v zložke živočíšneho pôvodu v skúmanej vzorke, W = hmotnosť vzorky pre sedimentáciu (mg)).

## 8. Vyjadrenie výsledku skúmania

Správa musí prinajmenej obsahovať informáciu o prítomnosti zložiek pochádzajúcich zo suchozemských zvierat a z rybej múčky. Jednotlivé prípady sa vyjadrujú nasledovne:

## 8.1. V súvislosti s prítomnosťou zložiek pochádzajúcich zo suchozemských zvierat:

— V predloženej vzorke neboli nájdené zložky pochádzajúce zo suchozemských zvierat rozpoznateľné mikroskopom,

alebo:

— V predloženej vzorke boli nájdené zložky pochádzajúce zo suchozemských zvierat rozpoznateľné mikroskopom.

## 8.2. V súvislosti s prítomnosťou rybej múčky:

— v predloženej vzorke neboli nájdené žiadne zložky pochádzajúce z rýb rozpoznateľné mikroskopom

alebo:

— v predloženej vzorke boli nájdené zložky pochádzajúce z rýb rozpoznateľné mikroskopom,

Ak boli vo vzorke zistené zložky pochádzajúce z rýb alebo zo suchozemských zvierat, správa o výsledku skúmania, ak sa to požaduje, môže ďalej uvádzať odhad zisteného množstva zložiek (x %, < 0,1 %, 0,1 – 0,5 %, 0,5 – 5 % or > 5 %), ďalšiu špecifikáciu zisteného druhu suchozemského zvieratá, ak je to možné a identifikované zložky živočíšneho pôvodu (svalové vlákna, chrupavky, kosti, rohovina, srst', štetiny, perie, krv, vaječné škrupiny, rybie kosti, rybie šupiny).

Ak sa hodnotilo množstvo zložiek živočíšneho pôvodu, treba uvádzať použitý korekčný faktor f.

Ak sa identifikovali kostné zložky zo suchozemských zvierat, správa musí obsahovať doplňujúcu vetu:

„Možnosť, že uvedené zložky pochádzajú z cicavcov, nie je možné vylúčiť.“

Táto doplňujúca veta nie je potrebná, ak kostné fragmenty zo suchozemských zvierat boli špecifikované ako kostné fragmenty z hydiny alebo cicavcov.

9. **Voliteľný úradný postup pre analýzu tuku alebo oleja**

Pre analýzu tuku alebo oleja sa môže používať nasledovný úradný postup:

- ak je tuk tuhej konzistencie, ohrieva sa napríklad v mikrovlnnej rúre, kým sa neroztopí.
  - použitím pipety sa odoberie 40 ml tuku zo spodnej časti vzorky a prenesie sa do odstredivkovej skúmavky.
  - odstreďuje sa 10 minút pri otáčkach 4000/min.
  - ak je tuk po odstredení tuhý, ohrieva sa znovu v mikrovlnnej rúre, kým sa neroztopí. Opakujte odstreďovanie 5 minút pri otáčkach 4000/min.
  - použitím malej lyžičky alebo špachtle, polovica usadených nečistôt sa prenesie do malej Petriho misky alebo na podložné sklíčko mikroskopu na mikroskopickú identifikáciu možného obsahu živočíšnych zložiek (mäsových vlákien, peria, kostných fragmentov). Ako preparačné činidlo pre mikroskopiu, sa odporúča parafínový olej alebo glycerol.
  - zvyšné nečistoty sa použijú na sedimentáciu ako je opísané v bode 6.2.
-