Este documento constitui um instrumento de documentação e não vincula as instituições

►**B**

DECISÃO DA COMISSÃO

de 15 de Março de 2002

que define regras pormenorizadas para a aplicação da Directiva 91/492/CEE do Conselho no que se refere a níveis máximos e métodos de análise de determinadas biotoxinas marinhas presentes em moluscos bivalves, equinodermes, tunicados e gastrópodes marinhos

[notificada com o número C(2002) 1001]

(Texto relevante para efeitos do EEE)

(2002/225/CE)

(JO L 75 de 16.3.2002, p. 62)

Rectificada por:

►**C1** Rectificação, JO L 46 de 20.2.2003, p. 32 (2002/225/CE)

▼B

DECISÃO DA COMISSÃO

de 15 de Março de 2002

que define regras pormenorizadas para a aplicação da Directiva 91/492/CEE do Conselho no que se refere a níveis máximos e métodos de análise de determinadas biotoxinas marinhas presentes em moluscos bivalves, equinodermes, tunicados e gastrópodes marinhos

[notificada com o número C(2002) 1001]

(Texto relevante para efeitos do EEE)

(2002/225/CE)

A COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Europeia,

Tendo em conta a Directiva 91/492/CEE do Conselho, de 15 de Julho de 1991, que estabelece as normas sanitárias que regem a produção e a colocação no mercado de moluscos bivalves vivos [1], com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 97/79/CE [2], e, nomeadamente, os pontos 3 e 5 do capítulo V do seu anexo,

Considerando o seguinte:

(1) O ponto 7 do capítulo V do anexo à Directiva 91/492/CEE prevê que os métodos de análise biológica habituais não devem produzir reacção positiva no que se refere à presença de toxinas diarreicas dos crustáceos e moluscos (Diarrhetic Shellfish Poisoning — DSP) nas partes comestíveis dos moluscos (corpo inteiro ou qualquer parte consumível separadamente).

(2) Está cientificamente provado que determinadas biotoxinas marinhas como as do complexo das DSP «Diarrheic Shellfish Poison» [ácido ocadaico (OA) e «dinophysistoxinas» (DTX)] bem como as Yessotoxinas (YTX), as pectenotoxinas (PTX) e os *azaspiracids* (AZA), representam um perigo importante para a saúde humana quando presentes acima de determinados limites nos moluscos bivalves, equinodermes, tunicados ou gastrópodes marinhos.

(3) À luz de estudos científicos recentes, é agora possível definir níveis máximos e métodos de análise para aquelas biotoxinas.

(4) Os níveis máximos e os métodos de análise deverão ser harmonizados e aplicados pelos Estados-Membros no sentido de proteger a saúde humana.

(5) Além dos métodos de ensaio biológicos, deverão ser aceites métodos de detecção alternativos, tais como métodos químicos e ensaios *in vitro*, caso se demonstre que a realização dos métodos seleccionados não é menos eficaz do que os métodos biológicos e que a sua aplicação fornece um nível equivalente de protecção da saúde pública.

(6) Os limites máximos propostos têm por base dados provisórios e deverão ser novamente avaliados quando se encontrarem disponíveis novos dados científicos.

(7) As medidas previstas na presente decisão estão em conformidade com o parecer do Comité Veterinário Permanente,

ADOPTOU A PRESENTE DECISÃO:

Artigo 1.º

A presente decisão define os níveis máximos de biotoxinas marinhas do complexo das DSP (Ácido Ocadaico e Dinophysistoxinas), de

(1) JO L 268 de 24.9.1991, p. 1.
(2) JO L 24 de 30.1.1998, p. 31.

▼B

yessotoxinas, pectenotoxinas e *azaspiracids*, bem como os e os métodos de análise a utilizar na respectiva detecção. Aplica-se a moluscos bivalves, equinodermes, tunicados e gastrópodes marinhos destinados ao consumo humano imediato ou a outras transformações antes do consumo.

Artigo 2.º

O nível máximo conjunto de ácido ocadaico, dinophysistoxinas e pectenotoxinas presente nos animais referidos no artigo 1.º (corpo inteiro ou qualquer parte comestível separadamente) deverá ser de 160 µg de equivalentes do ácido ocadaico/Kg. Os métodos de análise são definidos no anexo.

Artigo 3.º

O nível máximo de yessotoxinas presente nos animais referidos no artigo 1.º (corpo inteiro ou qualquer parte comestível separadamente) deverá ser de 1 mg de equivalentes de yessotoxina/kg. Os métodos de análise são definidos no anexo.

Artigo 4.º

O nível máximo de *azaspiracids* presente nos animais referidos no artigo 1.º (corpo inteiro ou qualquer parte comestível separadamente) deverá ser de 160 µg de equivalentes de *azaspiracids*/kg. Os métodos de análise são definidos no anexo.

Artigo 5.º

Sempre que os resultados das análises efectuadas revelarem discrepâncias entre os diferentes métodos, deverá considerar-se como método de referência o bioensaio em ratos.

Artigo 6.º

Os Estados-Membros são os destinatários da presente decisão.

▼B

ANEXO

MÉTODOS DE DETECÇÃO

Métodos biológicos

Poderá ser utilizado na detecção das toxinas mencionadas no artigo 1.º, um conjunto de procedimentos de bioensaio em ratos diferindo na parte submetida a teste (hepato-pâncreas ou corpo inteiro) e nos solventes utilizados na extracção e nas fases de purificação. A sensibilidade e a selectividade dependem da escolha dos solventes utilizados na extracção e nas fases de purificação, o que deverá ser tido em consideração ao decidir sobre o método a utilizar, por forma a abranger todo o conjunto de toxinas.

Na detecção de ácido ocadaico, dinophysistoxinas, pectenotoxinas e yessotoxinas poderá ser utilizado um único bioensaio em ratos que envolva extracção com acetona. Este ensaio poderá ser complementado, se necessário, com etapas de partição líquido-líquido com acetato de etilo/água ou diclorometano/água por forma a remover potenciais interferentes. A detecção dos níveis regulamentares dos *azaspiracids* através deste procedimento requer a utilização do corpo inteiro como parte a ser submetida a teste.

Deverão ser utilizados três ratos para cada teste. A morte de dois dos três ratos num prazo de 24 horas após a inoculação em cada um deles de um extracto equivalente a 5 g de hepato-pâncreas ou a 25 g de corpo inteiro, deverá ser considerada como um resultado positivo à presença de uma ou mais das toxinas mencionadas no artigo 1.º a níveis superiores aos estabelecidos nos artigos 2.º, 3.º e 4.º

►C1 Poderá ser utilizado para a detecção de ácido ocadaico, dinophysistoxinas, pectenotoxinas e azaspiracids um bioensaiso ◄ em ratos com extracção com acetona seguido de uma partição líquido/líquido com éter dietílico mas este não poderá ser utilizado para a detecção de yessotoxinas e *azaspiracids* uma vez que se poderão verificar perdas destas toxinas durante a fase de partição. Deverão ser utilizados três ratos para cada teste. A morte de dois dos três ratos num prazo de 24 horas após a inoculação em cada um deles de um extracto equivalente a 5 g de hepato-pâncreas ou a 25 g de corpo inteiro, deverá ser considerada como um resultado positivo à presença de ácido ocadaico, ►C1 dinophysistoxinas, pectenotoxinas e azaspiracids a níveis superiores aos estabelecidos nos artigos 2.º e 4.º ◄

O bioensaio em ratazanas pode detectar ácido ocadaico, finophysistoxinas e *azaspiracids*. Deverão ser utilizadas três ratazanas para cada teste. Uma reacção diarreica em qualquer uma das três ratazanas é considerada como um resultado positivo à presença de ácido ocadaico, dinophysistoxinas e *azaspiracids* a níveis superiores aos mencionados nos artigos 2.º e 4.º

Métodos de detecção alternativos

Poderão ser utilizados como métodos alternativos ou complementares aos métodos de teste biológicos um conjunto de métodos como a cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) com detecção fluorimétrica, a cromatografia líquida (CL) — espectrometria de massa (EM), imunoensaios e ensaios funcionais tais como o ensaio de inibição de fosfatase, desde que, individualmente ou combinados, ►C1 estejam em medida de detectar, pelo menos, os seguintes análogos, não sejam menos eficazes que os métodos biológicos e que a sua aplicação garanta um nível equivalente de protecção da saúde pública: ◄

— ácido ocadaico e dinophysistoxinas: poderá ser necessária uma etapa de hidrólise por forma a detectar a presença de DTX3,

— pectenotoxinas: PTX1 e PTX2,

— yessotoxinas: YTX, 45 OH YTX, homo YTX e 45 OH homo YTX,

— *azaspiracids*: AZA1, AZA2 e AZA3.

Caso sejam descobertos novos análogos com repercussões na saúde pública, os mesmos deverão ser incluídos na análise. Terão de se encontrar disponíveis padrões antes de ser possível efectuar análises químicas. A toxicidade total será calculada utilizando factores de conversão com base nos dados sobre toxicidade disponíveis para cada toxina.

As características de desempenho destes métodos deverão ser definidas após validação em conformidade com um protocolo acordado internacionalmente.