**Dieses Dokument ist lediglich eine Dokumentationsquelle, für deren Richtigkeit die Organe der Gemeinschaften keine Gewähr übernehmen**

►**B**

# ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION

**vom 15. März 2002**

**mit Durchführungsbestimmungen zur Richtlinie 91/492/EWG des Rates hinsichtlich der Grenzwerte und der Analysemethoden für bestimmte marine Biotoxine in lebenden Muscheln, Stachelhäutern, Manteltieren und Meeresschnecken**

*(Bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2002) 1001)*

**(Text von Bedeutung für den EWR)**

(2002/225/EG)

(ABl. L 75 vom 16.3.2002, S. 62)

Berichtigt durch:

►**C1** Berichtigung, ABl. L 46 vom 20.2.2003, S. 32 (2002/225/EG)

▼B

# ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION

**vom 15. März 2002**

**mit Durchführungsbestimmungen zur Richtlinie 91/492/EWG des Rates hinsichtlich der Grenzwerte und der Analysemethoden für bestimmte marine Biotoxine in lebenden Muscheln, Stachelhäutern, Manteltieren und Meeresschnecken**

*(Bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2002) 1001)*

**(Text von Bedeutung für den EWR)**

(2002/225/EG)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Gemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 91/492/EWG des Rates vom 15. Juli 1991 zur Festlegung der Hygienevorschriften für die Erzeugung und Vermarktung lebender Muscheln ([1]), zuletzt geändert durch die Richtlinie 97/79/EG ([2]), insbesondere auf Kapitel V Absätze 3 und 5 des Anhangs,

in Erwägung nachstehender Gründe:

(1) Gemäß Kapitel V Nummer 7 des Anhangs zur Richtlinie 91/492/EWG dürfen die üblichen biologischen Analysemethoden keine positive Reaktion auf fettlösliche Algentoxine (Diarrhetic Shellfish Poisoning — DSP) in den essbaren Muschelteilen (ganze Körper oder einzeln verzehrbare Teile) ergeben.

(2) Es ist wissenschaftlich erwiesen, dass bestimmte marine Biotoxine wie Toxine der DSP-Gruppe (Diarrhetic Shellfish Poisoning) — Okadainsäure (OA) und Dinophysistoxine (DTX) — ebenso wie Yessotoxine (YTX), Pectenotoxine (PTX) und Azaspirosäuren (AZA) die menschliche Gesundheit ernsthaft gefährden, wenn ihr Gehalt in lebenden Muscheln, Stachelhäutern, Manteltieren und Meeresschnecken bestimmte Höchstgrenzen überschreitet.

(3) Anhand neuerer wissenschaftlicher Studien können nun Grenzwerte und Analysemethoden für die genannten Biotoxine festgelegt werden.

(4) Zum Schutz der menschlichen Gesundheit sollten die Grenzwerte und Analysemethoden harmonisiert und von den Mitgliedstaaten angewendet werden.

(5) Neben den biologischen sollten alternative Nachweismethoden wie chemische Methoden oder In-vitro-Versuche zulässig sein, sofern erwiesen ist, dass die gewählten Methoden nicht weniger leistungsfähig sind als die biologischen und dass ihre Anwendung einen gleichwertigen Gesundheitsschutz gewährleistet.

(6) Die vorgeschlagenen Grenzwerte beruhen auf vorläufigen Daten und sollten erneut geprüft werden, sobald neue wissenschaftliche Erkenntnisse vorliegen.

(7) Die Maßnahmen dieser Entscheidung entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Veterinärausschusses —

HAT FOLGENDE ENTSCHEIDUNG ERLASSEN:

*Artikel 1*

Die vorliegende Entscheidung legt die Grenzwerte und Nachweismethoden für die marinen Biotoxine der DSP-Gruppe (Diarrhetic Shellfish Poisoning) — Okadainsäure und Dinophysistoxine —, Yessotoxine, Pectenotoxine und Azaspirosäuren fest. Sie gilt für lebende

([1]) ABl. L 268 vom 24.9.1991, S. 1.
([2]) ABl. L 24 vom 30.1.1998, S. 31.

▼B

Muscheln, Stachelhäuter, Manteltiere und Meeresschnecken, die zum unmittelbaren menschlichen Verzehr oder zur Weiterverarbeitung vor dem Verzehr bestimmt sind.

*Artikel 2*

Der Grenzwert für den Gesamtgehalt an Okadainsäure, Dinophysistoxinen und Pectenotoxinen in Tieren gemäß Artikel 1 (ganze Körper oder einzeln verzehrbare Teile) wird auf 160 µg Okadainsäure-Äquivalent je kg festgesetzt. Die Analysemethoden werden im Anhang zu dieser Entscheidung festgelegt.

*Artikel 3*

Der Grenzwert für den Yessotoxin-Gehalt in Tieren gemäß Artikel 1 (ganze Körper oder einzeln verzehrbare Teile) wird auf 1 mg Yessotoxin-Äquivalent je kg festgesetzt. Die Analysemethoden werden im Anhang zu dieser Entscheidung festgelegt.

*Artikel 4*

Der Grenzwert für den Gehalt an Azaspirosäure in Tieren gemäß Artikel 1 (ganze Körper oder einzeln verzehrbare Teile) wird auf 160 µg Azaspirosäure-Äquivalent je kg festgesetzt. Die Analysemethoden werden im Anhang zu dieser Entscheidung festgelegt.

*Artikel 5*

Ergeben die durchgeführten Analysen Abweichungen zwischen den verschiedenen Methoden, so gilt der Maus-Bioassay als Referenzmethode.

*Artikel 6*

Diese Entscheidung ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

▼B

*ANHANG*

**NACHWEISMETHODEN**

**Biologische Methoden**

Zum Nachweis der in Artikel 1 genannten Toxine kann eine Reihe von Maus-Bioassay-Verfahren angewendet werden, die sich durch die untersuchte Menge (Hepatopankreas oder Ganzkörper) und die zur Extraktion und Purifikation verwendeten Lösungen unterscheiden. Sensitivität und Selektivität hängen von den für die Extraktion und Purifikation gewählten Lösungen ab. Dies sollte bei der Wahl der Methode berücksichtigt werden, damit alle Toxine erfasst werden.

Ein einziger Maus-Bioassay mit Azeton-Extraktion kann angewendet werden, um Okadainsäure, Dinophysistoxine, Pectenotoxine und Yessotoxine nachzuweisen. Dieser Assay kann nötigenfalls durch Flüssig-Flüssig-Trennung mit Ethylacetat/Wasser oder Dichlormethan/Wasser ergänzt werden, um mögliche Interferenzen auszuschließen. Der Nachweis von Azaspirosäure innerhalb der regulativen Grenzwerte mit diesem Verfahren erfordert die Ganzkörperuntersuchung.

Für jeden Test sollten drei Mäuse verwendet werden. Der Tod zweier von drei Mäusen binnen 24 Stunden nach der Injektion eines Extraktes von je 5 g Hepatopankreas oder 25 g Ganzkörper sollte als positiver Nachweis eines oder mehrerer der in Artikel 1 genannten Toxine in Mengen gelten, welche die in den Artikeln 2, 3 und 4 festgelegten Grenzwerte überschreiten.

►**C1** Zum Nachweis von Okadainsäure Dinophysistoxinen, Pectenotoxinen und Azaspirosäuren kann ein Maus-Bioassay mit Aceton-Extraktion und nachfolgender Flüssig-Flüssig-Trennung mit Diethylether verwendet werden, nicht jedoch zum Nachweis von Yessotoxinen, da bei der Trennung Toxine ◄ verloren gehen können. Für jeden Test sollten drei Mäuse verwendet werden. Der Tod zweier von drei Mäusen binnen 24 Stunden nach der Injektion eines Extraktes von je 5 g Hepatopankreas oder 25 g Ganzkörper ►**C1** sollte als positiver Nachweis von Okadainsäure, Dinophysistoxinen, Pectenotoxinen und Azaspirosäuren in Mengen gelten, welche die in Artikel 2 und 4 festgelegten Mengen überschreiten. ◄

Mit dem Ratten-Bioassay können Okadainsäure, Dinophysistoxine und Azaspirosäuren nachgewiesen werden. Für jeden Test sollten drei Ratten verwendet werden. Eine diarrhöische Reaktion einer der drei Ratten gilt als positiver Nachweis von Okadainsäure, Dinophysistoxinen und Azaspirosäuren in Mengen, welche die in den Artikeln 2 und 4 genannten Mengen überschreiten.

**Alternative Nachweismethoden**

Als Alternative oder Ergänzung zu den biologischen Nachweismethoden kann eine Reihe von Methoden wie die Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (HPLC) mit fluorimetrischer Detektion, Flüssigkeits-Chromatographie-(LC)-Massenspektrometrie (MS), Immunassays und funktionale Assays ►**C1** wie der Phosphatase-Inhibitionsassay verwendet werden, sofern sie nicht weniger leistungsfähig sind als die biologische Methode, ihre Verwendung ein gleichwertiges Gesundheitsschutzniveau gewährleistet und mit ihnen, allein oder in Kombination, mindestens folgende Analoga nachweisbar sind: ◄

— Okadainsäure und Dinophysistoxine: zum Nachweis von DTX3 kann ein Hydrolyse-Schritt erforderlich sein;

— Pectenotoxine: PTX1 und PTX2;

— Yessotoxine: YTX, 45 OH YTX, Homo YTX und 45 OH Homo YTX;

— Azaspirosäuren: AZA1, AZA2 und AZA3.

Für den Fall, dass neue, für die öffentliche Gesundheit relevante Analoga entdeckt werden, sollten diese in die Analyse einbezogen werden. Zuerst müssen Standards für die chemische Analyse vorliegen. Die Gesamttoxizität wird auf der Grundlage der für jedes Toxin vorliegenden Toxizitätsdaten mittels Umrechnungsfaktoren errechnet.

Die Leistungsmerkmale dieser Methoden sind nach einer Validierung auf der Grundlage eines international anerkannten Protokolls zu definieren.