DURCHFÜHRUNGSVERORDNUNG (EU) 2022/893 DER KOMMISSION

vom 7. Juni 2022

zur Änderung des Anhangs VI der Verordnung (EG) Nr. 152/2009 hinsichtlich der Analysemethoden zur Bestimmung der Bestandteile wirbelloser Landtiere bei der amtlichen Untersuchung von Futtermitteln

(Text von Bedeutung für den EWR)

DIE EUROPÄISCHE KOMMISSION —

gestützt auf den Vertrag über die Arbeitsweise der Europäischen Union,

gestützt auf die Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. März 2017 über amtliche Kontrollen und andere amtliche Tätigkeiten zur Gewährleistung der Anwendung des Lebens- und Futtermittelrechts und der Vorschriften über Tiergesundheit und Tierschutz, Pflanzengesundheit und Pflanzenschutzmittel, zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 999/2001, (EG) Nr. 396/2005, (EG) Nr. 1069/2009, (EG) Nr. 1107/2009, (EU) Nr. 1151/2012, (EU) Nr. 652/2014, (EU) 2016/429 und (EU) 2016/2031 des Europäischen Parlaments und des Rates, der Verordnungen (EG) Nr. 1/2005 und (EG) Nr. 1099/2009 des Rates sowie der Richtlinien 98/58/EG, 1999/74/EG, 2007/43/EG, 2008/119/EG und 2008/120/EG des Rates und zur Aufhebung der Verordnungen (EG) Nr. 854/2004 und (EG) Nr. 882/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates, der Richtlinien 89/608/EWG, 89/662/EWG, 90/425/EWG, 91/496/EWG, 96/23/EG, 96/93/EG und 97/78/EG des Rates und des Beschlusses 92/438/EWG des Rates (Verordnung über amtliche Kontrollen) ([1]), insbesondere auf Artikel 34 Absatz 6 Unterabsatz 1 Buchstabe a,

in Erwägung nachstehender Gründe:

(1) In der Verordnung (EG) Nr. 152/2009 der Kommission ([2]) sind Testmethoden zur Unterstützung amtlicher Kontrollen zur Durchsetzung des Verbots der Verwendung von verarbeitetem tierischem Protein in Futtermitteln für zur Lebensmittelerzeugung genutzte Tiere festgelegt. Dies schließt Analysemethoden zur Bestimmung von Bestandteilen tierischen Ursprungs bei der amtlichen Untersuchung von Futtermitteln ein, die in Anhang VI der genannten Verordnung beschrieben und mithilfe der Lichtmikroskopie oder der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durchgeführt werden.

(2) Die Verwendung von verarbeitetem tierischem Protein aus Nutzinsekten wurde mit der Verordnung (EU) 2017/893 der Kommission ([3]) in Futtermitteln für Tiere in Aquakultur und mit der Verordnung (EU) 2021/1372 der Kommission ([4]) in Futtermitteln für Schweine und Geflügel zugelassen, doch gemäß der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates ([5]) ist sie in bestimmten Futtermitteln, insbesondere Futtermitteln für Wiederkäuer, nach wie vor verboten.

(3) Das EU-Referenzlabor für tierische Proteine in Futtermitteln hat einen speziellen Untersuchungsablauf, einschließlich einer zweimaligen Sedimentation, entwickelt und validiert, anhand dessen Partikel wirbelloser Landtiere, einschließlich Insekten, in Einzelfuttermitteln, Mischfuttermitteln und Vormischungen nachgewiesen werden können. Der genannte Untersuchungsablauf mit diesem zusätzlichen Schritt sollte im Rahmen der amtlichen Kontrollen befolgt werden, um die ordnungsgemäße Durchsetzung des Verbots der Verwendung von verarbeitetem tierischem Protein aus Insekten in bestimmten Futtermitteln für zur Lebensmittelerzeugung genutzte Tiere zu überprüfen.

([1]) ABl. L 95 vom 7.4.2017, S. 1.

([2]) Verordnung (EG) Nr. 152/2009 der Kommission vom 27. Januar 2009 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln (ABl. L 54 vom 26.2.2009, S. 1).

([3]) Verordnung (EU) 2017/893 der Kommission vom 24. Mai 2017 zur Änderung der Anhänge I und IV der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates sowie der Anhänge X, XIV und XV der Verordnung (EU) Nr. 142/2011 der Kommission in Bezug auf die Bestimmungen über verarbeitetes tierisches Protein (ABl. L 138 vom 25.5.2017, S. 92).

([4]) Verordnung (EU) 2021/1372 der Kommission vom 17. August 2021 zur Änderung des Anhangs IV der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich des Verbots der Fütterung von anderen Nutztieren als Wiederkäuern, ausgenommen Pelztiere, mit tierischem Protein (ABl. L 295 vom 18.8.2021, S. 1).

([5]) Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. Mai 2001 mit Vorschriften zur Verhütung, Kontrolle und Tilgung bestimmter transmissibler spongiformer Enzephalopathien (ABl. L 147 vom 31.5.2001, S. 1).

(4) Die Beschreibung der Lichtmikroskopie-Methode in Anhang VI der Verordnung (EG) Nr. 152/2009 sollte daher so angepasst werden, dass eine zweimalige Sedimentation in den Ablauf zur Vorbereitung der Proben aufgenommen wird, die auf Bestandteile wirbelloser Landtiere untersucht werden sollen.

(5) Anhang VI der Verordnung (EG) Nr. 152/2009 sollte daher entsprechend geändert werden.

(6) Die in dieser Verordnung vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Ausschusses für Pflanzen, Tiere, Lebensmittel und Futtermittel —

HAT FOLGENDE VERORDNUNG ERLASSEN:

Artikel 1

Anhang VI der Verordnung (EG) Nr. 152/2009 wird gemäß dem Anhang der vorliegenden Verordnung geändert.

Artikel 2

Diese Verordnung tritt am zwanzigsten Tag nach ihrer Veröffentlichung im *Amtsblatt der Europäischen Union* in Kraft.

Diese Verordnung ist in allen ihren Teilen verbindlich und gilt unmittelbar in jedem Mitgliedstaat.

Brüssel, den 7. Juni 2022

Für die Kommission
Die Präsidentin
Ursula VON DER LEYEN

ANHANG

Anhang VI der Verordnung (EG) Nr. 152/2009 wird wie folgt geändert:

1. Nummer 1 erhält folgende Fassung:

„1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die Bestimmung von Bestandteilen tierischen Ursprungs in Futtermitteln wird nach den Bestimmungen dieses Anhangs mithilfe der Lichtmikroskopie oder der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vorgenommen.

Mit diesen beiden Methoden können Bestandteile tierischen Ursprungs in Vormischungen, Einzelfuttermitteln und Mischfuttermitteln nachgewiesen werden. Die Berechnung der Menge solcher Bestandteile in Vormischungen, Einzelfuttermitteln und Mischfuttermitteln ist mit ihnen jedoch nicht möglich. Bei beiden Methoden liegt die Nachweisgrenze unter 0,1 % (m/m).

Mit der PCR-Methode lässt sich die taxonomische Gruppe der in Vormischungen, Einzelfuttermitteln und Mischfuttermitteln vorhandenen Bestandteile tierischen Ursprungs ermitteln.

Die Methoden werden eingesetzt, um die Anwendung der Verbote gemäß Artikel 7 Absatz 1 der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates (*), Anhang IV der genannten Verordnung sowie Artikel 11 Absatz 1 der Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates (**) zu überwachen.

Abhängig von der Art des zu untersuchenden Futtermittels können diese Methoden für eine Untersuchung entweder einzeln oder kombiniert nach der Standardarbeitsanweisung (SOP) angewandt werden, die das EU-Referenzlabor für tierische Proteine in Futtermitteln (EURL-AP) erstellt und auf seiner Website (***) veröffentlicht hat.

_____

(*) Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. Mai 2001 mit Vorschriften zur Verhütung, Kontrolle und Tilgung bestimmter transmissibler spongiformer Enzephalopathien (ABl. L 147 vom 31.5.2001, S. 1).

(**) Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 (Verordnung über tierische Nebenprodukte) (ABl. L 300 vom 14.11.2009, S. 1).

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

2. Nummer 2.1 erhält folgende Fassung:

„2.1. **Lichtmikroskopie**

2.1.1. *Grundsatz*

Die Bestandteile tierischen Ursprungs, die in zur Analyse versandten Vormischungen, Einzelfuttermitteln und Mischfuttermitteln vorhanden sein können, werden anhand charakteristischer und mikroskopisch erkennbarer Merkmale, zum Beispiel Muskelfasern und andere Fleischpartikel, Knorpel, Knochen, Horn, Haare, Borsten, kutikuläre Fragmente von Wirbellosen, tracheale Strukturen von Insekten, Blutprodukte, Milchkügelchen, Laktosekristalle, Federn, Eierschalen, Gräten und Schuppen identifiziert.

Mikroskopische Untersuchungen werden nach Vorbereitung der Proben mittels Sedimentation durchgeführt.

Die Proben durchlaufen eine Sedimentationsphase wie folgt:

a) zum Nachweis anderer Bestandteile tierischen Ursprungs als von wirbellosen Landtieren: eine einmalige Sedimentation mit Tetrachlorethylen (TCE) gemäß der Beschreibung unter Nummer 2.1.3.4.3;

b) zum Nachweis von Bestandteilen wirbelloser Landtiere: eine zweimalige Sedimentation mit Petrolether/Tetrachlorethylen (PE/TCE) gemäß der Beschreibung unter Nummer 2.1.3.4.4.

2.1.2. *Reagenzien und Geräte*

2.1.2.1. Reagenzien

2.1.2.1.1. Konzentrationsmittel

— Tetrachlorethylen (Dichte 1,62).

— Petrolether (PE), Siedepunkt 40-60 °C (Dichte 0,65)

2.1.2.1.2. Nachweisreagenz

— Alizarinrot-Lösung (2,5 ml 1 M Salzsäure in 100 ml Wasser lösen und dieser Lösung 200 mg Alizarinrot zufügen)

2.1.2.1.3. Einbettungsmedien

— Lauge (NaOH, Massenkonzentration = 2,5 %, oder KOH, Massenkonzentration = 2,5 %)

— Glycerin (unverdünnt, Viskosität: 1 490 cP) oder ein Einbettungsmedium mit gleichwertigen Eigenschaften für Nicht-Dauerpräparate

— Norland ® Optical Adhesive 65 (Viskosität: 1 200 cP) oder ein Harz mit gleichwertigen Eigenschaften für Dauerpräparate

2.1.2.1.4. Färbende Einbettungsmedien

— Lugolsche Lösung (2 g Kaliumiodid in 100 ml Wasser lösen und unter häufigem Schütteln 1 g Iod zufügen)

— Cystin-Reagenz (2 g Bleiacetat, 10 g NaOH/100 ml Wasser)

— Fehlingsche Lösung (vor Gebrauch aus äquivalenten Teilen zweier Stammlösungen A und B zubereitet. Lösung A: 6,9 g Kupfer(II)-sulfatpentahydrat in 100 ml Wasser lösen. Lösung B: 34,6 g Kaliumnatriumtartrat-Tetrahydrat und 12 g NaOH in 100 ml Wasser lösen)

— Tetramethylbenzidin/Wasserstoffperoxid (1 g 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) in 100 ml Eisessig und 150 ml Wasser lösen. Vor Gebrauch 4 Teile dieser TMB-Lösung mit 1 Teil 3%igem Wasserstoffperoxid mischen)

2.1.2.1.5. Spülmittel

— Ethanol ≥ 96 % (technische Qualität)

— Aceton (technische Qualität)

2.1.2.1.6. Bleichmittel

— Handelsübliche Natriumhypochlorit-Lösung (9-14 % aktives Chlor)

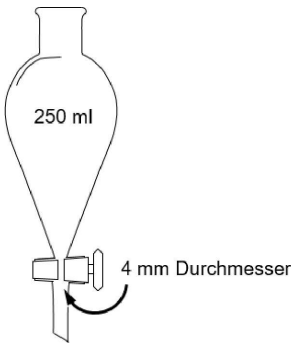
2.1.2.2. Geräte

— Analysenwaage mit einer Genauigkeit von 0,001 g

— Zerkleinerungsgeräte: Messer oder Rotormühle. Wird eine Rotormühle verwendet, so sind Siebe von ≤ 0,5 mm verboten.

— Siebe mit rechteckigen Maschen von 0,25 und 1 mm Weite. Außer für das Vorsieben der Proben darf der Durchmesser der Siebe höchstens 10 cm betragen, um Materialverluste zu vermeiden. Die Kalibrierung der Siebe ist nicht erforderlich.

— Gläserner Scheidetrichter von 250 ml mit konischem Boden, unten verschlossen mit einem Absperrhahn aus Teflon oder Schliffglas. Öffnung im Absperrhahn ≥ 4 mm Durchmesser. Alternativ kann — nur für eine einmalige Sedimentation mit TCE — auch ein Absetzbecher mit konischem Boden verwendet werden, wenn das Labor bewiesen hat, dass die Nachweisgrenzen denjenigen bei Verwendung des Scheidetrichters gleichwertig sind.



Scheidetrichter

— Stereo-Auflicht-Mikroskop mit mindestens 6,5- bis 40-facher Vergrößerung

— Zusammengesetztes Mikroskop mit mindestens 100- bis 400-facher Vergrößerung, mit Hellfeld-Durchlicht. Zusätzlich können auch Verfahren mit polarisiertem Licht und Differenzial-Interferenzkontrast eingesetzt werden.

— Standardmäßige Laborglasausrüstung

— Ausrüstung für die Objektträgervorbereitung: herkömmliche Objektträger, Hohlschliff-Objektträger, Deckgläser (20 × 20 mm), Pinzette, feiner Spatel

— Laborofen

— Zentrifuge

— Filterpapier: qualitativer Zellulosefilter (Porengröße 4-11 µm)

2.1.3. *Probenahme und Probenvorbereitung*

2.1.3.1. Probenahme

Untersucht wird eine repräsentative Probe, die gemäß Anhang I entnommen wurde.

2.1.3.1.1. Trocknung der Proben

Proben mit einem Feuchtigkeitsgehalt > 14 % werden vor Gebrauch gemäß Anhang III getrocknet.

2.1.3.1.2. Vorsieben der Proben

Um Informationen über eine mögliche Verunreinigung der Futtermittel durch die Umwelt (Umweltkontamination) zu erhalten, wird empfohlen, pelletierte Futtermittel und Kerne bis zu einer Größe von 1 mm vorzusieben und die beiden Fraktionen, die als unterschiedliche Proben zu betrachten sind, dann getrennt zu präparieren, zu untersuchen und zu melden.

2.1.3.2. Vorsichtsmaßnahmen

Um eine Kreuzkontamination im Labor zu vermeiden, sind sämtliche wiederverwendbaren Geräte vor Gebrauch sorgfältig zu reinigen. Scheidetrichter werden vor dem Reinigen in ihre Einzelteile zerlegt. Glas- und sonstige Teile der Scheidetrichter werden von Hand vorgewaschen und dann in der Spülmaschine gewaschen. Siebe sind mit einer Bürste mit steifen Synthetikborsten zu reinigen. Nach dem Sieben von fetthaltigem Material wie Fischmehl ist eine abschließende Reinigung der Siebe mit Aceton und Druckluft zu empfehlen.

2.1.3.3. Vorbereitung von Proben aus Fett oder Öl

Für die Vorbereitung von Proben aus Fett gilt folgender Ablauf:

— Handelt es sich um festes Fett, so wird es in einem Ofen erhitzt, bis es flüssig ist;

— der Probe werden mittels einer Pipette am Boden 40 ml Fett entnommen und in ein Zentrifugenröhrchen gegeben;

— die Probe wird 10 Minuten bei 4 000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert;

— ist das Fett nach dem Zentrifugieren fest, so wird es in einem Ofen erhitzt, bis es flüssig ist;

— die Probe wird erneut 5 Minuten bei 4 000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert;

— mithilfe eines kleinen Löffels oder eines Spatels wird eine Hälfte der abgegossenen Verunreinigungen zur mikroskopischen Untersuchung auf Objektträger aufgebracht; als Einbettungsmedium wird Glycerin empfohlen;

— der Rest der Verunreinigungen wird zur Vorbereitung des Sediments nach der Beschreibung unter Nummer 2.1.3.4.3, erster Gedankenstrich, verwendet.

Derselbe Untersuchungsablauf — mit Ausnahme des ersten und des vierten Gedankenstrichs — ist bei der Vorbereitung von Proben aus Öl zu befolgen.

2.1.3.4. Vorbereitung anderer Proben als Fett oder Öl

2.1.3.4.1. Herstellung von Teilproben und Zerkleinern: Von mindestens 50 g der Probe werden Teilproben für die Untersuchung hergestellt und anschließend zerkleinert.

2.1.3.4.2. Vorbereitung von Ausgangsmaterial: Eine Menge von mindestens 5 g der zerkleinerten Teilprobe ist zu präparieren. Das Material wird auf eine Partikelgröße von 0,25 mm heruntergesiebt; beide Fraktionen werden untersucht.

2.1.3.4.3. Einmalige Sedimentation mit TCE zum Nachweis anderer Bestandteile tierischen Ursprungs als von wirbellosen Landtieren.

— Extraktion und Vorbereitung des Sediments:

10 g (bis auf 0,01 g genau) der zerkleinerten Teilprobe werden in den Scheidetrichter bzw. Absetzbecher mit konischem Boden gegeben und mit 50 ml TCE ergänzt. Bei Fischmehl oder anderen reinen tierischen Erzeugnissen, mineralischen Zutaten oder Vormischungen mit mehr als 10 % Sediment wird nur eine Menge von 3 g in den Trichter gegeben. Das Gemisch mindestens 30 s lang kräftig schütteln; dann vorsichtig mindestens 50 ml TCE hinzugeben, wobei darauf zu achten ist, dass von der Innenwand des Trichters sämtliche anhaftenden Partikel abgespült werden. Die entstandene Lösung mindestens 5 min stehen lassen und dann das Sediment durch Öffnen des Absperrhahns abscheiden.

Bei Gebrauch eines Absetzbechers mit konischem Boden das Gemisch mindestens 15 s kräftig schütteln; an der Innenseite des Bechers haftende Partikel mit mindestens 10 ml reinem TCE sorgfältig in das Gefäß hineinspülen. Die Lösung 3 min stehen lassen und wieder 15 s schütteln; noch an der Innenseite des Bechers haftende Partikel mit mindestens 10 ml reinem TCE sorgfältig hineinspülen. Die entstandene Lösung mindestens 5 min stehen lassen; dann die flüssige Fraktion durch vorsichtiges Abgießen trennen und beseitigen, wobei das Sediment vollständig erhalten bleiben muss.

Das Sediment wird auf einem in einen Trichter eingelegten Filterpapier aufgefangen, damit das verbleibende TCE getrennt werden kann, ohne dass sich Fett in das Sediment ablagert. Das Sediment wird getrocknet. Es wird empfohlen, das Sediment anschließend (auf 0,001 g genau) auszuwiegen, um die Sedimentationsphase zu kontrollieren. Schließlich wird das Sediment auf eine Partikelgröße von 0,25 mm heruntergesiebt und beide Fraktionen werden untersucht, es sei denn, das Sieben wird nicht für notwendig erachtet.

— Extraktion und Vorbereitung des Flotats:

Nach Erhalt des Sediments mit der oben beschriebenen Methode müssen zwei Phasen im Scheidetrichter verbleiben: eine aus TCE bestehende flüssige Phase und eine aus aufschwimmendem Material bestehende feste Phase. Diese feste Phase ist das Flotat, das gewonnen wird, indem man das TCE durch Öffnen des Absperrhahns vollständig ablaufen lässt. Das Flotat wird aus dem Scheidetrichter in eine große Petrischale gekippt und im Abzug luftgetrocknet. Es wird auf eine Partikelgröße von 0,25 mm heruntergesiebt, und beide Fraktionen werden untersucht.

— Gebrauch von Nachweisreagenzien:

Zur korrekten Bestimmung der Bestandteile tierischen Ursprungs kann der Untersuchende bei der Probenvorbereitung Färbereagenzien verwenden, wie vom EURL-AP in den auf seiner Website veröffentlichten Leitlinien beschrieben.

Bei Verwendung von Alizarinrot-Lösung zum Färben des Sediments gilt folgender Ablauf:

— Das getrocknete Sediment in ein Reagenzglas füllen und 2-mal mit etwa 5 ml Ethanol spülen (jedes Mal 30 s durchmischen, nach etwa 1 min 30 s Absetzzeit wird das Lösungsmittel abgegossen).

— Das Sediment durch Zusatz von mindestens 1 ml Natriumhypochloritlösung bleichen. 10 min reagieren lassen. Danach das Reagenzglas mit Wasser füllen, nach einer Absetzzeit des Sediments von 2-3 min das Wasser und die suspendierten Partikel vorsichtig abschütten.

— Das Sediment noch 2-mal mit etwa 10 ml Wasser spülen (30 s durchmischen, absetzen lassen und das Wasser jedes Mal abgießen).

— 2 bis 10 Tropfen Alizarinrot-Lösung hinzugeben und durchmischen. 30 s reagieren lassen, dann das gefärbte Sediment 2-mal mit etwa 5 ml Ethanol und einmal mit Aceton spülen (jedes Mal 30 s durchmischen, die Lösung etwa 1 min absetzen lassen und abgießen).

— Das gefärbte Sediment trocknen.

2.1.3.4.4. Zweimalige Sedimentation mit PE/TCE zum Nachweis von Bestandteilen wirbelloser Landtiere

Alle Phasen müssen in einem gläsernen Scheidetrichter von 250 ml mit konischem Boden stattfinden, wie unter Nummer 2.1.2.2 vierter Gedankenstrich beschrieben.

— 10 g (bis auf 0,01 g genau) der zerkleinerten Teilprobe werden in den Scheidetrichter gegeben und zunächst einer einmaligen Sedimentation mit TCE gemäß der Beschreibung unter Nummer 2.1.3.4.3 unterzogen; das Sediment wird auf einem auf einen Trichter gelegten Filterpapier aufgefangen. Dieses Sediment kann so verwendet werden wie das gemäß der Beschreibung unter Nummer 2.1.3.4.3 gewonnene Sediment.

— Die zusammen mit dem Sediment abgeschiedene geringe Menge an TCE wird in einen Messzylinder gegeben. Durch Öffnen des Absperrhahns des Scheidetrichters muss der Messzylinder weiter gefüllt werden, bis eine Menge von 30 ml TCE erreicht ist. Nach Erreichen dieser Menge wird der Absperrhahn geschlossen.

— Diese TCE-Menge wird durch Zugabe von 30 ml Petrolether, Siedepunkt 40-60 °C, in den Scheidetrichter ergänzt. Der Inhalt des Scheidetrichters wird gründlich gemischt, um ein Gemisch von 30 % PE/70 % TCE (mit einer Dichte von etwa 1,26 g/cm^{-3}) zu erhalten. 10 min absetzen lassen. Es entstehen zwei neue Fraktionen: ein zweites Sediment und ein endgültiges Flotat (< 1,26 g/cm^{-3}). Das zweite Sediment wird in einer Petrischale (oder auf einem auf einen Trichter gelegten Filterpapier) aufgefangen, indem der Absperrhahn geöffnet wird, bis nur noch eine geringe Menge des Lösungsgemischs und das endgültige Flotat im Scheidetrichter verbleiben. Die übrige Flüssigkeit und das endgültige Flotat sind getrennt auf einem auf einen Trichter gelegten Filterpapier aufzufangen. Die Innenwand des Scheidetrichters wird mit PE abgespült, um das gesamte Material aus dem endgültigen Flotat aufzufangen. Das endgültige Flotat trocknen lassen. Anschließend wird das endgültige Flotat auf eine Partikelgröße von 0,25 mm heruntergesiebt und beide Fraktionen werden im Hinblick auf den Nachweis von Bestandteilen wirbelloser Landtiere untersucht, es sei denn, das Sieben wird nicht für notwendig erachtet.

2.1.4. *Mikroskopische Untersuchung*

2.1.4.1. Vorbereitung der Objektträger

Von dem Sediment und, je nach Präferenz des Untersuchenden, von dem Flotat oder dem Ausgangsmaterial werden Objektträger präpariert. Gegebenenfalls sind — ausschließlich zum Nachweis von Bestandteilen wirbelloser Landtiere — auch Objektträger von dem gemäß der Beschreibung unter Nummer 2.1.3.4.4 gewonnenen endgültigen Flotat zu präparieren. Die beiden entstandenen Fraktionen (fein und grob) werden präpariert. Die zur Untersuchung auf die Träger gestrichenen Teile der Fraktionen sind repräsentativ für die gesamte Fraktion.

Die Zahl der präparierten Träger muss ausreichen, damit ein kompletter Untersuchungsablauf nach Nummer 2.1.4.2 ausgeführt werden kann.

Die Objektträger werden nach der vom EURL-AP ausgearbeiteten und auf seiner Website veröffentlichten SOP mit dem passenden Einbettungsmedium eingedeckt. Auf den Trägern werden Deckgläser platziert.

2.1.4.2. Untersuchungsablaufplan für den Nachweis tierischer Partikel in Mischfuttermitteln, Einzelfuttermitteln und Vormischungen

Die präparierten Objektträger werden gemäß den Untersuchungsablaufplänen in den Abbildungen 1 und 2 untersucht.

Die mikroskopische Untersuchung des Sediments und, je nach Präferenz des Untersuchenden, des Flotats oder des Ausgangsmaterials wird mit dem zusammengesetzten Mikroskop durchgeführt. Im Fall des Nachweises von Bestandteilen wirbelloser Landtiere sind zusätzlich mikroskopische Untersuchungen des gemäß der Beschreibung unter Nummer 2.1.3.4.4 entsprechend Abbildung 3 gewonnenen endgültigen Flotats durchzuführen. Für die groben Fraktionen kann zusätzlich auch ein Stereomikroskop verwendet werden. Jedes Präparat wird mit unterschiedlicher Vergrößerung vollständig abgesucht. Genaue Erläuterungen zur Verwendung der Ablaufpläne sind in einer SOP enthalten, die das EURL-AP erstellt und auf seiner Website veröffentlicht hat.

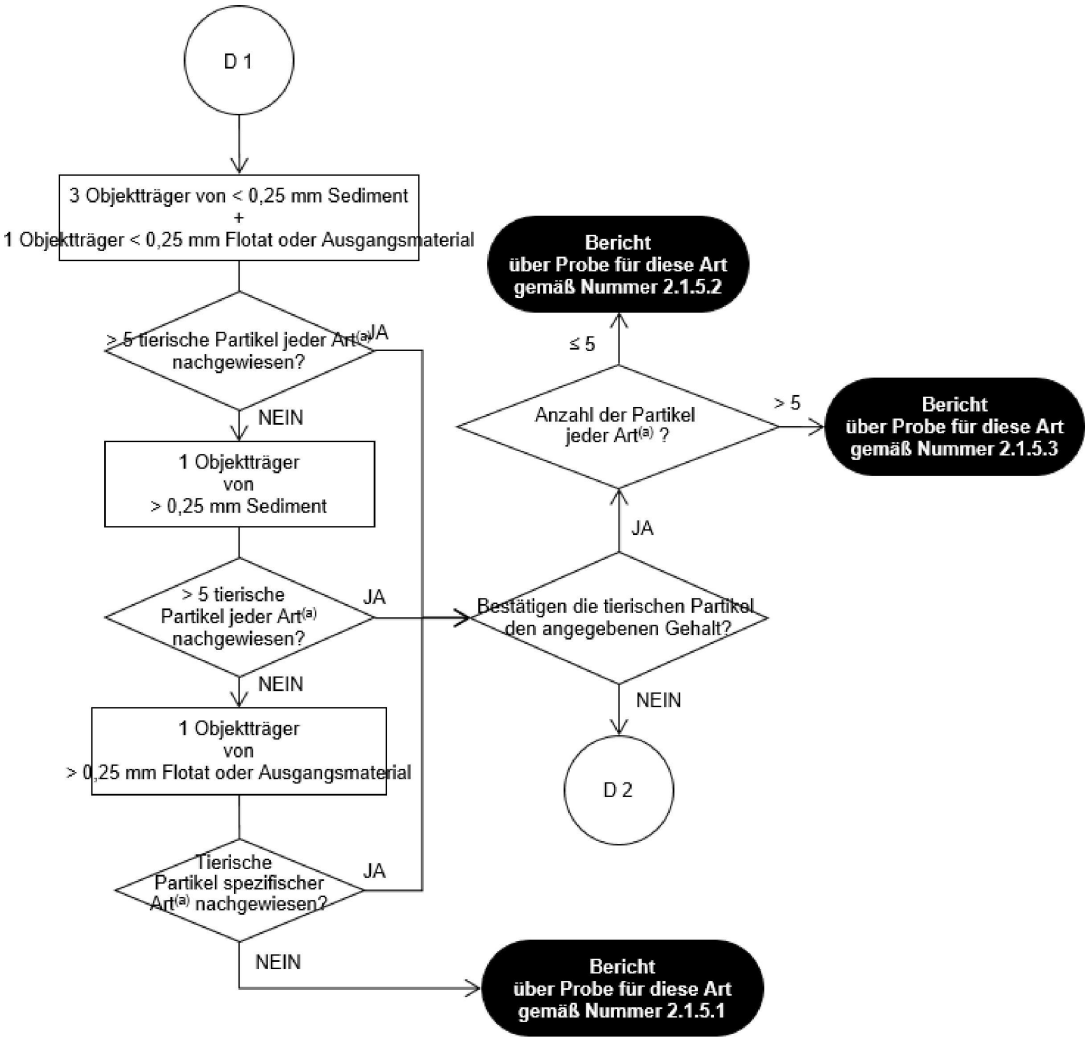
In jedem Schritt des Untersuchungsablaufplans ist die festgelegte Mindestzahl von Präparaten zu untersuchen, es sei denn, das gesamte Material der Fraktion reicht dafür nicht aus, beispielsweise wenn kein Sediment erzielt wird. Bei jeder Bestimmung werden höchstens 6 Präparate zur Aufzeichnung der Partikelzahl untersucht.

Werden von dem Flotat oder dem Ausgangsmaterial zusätzliche Objektträger mit einem spezifischeren färbenden Einbettungsmedium gemäß Nummer 2.1.2.1.4 präpariert, um Strukturen (z. B. Federn, Haare, Muskel- oder Blutpartikel) näher zu charakterisieren, die auf mit anderen Einbettungsmedien gemäß Nummer 2.1.2.1.3 präparierten Objektträgern nachgewiesen wurden, so wird die Anzahl der Partikel auf der Grundlage einer Anzahl von höchstens 6 Objektträgern pro Bestimmung gezählt, einschließlich der zusätzlichen Objektträger mit einem spezifischeren Einbettungsmedium. Die zusätzlichen von dem gemäß der Beschreibung unter Nummer 2.1.3.4.4 gewonnenen endgültigen Flotat präparierten Objektträger zum Nachweis von Bestandteilen wirbelloser Landtiere werden für die Bestimmung anderer Arten (Landwirbeltiere und Fische) nicht berücksichtigt.

Für die Bestimmung von Art und Ursprung der Partikel kann der Untersuchende Hilfsinstrumente wie Systeme zur Unterstützung der Entscheidungsfindung, Bildarchive und Referenzproben hinzuziehen.

Abbildung 1

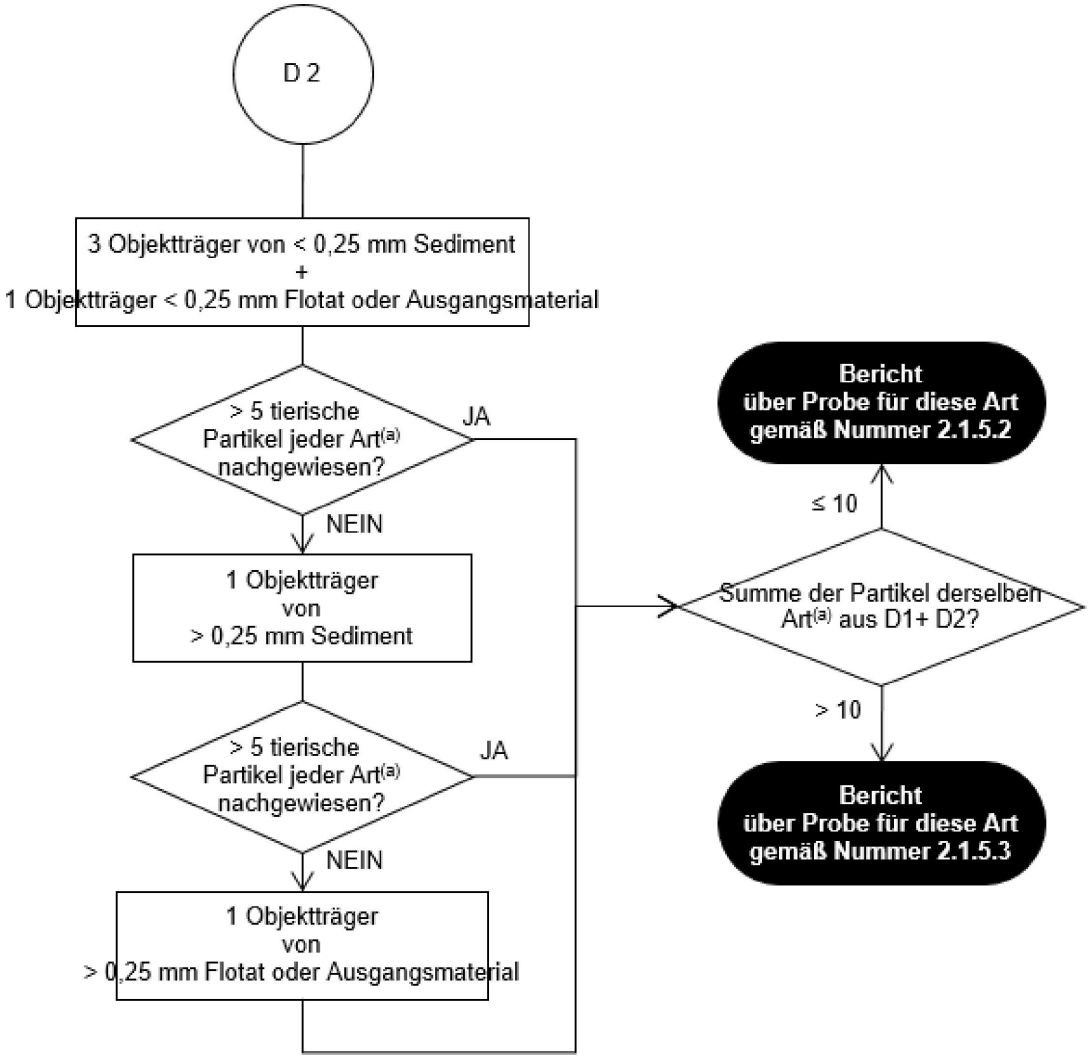
Untersuchungsablaufplan nach einmaliger Sedimentation mit TCE für den Nachweis anderer tierischer Partikel als von wirbellosen Landtieren in Mischfuttermitteln, Einzelfuttermitteln und Vormischungen (erste Bestimmung)



(D1 und D2 beziehen sich jeweils auf die erste und auf die zweite Bestimmung; (a): Landwirbeltiere, Fische)

Abbildung 2

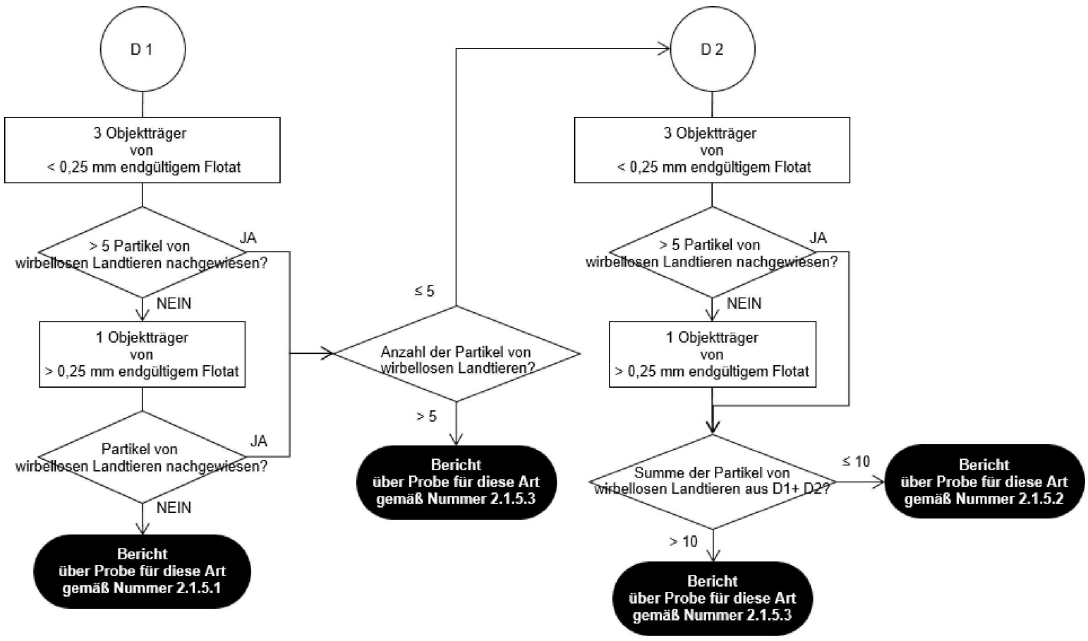
Untersuchungsablaufplan nach einmaliger Sedimentation mit TCE für den Nachweis anderer tierischer Partikel als von wirbellosen Landtieren in Mischfuttermitteln, Einzelfuttermitteln und Vormischungen (zweite Bestimmung)



(D1 und D2 beziehen sich jeweils auf die erste und auf die zweite Bestimmung; (a): Landwirbeltiere, Fische)

Abbildung 3

Untersuchungsablaufplan nach zweimaliger Sedimentation mit PE/TCE für den Nachweis von Bestandteilen wirbelloser Landtiere in Mischfuttermitteln, Einzelfuttermitteln und Vormischungen



(D1 und D2 beziehen sich jeweils auf die erste und auf die zweite Bestimmung)

2.1.4.3. Anzahl der Bestimmungen

Die Bestimmungen sind mit verschiedenen Teilproben von jeweils 50 g durchzuführen.

Werden bei der ersten Bestimmung gemäß dem Untersuchungsablaufplan in Abbildung 1 bzw. Abbildung 3 keine tierischen Partikel nachgewiesen, so ist keine weitere Bestimmung erforderlich, und über das Ergebnis der Analyse wird unter Verwendung der Formulierung in Nummer 2.1.5.1 berichtet.

Werden bei der ersten Bestimmung gemäß dem Untersuchungsablaufplan in Abbildung 1 ein oder mehrere tierische Partikel spezifischer Art (d. h. von Landwirbeltieren oder Fischen) nachgewiesen und bestätigt die Art der gefundenen Partikel den für die Probe angegebenen Gehalt, so ist keine zweite Bestimmung erforderlich. Liegt bei der ersten Bestimmung die Anzahl der nachgewiesenen tierischen Partikel spezifischer Art über 5, so wird über das Ergebnis der Analyse pro Art der Tiere unter Verwendung der Formulierung in Nummer 2.1.5.3 berichtet. Andernfalls wird über das Ergebnis der Analyse pro Art der Tiere unter Verwendung der Formulierung in Nummer 2.1.5.2 berichtet.

Werden bei der ersten Bestimmung gemäß dem Untersuchungsablaufplan in Abbildung 3 mehr als 5 Partikel wirbelloser Landtiere nachgewiesen, so ist keine zweite Bestimmung erforderlich, und über das Ergebnis der Analyse für diese Art wird unter Verwendung der Formulierung in Nummer 2.1.5.3 berichtet.

In allen anderen Fällen, einschließlich wenn dem Labor keine Angabe zum Gehalt vorgelegt wurde, wird eine zweite Bestimmung mit einer neuen Teilprobe durchgeführt. Liegt nach der zweiten Bestimmung gemäß dem Untersuchungsablaufplan in Abbildung 2 bzw. Abbildung 3 die Summe der in den zwei Durchgängen nachgewiesenen tierischen Partikel spezifischer Art über 10, so wird über das Ergebnis der Analyse pro Art der Tiere unter Verwendung der Formulierung in Nummer 2.1.5.3 berichtet. Andernfalls wird über das Ergebnis der Analyse pro Art der Tiere unter Verwendung der Formulierung in Nummer 2.1.5.2 berichtet.

2.1.5. *Formulierung der Ergebnisse*

In seinem Bericht über die Ergebnisse gibt das Labor an, welche Art von Material (Sediment, Flotat, endgültiges Flotat oder Ausgangsmaterial) analysiert wurde. Aus dem Bericht muss eindeutig hervorgehen, wie viele Bestimmungen durchgeführt wurden und ob die Fraktionen vor der Vorbereitung der Objektträger nicht gemäß Nummer 2.1.3.4.3 erster Gedankenstrich dritter Absatz oder Nummer 2.1.3.4.4 dritter Gedankenstrich gesiebt wurden.

Der Laborbericht enthält zumindest Informationen über das Vorhandensein von Bestandteilen, die von Landwirbeltieren und von Fischen stammen.

Die verschiedenen Fälle werden wie folgt dargestellt:

2.1.5.1. Kein tierisches Partikel spezifischer Art nachgewiesen:

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurde in der vorliegenden Probe kein Partikel von Landwirbeltieren nachgewiesen.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurde in der vorliegenden Probe kein Partikel von Fischen nachgewiesen.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurde in der vorliegenden Probe kein Partikel von wirbellosen Landtieren nachgewiesen.‘

2.1.5.2. Zwischen 1 und 5 tierische Partikel spezifischer Art nachgewiesen, wenn nur eine Bestimmung durchgeführt wurde, oder zwischen 1 und 10 Partikel spezifischer Art nachgewiesen, wenn zwei Bestimmungen durchgeführt wurden (die Anzahl der festgestellten Partikel liegt unter der Entscheidungsgrenze, die in den SOP des EURL-AP festgelegt und auf seiner Website veröffentlicht wurde):

Wenn nur eine Bestimmung durchgeführt wurde:

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe nicht mehr als 5 Partikel von Landwirbeltieren nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [Knochen, Knorpel, Muskelgewebe, Haare, Horn, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt. Diese geringe Zahl liegt unter der für diese mikroskopische Methode festgelegten Entscheidungsgrenze.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe nicht mehr als 5 Partikel von Fischen nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [Gräten, Schuppen, Knorpel, Muskelgewebe, Otolith, Kiemen, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt. Diese geringe Zahl liegt unter der für diese mikroskopische Methode festgelegten Entscheidungsgrenze.‘

Wenn zwei Bestimmungen durchgeführt wurden:

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe in den zwei Durchgängen nicht mehr als 10 Partikel von Landwirbeltieren nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [Knochen, Knorpel, Muskelgewebe, Haare, Horn, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt. Diese geringe Zahl liegt unter der für diese mikroskopische Methode festgelegten Entscheidungsgrenze.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe in den zwei Durchgängen nicht mehr als 10 Partikel von Fischen nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [Gräten, Schuppen, Knorpel, Muskelgewebe, Otolith, Kiemen, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt. Diese geringe Zahl liegt unter der für diese mikroskopische Methode festgelegten Entscheidungsgrenze.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe in den zwei Durchgängen nicht mehr als 10 Partikel von wirbellosen Landtieren nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [kutikuläre Fragmente, Mundwerkzeuge, Muskeln, tracheale Strukturen, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt. Diese geringe Zahl liegt unter der für diese mikroskopische Methode festgelegten Entscheidungsgrenze.‘

Außerdem gilt Folgendes:

— Wurde die Probe zuvor gesiebt, so gibt das Labor an, in welcher Fraktion (gesiebt, pelletiert oder Kerne) die tierischen Partikel nachgewiesen wurden, da nur in der gesiebten Fraktion nachgewiesene tierische Partikel auf eine Umweltkontamination hindeuten können.

— Werden nur tierische Partikel nachgewiesen, die weder als Landwirbeltiere noch als Fische eingestuft werden können (z. B. Muskelfasern), so ist in dem Bericht anzugeben, dass nur solche tierische Partikel nachgewiesen wurden und nicht ausgeschlossen werden kann, dass sie von Landwirbeltieren stammen.

2.1.5.3. Mehr als 5 tierische Partikel spezifischer Art nachgewiesen, wenn nur eine Bestimmung durchgeführt wurde, oder mehr als 10 Partikel spezifischer Art nachgewiesen, wenn zwei Bestimmungen durchgeführt wurden:

Wenn nur eine Bestimmung durchgeführt wurde:

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe mehr als 5 Partikel von Landwirbeltieren nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [Knochen, Knorpel, Muskelgewebe, Haare, Horn, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe mehr als 5 Partikel von Fischen nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [Gräten, Schuppen, Knorpel, Muskelgewebe, Otolith, Kiemen, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe mehr als 5 Partikel von wirbellosen Landtieren nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [kutikuläre Fragmente, Mundwerkzeuge, Muskeln, tracheale Strukturen, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt.‘

Wenn zwei Bestimmungen durchgeführt wurden:

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe in den zwei Durchgängen mehr als 10 Partikel von Landwirbeltieren nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [Knochen, Knorpel, Muskelgewebe, Haare, Horn, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe in den zwei Durchgängen mehr als 10 Partikel von Fischen nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [Gräten, Schuppen, Knorpel, Muskelgewebe, Otolith, Kiemen, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt.‘

— ‚Soweit mit dem Lichtmikroskop erfassbar, wurden in der vorliegenden Probe in den zwei Durchgängen mehr als 10 Partikel von wirbellosen Landtieren nachgewiesen. Die Partikel wurden als … [kutikuläre Fragmente, Mundwerkzeuge, Muskeln, tracheale Strukturen, Sonstiges (bitte angeben)] erkannt.‘

Außerdem gilt Folgendes:

— Wurde die Probe zuvor gesiebt, so gibt das Labor an, in welcher Fraktion (gesiebt, pelletiert oder Kerne) die tierischen Partikel nachgewiesen wurden, da nur in der gesiebten Fraktion nachgewiesene tierische Partikel auf eine Umweltkontamination hindeuten können.

— Werden nur tierische Partikel nachgewiesen, die weder als Landwirbeltiere noch als Fische eingestuft werden können (z. B. Muskelfasern), so ist in dem Bericht anzugeben, dass nur solche tierische Partikel nachgewiesen wurden und nicht ausgeschlossen werden kann, dass sie von Landwirbeltieren stammen.“