PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2022/893

ze dne 7. června 2022,

kterým se mění příloha VI nařízení (ES) č. 152/2009, pokud jde o metody zkoušení pro detekci složek suchozemských bezobratlých pro úřední kontrolu krmiv

(Text s významem pro EHP)

EVROPSKÁ KOMISE,

s ohledem na Smlouvu o fungování Evropské unie,

s ohledem na nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/625 ze dne 15. března 2017 o úředních kontrolách a jiných úředních činnostech prováděných s cílem zajistit uplatňování potravinového a krmivového práva a pravidel týkajících se zdraví zvířat a dobrých životních podmínek zvířat, zdraví rostlin a přípravků na ochranu rostlin, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001, (ES) č. 396/2005, (ES) č. 1069/2009, (ES) č. 1107/2009, (EU) č. 1151/2012, (EU) č. 652/2014, (EU) 2016/429 a (EU) 2016/2031, nařízení Rady (ES) č. 1/2005 a (ES) č. 1099/2009 a směrnic Rady 98/58/ES, 1999/74/ES, 2007/43/ES, 2008/119/ES a 2008/120/ES a o zrušení nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004 a (ES) č. 882/2004, směrnic Rady 89/608/EHS, 89/662/EHS, 90/425/EHS, 91/496/EHS, 96/23/ES, 96/93/ES a 97/78/ES a rozhodnutí Rady 92/438/EHS (nařízení o úředních kontrolách) ([1]), a zejména na čl. 34 odst. 6 první pododstavec písm. a) uvedeného nařízení,

vzhledem k těmto důvodům:

(1) Nařízení Komise (ES) č. 152/2009 ([2]) stanoví zkušební metody používané na podporu úředních kontrol s cílem prosadit zákaz používání zpracovaných živočišných bílkovin v krmivech pro zvířata určená k produkci potravin. Patří sem metody zkoušení pro stanovení složek živočišného původu pro úřední kontrolu krmiv, které jsou popsány v příloze VI uvedeného nařízení a prováděny pomocí světelné mikroskopie nebo polymerázové řetězové reakce (PCR).

(2) Používání zpracovaných živočišných bílkovin získaných z farmově chovaného hmyzu bylo povoleno v krmivech pro živočichy pocházející z akvakultury nařízením Komise (EU) 2017/893 ([3]) a v krmivech pro prasata a drůbež nařízením Komise (EU) 2021/1372 ([4]), je však stále zakázáno nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 ([5]) v některých krmivech, zejména v krmivech pro přežvýkavce.

(3) Referenční laboratoř Evropské unie pro živočišné bílkoviny v krmivech vypracovala a validovala zvláštní protokol, zahrnující dvojitou sedimentaci, zajišťující detekci částic ze suchozemských bezobratlých, včetně hmyzu, jsou-li přítomny v krmných surovinách, krmných směsích a premixech předložených k laboratornímu testování. Uvedený protokol s tímto dodatečným krokem by měl být použit v rámci úředních kontrol s cílem ověřit správné prosazování zákazu používání zpracovaných živočišných bílkovin hmyzu v některých krmivech pro zvířata určená k produkci potravin.

([1]) Úř. věst. L 95, 7.4.2017, s. 1.

([2]) Nařízení Komise (ES) č. 152/2009 ze dne 27. ledna 2009, kterým se stanoví metody odběru vzorků a laboratorního zkoušení pro úřední kontrolu krmiv (Úř. věst. L 54, 26.2.2009, s. 1).

([3]) Nařízení Komise (EU) 2017/893 ze dne 24. května 2017, kterým se mění přílohy I a IV nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 a přílohy X, XIV a XV nařízení Komise (EU) č. 142/2011, pokud jde o ustanovení týkající se zpracovaných živočišných bílkovin (Úř. věst. L 138, 25.5.2017, s. 92).

([4]) Nařízení Komise (EU) 2021/1372 ze dne 17. srpna 2021, kterým se mění příloha IV nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001, pokud jde o zákaz krmení nepřežvýkavých hospodářských zvířat jiných než kožešinových zvířat živočišnými bílkovinami (Úř. věst. L 295, 18.8.2021, s. 1).

([5]) Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 ze dne 22. května 2001 o stanovení pravidel pro prevenci, tlumení a eradikaci některých přenosných spongiformních encefalopatií (Úř. věst. L 147, 31.5.2001, s. 1).

(4) Popis metody světelné mikroskopie stanovené v příloze VI nařízení (ES) č. 152/2009 by proto měl být upraven tak, aby protokol pro přípravu vzorků, které mají být testovány na zjištění složek suchozemských bezobratlých, zahrnoval dvojitou sedimentaci.

(5) Příloha VI nařízení (ES) č. 152/2009 by tudíž měla být odpovídajícím způsobem změněna.

(6) Opatření stanovená tímto nařízením jsou v souladu se stanoviskem Stálého výboru pro rostliny, zvířata, potraviny a krmiva,

PŘIJALA TOTO NAŘÍZENÍ:

Článek 1

Příloha VI nařízení (ES) č. 152/2009 se mění v souladu s přílohou tohoto nařízení.

Článek 2

Toto nařízení vstupuje v platnost dvacátým dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropské unie*.

Toto nařízení je závazné v celém rozsahu a přímo použitelné ve všech členských státech.

V Bruselu dne 7. června 2022.

Za Komisi
předsedkyně
Ursula VON DER LEYEN

PŘÍLOHA

Příloha VI nařízení (ES) č. 152/2009 se mění takto:

1) bod 1 se nahrazuje tímto:

„1. Účel a rozsah

Identifikace složek živočišného původu v krmivech se provádí pomocí světelné mikroskopie nebo polymerázové řetězové reakce podle ustanovení uvedených v této příloze.

Tyto dvě metody umožňují zjistit přítomnost složek živočišného původu v premixech, krmných surovinách a krmných směsích. Neumožňují však výpočet množství takových složek v premixech, krmných surovinách a krmných směsích. Obě metody mají mezní hodnotu detekce nižší než 0,1 % (hmot.).

Metoda polymerázové řetězové reakce umožňuje identifikaci systematické skupiny složek živočišného původu, jež jsou přítomny v premixech, krmných surovinách a krmných směsích.

Tyto metody se použijí ke kontrole uplatňování zákazů, jež jsou stanoveny v čl. 7 odst. 1 a příloze IV nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 (*) a v čl. 11 odst. 1 nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 (**)

V závislosti na druhu zkoušeného krmiva lze tyto metody použít v rámci jednoho operačního protokolu, a to buď jednotlivě, či ve vzájemné kombinaci v souladu se standardními operačními postupy, jež stanovila a na svých internetových stránkách zveřejnila Referenční laboratoř EU pro živočišné proteiny v krmivech (EURL-AP) (***).

(*) Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 ze dne 22. května 2001 o stanovení pravidel pro prevenci, tlumení a eradikaci některých přenosných spongiformních encefalopatií (Úř. věst. L 147, 31.5.2001, s. 1).

(**) Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 ze dne 21. října 2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a o zrušení nařízení (ES) č. 1774/2002 (nařízení o vedlejších produktech živočišného původu) (Úř. věst. L 300, 14.11.2009, s. 1).

(***) https://www.eurl.craw.eu/legal-sources-and-sops/method-of-reference-and-sops/“;

2) bod 2.1 se nahrazuje tímto:

„2.1 **Světelná mikroskopie**

2.1.1. *Princip*

Složky živočišného původu, jež mohou být přítomny v premixech, krmných surovinách a krmných směsích zaslaných k analýze, jsou identifikovány na základě charakteristických, mikroskopicky rozeznatelných znaků, jako jsou např. svalová vlákna a jiné masité částice, chrupavky, kosti, rohy, chlupy, štětiny, fragmenty kutikul bezobratlých, tracheální struktury hmyzu, krevní produkty, kapky mléka, krystaly laktózy, peří, vaječné skořápky, rybí kosti a šupiny.

Mikroskopická vyšetření se provedou po přípravě vzorků sedimentací.

U vzorků se provede sedimentace takto:

a) pro zjištění složek živočišného původu jiných než suchozemských bezobratlých se použije jednoduchá sedimentace s využitím tetrachlorethylenu (TCE), jak je podrobně popsáno v bodě 2.1.3.4.3;

b) pro detekci složek suchozemských bezobratlých se provede dvojitá sedimentace s využitím petroletheru/tetrachlorethylenu (PE/TCE), jak je podrobně popsáno v bodě 2.1.3.4.4.

2.1.2. *Činidla a vybavení*

2.1.2.1. Činidla

2.1.2.1.1 Koncentrační přípravek

— Tetrachlorethylen (hustota 1,62)

— Petrolether (PE) bod varu 40–60 °C (specifická hustota 0,65)

2.1.2.1.2 Činidlo k barvení

— Roztok alizarinové červeně (2,5 ml 1M kyseliny chlorovodíkové se rozpustí ve 100 ml vody a do tohoto roztoku se přidá 200 mg alizarinové červeně).

2.1.2.1.3 Zalévací přípravky

— Louh (NaOH 2,5 % hm./obj. nebo KOH 2,5 % hm./obj.)

— Glycerol (neředěný, viskozita: 1 490 cP) nebo zalévací přípravek s rovnocennými vlastnostmi pro přípravu neustálených podložních mikroskopických sklíček.

— Norland ® Optical Adhesive 65 (viskozita: 1 200 cP) nebo pryskyřice s rovnocennými vlastnostmi pro přípravu ustálených podložních sklíček.

2.1.2.1.4 Barvící zalévací přípravky

— Lugolův roztok (2 g jodidu draselného se rozpustí ve 100 ml vody a přidá se 1 g jódu za častého protřepávání).

— Činidlo na cystin (2 g octanu olovnatého, 10 g NaOH/100 ml vody).

— Fehlingovo činidlo (připravuje se těsně před použitím ze dvou stejně velkých částí (1/1) ze dvou roztoků A a B: roztok A (6,9 g modré skalice se rozpustí ve 100 ml destilované vody); roztok B (34,6 g vinanu sodnodraselného tetrahydrátu a 12 g NaOH se rozpustí ve 100 ml destilované vody).

— Tetramethylbenzidin/peroxid vodíku (1 g 3,3',5,5' tetramethylbenzidinu se rozpustí ve 100 ml ledové kyseliny octové a 150 ml destilované vody. Před použitím je nutno promíchat 4 díly roztoku tetramethylbenzidinu s 1 dílem 3 % peroxidu vodíku).

2.1.2.1.5 Oplachovací činidla

— Ethanol ≥ 96 % (technický)

— Aceton (technický)

2.1.2.1.6 Bělicí činidlo

— Komerční roztok hypochloritu sodného (9 až 14 % aktivního chlóru)

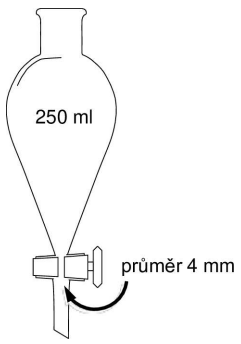
2.1.2.2 Vybavení

— Analytické váhy s přesností 0,001 g

— Rozmělňovací zařízení: nůž nebo rotorový mlýn. Jestliže se používá rotorový mlýn, jsou zakázána mlýnská síta ≤ 0,5 mm.

— Síta se čtvercovými oky v šíři o rozměrech 0,25 mm a 1 mm. S výjimkou předběžného prosévání vzorku nesmí průměr síta překročit 10 cm, aby se zabránilo ztrátě materiálů. Kalibrace síta se nevyžaduje.

— Skleněná kuželovitá dělicí nálevka o objemu 250 ml s teflonovým nebo skleněným zabroušeným kohoutem na spodku kužele. Průřez kohoutu v otevřené poloze je ≥ 4 mm. Namísto skleněné kuželovité dělicí nálevky může být pouze pro jednoduchou sedimentaci s využitím TCE použita usazovací kádinka s kónickým dnem, prokázala-li laboratoř, že hodnoty mezní detekce odpovídají hodnotám získaným za použití skleněné kuželovité dělicí nálevky.



Dělicí nálevka

— Stereoskopický mikroskop umožňující minimálně konečný rozsah zvětšení 6,5× až 40×.

— Kombinovaný mikroskop umožňující minimálně konečný rozsah zvětšení 100× až 400× v jasném poli procházejícího světla. Dále lze použít i polarizační zařízení, diferenciální interferenční kontrast.

— Běžné laboratorní sklo.

— Vybavení pro přípravu podložního sklíčka: běžná mikroskopická sklíčka, děrovaná sklíčka, krycí sklíčka (20×20 mm), pinzety, laboratorní stěrka.

— Laboratorní pec.

— Odstředivka.

— Filtrační papír: filtr z kvalitní buničiny (o rozměru pórů 4–11 μm).

2.1.3 *Odběr a příprava vzorků*

2.1.3.1 Odběr vzorků

Používá se reprezentativní vzorek odebraný v souladu s přílohou I.

2.1.3.1.1. Vysoušení vzorků

Vzorky s obsahem vody > 14 % se před zpracováním vysuší podle přílohy III.

2.1.3.1.2. Předběžné prosévání vzorku

Za účelem shromáždění informací o možné kontaminaci krmiva z okolního prostředí se doporučuje předběžně prosít granulované a jádrové krmivo sítem o velikosti 1 mm, a následně připravit, analyzovat a zvlášť vykazovat dvě vzniklé frakce, jež je třeba považovat za samostatné vzorky.

2.1.3.2 Předběžná opatření

Veškeré vybavení k vícenásobnému použití se před použitím důkladně vyčistí, čímž se zabrání křížové kontaminaci v laboratoři. Před čištěním se rozebere dělicí nálevka na jednotlivé části. Jednotlivé části dělicí nálevky a skleněné vybavení se předem omývají ručně a následně se vloží do mycího zařízení. Síta se čistí kartáčem s tuhými syntetickými štětinami. Po prosívání materiálu s obsahem tuků, jako je např. rybí moučka, se na závěr doporučuje očistit síta acetonem a tlakovým vzduchem.

2.1.3.3 Příprava vzorků obsahujících tuky či oleje

Pro přípravu vzorků obsahujících tuky se použije tento protokol:

— je-li tuk v pevném stavu, ohřívá se v troubě, dokud není kapalný.

— Pomocí pipety se přenese 40 ml tuku ze spodní části vzorku do odstředivkové zkumavky.

— Vzorek se odstřeďuje po dobu 10 minut při 4 000 ot./min.

— Pokud tuk po odstřeďování ztuhl, znovu se ohřeje v troubě, dokud není kapalný.

— Opakuje se odstřeďování po dobu 5 minut při 4 000 ot./min.

— Pomocí laboratorní lžičky či tyčinky se polovina dekantovaných nečistot přenese na mikroskopická sklíčka za účelem rozboru. Doporučuje se použít glycerol coby zalévací přípravek.

— Zbylé nečistoty se použijí pro přípravu sedimentu podle bodu 2.1.3.4.3 první odrážky.

Stejný protokol, s výjimkou první a čtvrté odrážky, se použije pro přípravu vzorků obsahujících olej.

2.1.3.4 Příprava jiných vzorků, než jsou tuky či oleje

2.1.3.4.1. Dílčí vzorkování a mletí: z alespoň 50 g vzorku se připraví dílčí vzorky za účelem provedení analýzy a následně se rozemelou.

2.1.3.4.2. Příprava suroviny: připraví se navážka nejméně 5 g rozemletého dílčího vzorku. Je třeba jej prosít sítem o velikosti 0,25 mm, přičemž budou analyzovány tyto dvě vzniklé frakce.

2.1.3.4.3. Jednoduchá sedimentace s využitím TCE pro zjištění složek živočišného původu jiných než suchozemských bezobratlých.

— Extrakce a příprava sedimentu:

Do dělicí nálevky nebo do usazovací kádinky s kónickým dnem se přenese navážka 10 g (s přesností na 0,01 g) rozemletého dílčího vzorku a přidá se 50 ml TCE. V případě rybí moučky nebo jiných výrobků čistě živočišného původu, minerálních složek či premixů, jež vytvářejí více než 10 % sedimentu, se navážka do dělicí nálevky sníží na 3 g. Směs se důkladně protřepává po dobu alespoň 30 s a v průběhu oplachování vnitřního povrchu dělicí nálevky za účelem odstranění jakýchkoli přilnutých pevných částic se opatrně přidává dalších 50 ml TCE. Vzniklá směs se ponechá ustát po dobu alespoň pěti minut, než je otevřením kohoutu oddělen sediment.

Je-li použita usazovací kádinka s kónickým dnem, musí být směs důkladně promíchávána alespoň po dobu 15 s a veškeré pevné částice, jež přilnou na stěně usazovací kádinky, je nutné z vnitřního povrchu opatrně opláchnout alespoň 10 ml TCE. Směs se ponechá ustát alespoň po dobu tří minut a následně se opět promíchá po dobu 15 s a veškeré pevné částice, jež přilnou na stěny usazovací kádinky, je nutné z vnitřního povrchu opatrně opláchnout alespoň 10 ml TCE. Vzniklá směs se ponechá ustát minimálně po dobu pěti minut a následně se pomocí dekantace tekutá frakce opatrně odstraní a vylije, přičemž se dbá na to, aby nedošlo k vylití sedimentu.

Sediment se zachytí na filtrační papír umístěný do nálevky, aby bylo možné oddělit zbývající TCE a zároveň se vyhnout ukládání tuku do sedimentu. Sediment se vysuší. Pro kontrolu sedimentace se doporučuje sediment následně zvážit (s přesností na 0,001 g). Nakonec se sediment proseje sítem o velikosti 0,25 mm, přičemž budou analyzovány tyto dvě vzniklé frakce, ledaže by prosévání nebylo považováno za nutné.

— Extrakce a příprava flotátu:

Po izolaci sedimentu podle výše popsané metody v dělicí nálevce zůstanou dvě fáze: tekutá, kterou tvoří TCE, a pevná z vrstvy plovoucího materiálu. Pevnou složkou je flotát, který je nutno odebrat tak, že se z nálevky otevřením výpustního kohoutu zcela vypustí TCE. Obrácením dělicí nálevky se flotát přemístí na velkou Petriho misku a vysuší vzduchem v laboratorní digestoři. Je třeba jej prosít sítem o velikosti 0,25 mm, přičemž budou analyzovány tyto dvě vzniklé frakce.

— Použití činidel k barvení:

Osoba provádějící analýzu může pro usnadnění správné identifikace složek živočišného původu použít při přípravě vzorků činidla k barvení v souladu s pokyny, jež stanovila a na svých internetových stránkách zveřejnila Referenční laboratoř EU pro živočišné proteiny v krmivech (EURL-AP).

Je-li k obarvení sedimentu použit roztok alizarinové červeně, použije se tento protokol:

— Vysušený sediment se přemístí do skleněné zkumavky a dvakrát vypláchne asi 5 ml ethanolu (vždy se použije po dobu 30 s ponorný mixér, rozpouštědlo se nechá usadit po dobu 1 min. 30 s a odlije se).

— Sediment se vybělí přidáním nejméně 1 ml roztoku hypochloritu sodného. Umožní se průběh reakce po dobu 10 minut. Zkumavka se naplní vodou, sediment se nechá po dobu dvou až tří minut usadit a voda se suspendovanými částicemi se opatrně odlije.

— Sediment se dvakrát přelije 10 ml destilované vody (vždy se použije po dobu 30 s ponorný mixér, směs se nechá pokaždé usadit a odlije se destilovaná voda).

— Přidá se 2 až 10 kapek roztoku alizarinové červeně a směs se za použití ponorného mixéru rozmixuje. Reakce se ponechá probíhat po dobu 30 s a obarvený sediment se dvakrát vypláchne asi 5 ml ethanolu a následně jedenkrát acetonem (vždy se použije po dobu 30 s ponorný mixér, rozpouštědlo se nechá usadit po dobu 1 min. a odlije se).

— Obarvený sediment se vysuší.

2.1.3.4.4. Dvojí sedimentace s využitím PE/TCE pro zjištění složek živočišného původu suchozemských bezobratlých.

Všechny kroky se provedou ve skleněné kuželovité dělicí nálevce o objemu 250 ml, jak je popsáno v bodě 2.1.2.2 čtvrté odrážce.

— Do dělicí nálevky se přenese navážka 10 g (s přesností na 0,01 g) rozemletého dílčího vzorku a podrobí se nejprve jednoduché sedimentaci s využitím TCE, jak je popsáno v bodě 2.1.3.4.3, včetně izolace sedimentu na filtračním papíru umístěném v nálevce. Tento sediment lze použít jako sediment získaný podle bodu 2.1.3.4.3.

— Malý objem TCE vypuštěný spolu se sedimentem se převede do odměrného válce. Otevřením kohoutu dělicí nálevky se musí odměrný válec dále naplnit až do objemu 30 ml TCE. Jakmile je tohoto objemu dosaženo, kohout se uzavře.

— Tento získaný objem TCE se doplní přidáním 30 ml petroletheru s bodem varu 40–60 °C do dělicí nálevky. Obsah dělicí nálevky se důkladně promíchá, aby se získala směs 30 % PE/70 % TCE (o hustotě přibližně 1,26 $g.cm^{-3}$). Materiál se nechá usazovat po dobu 10 minut. Oddělí se dvě nové frakce: druhý sediment a konečný flotát (< 1,26 $g.cm^{-3}$). Druhý sediment se odebere na Petriho misku (nebo filtrační papír umístěný v nálevce) otevřením kohoutu, dokud v dělicí nálevce nezůstane pouze malé množství směsi rozpouštědla a konečný flotát. Zbývající kapalina a konečný flotát se zachytí odděleně na filtrační papír umístěný v nálevce. Stěna dělicí nálevky se opláchne pomocí PE, aby se sebral veškerý materiál z konečného flotátu. Konečný flotát se nechá vysušit. Konečný flotát se proseje sítem o velikosti 0,25 mm, přičemž pro zjištění složek živočišného původu suchozemských bezobratlých budou analyzovány tyto dvě vzniklé frakce, ledaže by prosévání nebylo považováno za nutné.

2.1.4. *Mikroskopické zkoumání*

2.1.4.1 Příprava podložních mikroskopických sklíček

Podložní mikroskopická sklíčka se připraví ze sedimentu a dle úvahy osoby provádějící analýzu rovněž buď z flotátu, nebo suroviny. Je-li to vhodné, připraví se pouze pro zjištění složek živočišného původu suchozemských bezobratlých mikroskopická podložní sklíčka z konečného flotátu získaného podle popisu v bodě 2.1.3.4.4. Připraví se dvě vzniklé frakce (jemná a hrubá). Navážky frakcí nanesené na podložní mikroskopická sklíčka by měly být reprezentativní pro celou frakci.

Za účelem provedení úplného zkušebního protokolu stanoveného v bodě 2.1.4.2 je třeba připravit dostatečný počet podložních sklíček.

Mikroskopická podložní sklíčka se zalijí přiměřeným zalévacím přípravkem v souladu se standardním operačním postupem, jejž stanovila a na svých internetových stránkách zveřejnila Referenční laboratoř EU pro živočišné proteiny v krmivech (EURL-AP). Podložní sklíčka se zakryjí krycími sklíčky.

2.1.4.2 Vývojový diagram pozorování za účelem zjišťování živočišných částic v krmných směsích, krmných surovinách a premixech

Připravená mikroskopická podložní sklíčka se pozorují v souladu s vývojovými diagramy pozorování, jež jsou stanoveny v diagramech č. 1 a 2.

Mikroskopická pozorování se provádí pomocí kombinovaného mikroskopu, přičemž je pozorován sediment a dle úvahy osoby provádějící analýzu rovněž buď flotát, nebo surovina. Pro zjištění složek živočišného původu suchozemských bezobratlých se kromě toho provedou rovněž pozorování konečného flotátu získaného podle popisu v bodě 2.1.3.4.4 v souladu s diagramem 3. Pro hrubší frakce lze kromě kombinovaného mikroskopu použít i stereoskopický mikroskop. Celá plocha mikroskopického podložního sklíčka se prozkoumá při různém zvětšení. Přesné vysvětlení, jak používat vývojové diagramy, podrobně popisuje standardní operační postup, jejž stanovila a na svých internetových stránkách zveřejnila Referenční laboratoř EU pro živočišné proteiny v krmivech (EURL-AP).

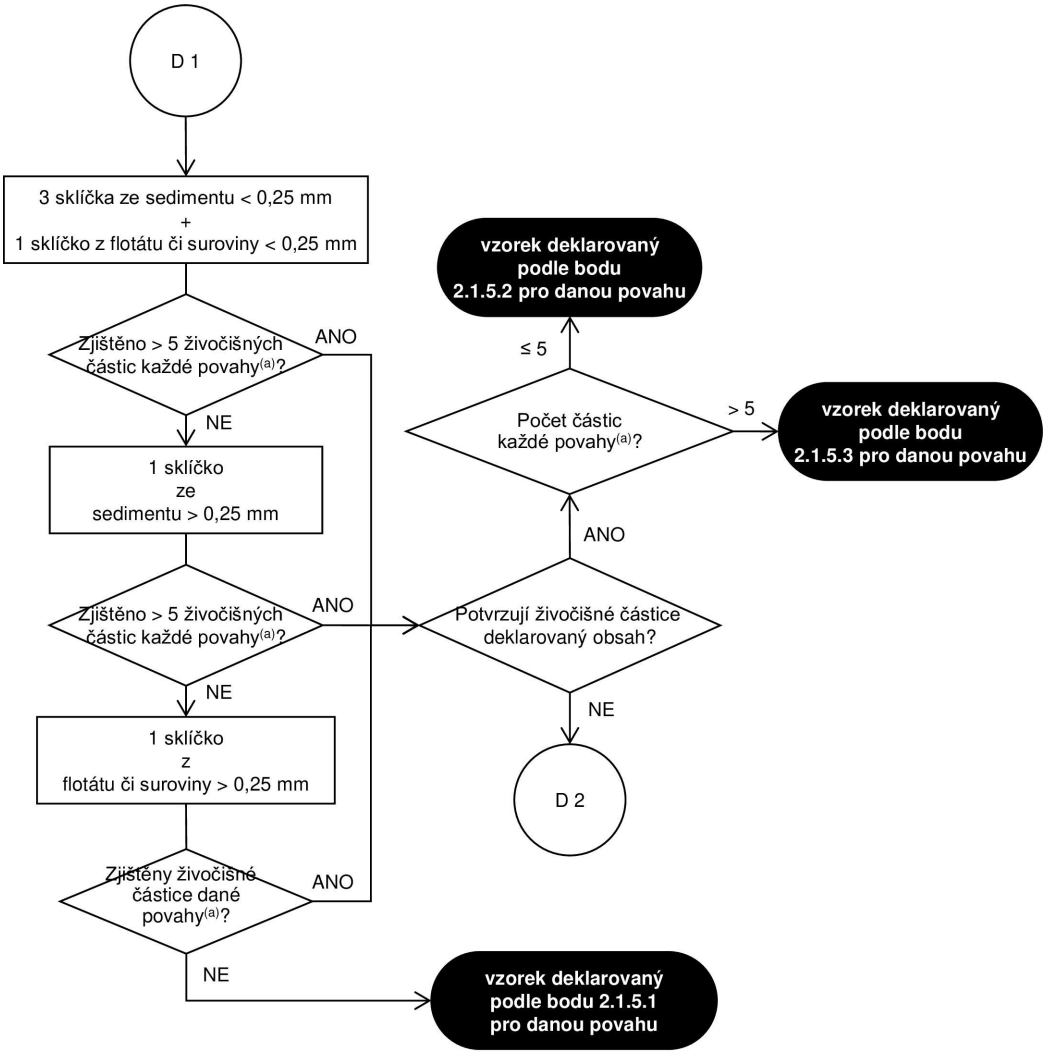
Minimální počet mikroskopických podložních sklíček, jež mají být zkoumána, je třeba důsledně dodržet u každého z kroků vývojových diagramů pozorování s výjimkou případů, kdy celý materiál frakce neumožňuje dosažení stanoveného počtu podložních sklíček, například pokud není získán žádný sediment. Pro záznam počtu částic se provádí pozorování na jednotlivé stanovení s nejvýše 6 podložními sklíčky.

Jsou-li na flotátu nebo na surovině připravována další mikroskopická podložní sklíčka pomocí specifičtějšího barvícího zalévacího přípravku popsaného v bodě 2.1.2.1.4 pro další charakterizaci struktur (např. peří, chlupů, svalových nebo krevních částic), které byly zjištěny na podložních sklíčkách připravených jinými zalévacími přípravky, jak je popsáno v bodě 2.1.2.1.3, počet částic se vypočítá na základě počtu podložních sklíček na jednotlivé stanovení s nejvýše 6 podložními sklíčky, včetně dalších podložních sklíček se specifičtějším zalévacím přípravkem. Další mikroskopická podložní sklíčka připravená z konečného flotátu získaného podle popisu v bodě 2.1.3.4.4 pro zjištění složek živočišného původu suchozemských bezobratlých se neberou v úvahu pro identifikaci jiné povahy (suchozemských obratlovců a ryb).

Osoba provádějící pozorování může za účelem usnadnění identifikace povahy a původu částic využít podpůrných nástrojů, jako jsou např. podpůrné systémy pro rozhodování, knihovny snímků a referenční vzorky.

Diagram 1

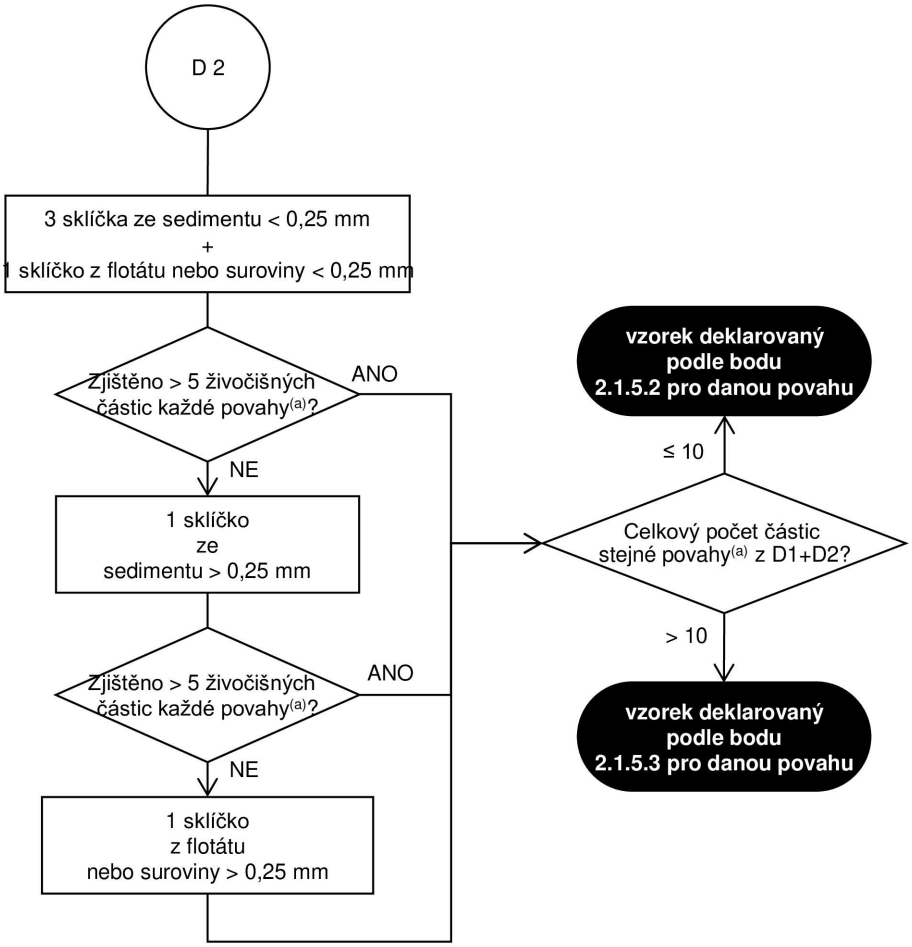
Vývojový diagram pozorování po jednoduché sedimentaci s využitím TCE za účelem zjišťování živočišných částic jiných než ze suchozemských bezobratlých v krmných směsích, krmných surovinách a premixech pro první stanovení



(„D1“ a „D2“ odkazují na první a druhé stanovení; (a): suchozemští obratlovci, ryby)

Diagram 2

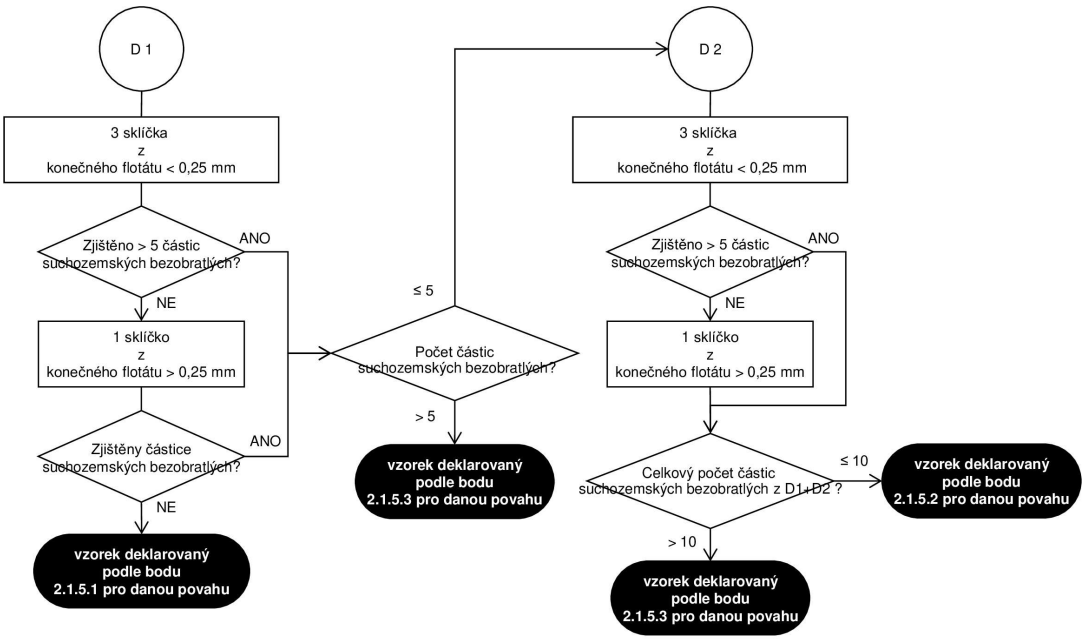
Vývojový diagram pozorování po jednoduché sedimentaci s využitím TCE za účelem zjišťování živočišných částic jiných než ze suchozemských bezobratlých v krmných směsích, krmných surovinách a premixech pro druhé stanovení



(„D1“ a „D2“ odkazují na první a druhé stanovení; (a): suchozemští obratlovci, ryby)

Diagram 3

Vývojový diagram pozorování po dvojí sedimentaci s využitím PE/TCE za účelem zjišťování složek živočišného původu suchozemských bezobratlých v krmných směsích, krmných surovinách a premixech



(„D1“ a „D2“ odkazují na první a druhé stanovení)

2.1.4.3. Počet stanovení

Stanovení se provádějí na různých dílčích vzorcích o hmotnosti 50 g.

Nejsou-li po prvním stanovení, jež bylo provedeno v souladu s vývojovým diagramem pozorování uvedeným v diagramu 1 nebo případně 3, zjištěny žádné živočišné částice, není další stanovení nutné a výsledky analýzy se nahlašují s využitím formulací stanovených v bodě 2.1.5.1.

Je-li po prvním stanovení, jež bylo provedeno v souladu s vývojovým diagramem pozorování uvedeným v diagramu 1, zjištěna jedna nebo více živočišných částic dané povahy (tj. ze suchozemských obratlovců či ryb) a povaha zjištěných částic potvrdí deklarovaný obsah vzorku, není nutné druhé stanovení. Je-li počet živočišných částic dané povahy zjištěný během tohoto prvního stanovení vyšší než 5, podá se o výsledku analýzy zpráva podle živočišné povahy s využitím formulací stanovených v bodě 2.1.5.3. Jinak se o výsledku analýzy podává zpráva podle živočišné povahy s využitím formulací stanovených v bodě 2.1.5.2.

Je-li po prvním stanovení provedeném v souladu s vývojovým diagramem pozorování stanoveným v diagramu 3 zjištěno více než 5 částic suchozemských bezobratlých, není nutné druhé stanovení a o výsledku analýzy se podá zpráva podle živočišné povahy s využitím formulací stanovených v bodě 2.1.5.3.

Ve všech ostatních případech, včetně případů, kdy nebylo laboratoři poskytnuto prohlášení o obsahu, se provede druhé stanovení s novou navážkou dílčího vzorku. Je-li po druhém stanovení provedeném v souladu s vývojovým diagramem pozorování stanoveným v diagramu 2 nebo případně 3 celkový počet živočišných částic dané povahy zjištěný během dvou stanovení vyšší než 10, podá se o výsledku analýzy zpráva podle živočišné povahy s využitím formulací stanovených v bodě 2.1.5.3. Jinak se o výsledku analýzy podává zpráva podle živočišné povahy s využitím formulací stanovených v bodě 2.1.5.2.

2.1.5. *Vyjádření výsledků*

Při nahlašování výsledků uvede laboratoř druh materiálu, na kterém byla analýza provedena (sediment, flotát, konečný flotát, surovina). Při nahlašování musí být jasně uveden počet stanovení, jež byla vykonána, a zda nebylo před přípravou podložního sklíčka provedeno prosévání frakcí v souladu s bodem 2.1.3.4.3 první odrážkou třetím pododstavcem nebo bodem 2.1.3.4.4 třetí odrážkou.

Laboratorní zpráva musí obsahovat přinejmenším informace o přítomnosti složek ze suchozemských obratlovců a z ryb.

Různé nálezy se nahlašují následovně:

2.1.5.1. Nebyla zjištěna žádná částice živočišného původu dané povahy:

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem nebyla v předloženém vzorku zjištěna žádná částice ze suchozemských obratlovců."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem nebyla v předloženém vzorku zjištěna žádná částice z ryb."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem nebyla v předloženém vzorku zjištěna žádná částice ze suchozemských bezobratlých."

2.1.5.2. Bylo zjištěno 1 až 5 živočišných částic dané povahy v případě, že bylo provedeno pouze jedno stanovení, nebo 1 až 10 částic dané povahy v případě dvou stanovení (počet zjištěných částic se nachází pod mezní hodnotou detekce stanovenou ve standardních operačních postupech, jež stanovila a na svých internetových stránkách zveřejnila EURL-AP):

Pokud bylo provedeno pouze jedno stanovení:

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem nebylo v předloženém vzorku zjištěno více než 5 částic ze suchozemských obratlovců. V případě zjištěných částic se jednalo o … [kost, chrupavku, svalové vlákno, chlupy, rohy, jiné (případně upřesněte)]. Tato nízká míra přítomnosti částic se nachází pod mezní hodnotou detekce pro tuto mikroskopickou metodu."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem nebylo v předloženém vzorku zjištěno více než 5 částic z ryb. V případě zjištěných částic se jednalo o … [rybí kosti, šupiny, chrupavku, svalové vlákno, otolit, žábry, jiné (případně upřesněte)]. Tato nízká míra přítomnosti částic se nachází pod mezní hodnotou detekce pro tuto mikroskopickou metodu."

Pokud byla provedena dvě stanovení:

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem nebylo v předloženém vzorku během dvou stanovení zjištěno více než 10 částic ze suchozemských obratlovců. V případě zjištěných částic se jednalo o … [kost, chrupavku, svalové vlákno, chlupy, rohy, jiné (případně upřesněte)]. Tato nízká míra přítomnosti částic se nachází pod mezní hodnotou detekce pro tuto mikroskopickou metodu."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem nebylo v předloženém vzorku během dvou stanovení zjištěno více než 10 částic z ryb. V případě zjištěných částic se jednalo o … [rybí kosti, šupiny, chrupavku, svalové vlákno, otolit, žábry, jiné (případně upřesněte)]. Tato nízká míra přítomnosti částic se nachází pod mezní hodnotou detekce pro tuto mikroskopickou metodu."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem nebylo v předloženém vzorku během dvou stanovení zjištěno více než 10 částic ze suchozemských bezobratlých. V případě zjištěných částic se jednalo o … [fragmenty kutikul, ústní ústrojí, svalová vlákna, tracheální struktury, jiné (případně upřesněte)]. Tato nízká míra přítomnosti částic se nachází pod mezní hodnotou detekce pro tuto mikroskopickou metodu."

Navíc:

— Bylo-li použito předběžné prosívání vzorku, uvádí se v laboratorní zprávě frakce (prosetá frakce, granulová frakce či jádrové krmivo), v níž byly zjištěny živočišné částice, neboť zjištění živočišných částic pouze u prosévané frakce může být ukazatelem kontaminace z okolního prostředí.

— Pokud jsou zjištěny pouze živočišné částice, které nelze zařadit mezi suchozemské obratlovce nebo ryby (např. svalová vlákna), uvede se ve zprávě, že byly zjištěny pouze takové živočišné částice a že nelze vyloučit, že pocházejí ze suchozemských obratlovců.

2.1.5.3. Bylo zjištěno více než 5 živočišných částic dané povahy v případě, že bylo provedeno pouze jedno stanovení, nebo více než 10 částic dané povahy v případě dvou stanovení:

Pokud bylo provedeno pouze jedno stanovení:

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem bylo v předloženém vzorku zjištěno více než 5 částic ze suchozemských obratlovců. V případě zjištěných částic se jednalo o … [kost, chrupavku, svalové vlákno, chlupy, rohy, jiné (případně upřesněte)]."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem bylo v předloženém vzorku zjištěno více než 5 částic z ryb. V případě zjištěných částic se jednalo o … [rybí kosti, šupiny, chrupavku, svalové vlákno, otolit, žábry, jiné (případně upřesněte)]."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem bylo v předloženém vzorku zjištěno více než 5 částic ze suchozemských bezobratlých. V případě zjištěných částic se jednalo o … [fragmenty kutikul, ústní ústrojí, svalová vlákna, tracheální struktury, jiné (případně upřesněte)]."

Pokud byla provedena dvě stanovení:

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem bylo v předloženém vzorku během dvou stanovení zjištěno více než 10 částic ze suchozemských obratlovců. V případě zjištěných částic se jednalo o … [kost, chrupavku, svalové vlákno, chlupy, rohy, jiné (případně upřesněte)]."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem bylo v předloženém vzorku během dvou stanovení zjištěno více než 10 částic z ryb. V případě zjištěných částic se jednalo o … [rybí kosti, šupiny, chrupavku, svalové vlákno, otolit, žábry, jiné (případně upřesněte)]."

— „Na základě mikroskopického zkoumání světelným mikroskopem bylo v předloženém vzorku během dvou stanovení zjištěno více než 10 částic ze suchozemských bezobratlých. V případě zjištěných částic se jednalo o … [fragmenty kutikul, ústní ústrojí, svalová vlákna, tracheální struktury, jiné (případně upřesněte)]."

Navíc:

— Bylo-li použito předběžné prosívání vzorku, uvádí se v laboratorní zprávě frakce (prosetá frakce, granulová frakce či jádrové krmivo), v níž byly zjištěny živočišné částice, neboť zjištění živočišných částic pouze u prosévané frakce může být ukazatelem kontaminace z okolního prostředí.

— Pokud byly zjištěny pouze živočišné částice, které nelze zařadit mezi suchozemské obratlovce nebo ryby (např. svalová vlákna), uvede se ve zprávě, že byly zjištěny pouze takové živočišné částice a že nelze vyloučit, že pocházejí ze suchozemských obratlovců."