KOMISIJAS ĪSTENOŠANAS REGULA (ES) 2022/893

(2022. gada 7. jūnijs),

ar ko attiecībā uz analīzes metodēm, kas izmantojamas, lai barības oficiālajā kontrolē noteiktu sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļas, groza Regulas (EK) Nr. 152/2009 VI pielikumu

(Dokuments attiecas uz EEZ)

EIROPAS KOMISIJA,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību,

ņemot vērā Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (ES) 2017/625 (2017. gada 15. marts) par oficiālajām kontrolēm un citām oficiālajām darbībām, kuras veic, lai nodrošinātu, ka tiek piemēroti pārtikas un barības aprites tiesību akti, noteikumi par dzīvnieku veselību un labturību, augu veselību un augu aizsardzības līdzekļiem, un ar ko groza Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (EK) Nr. 999/2001, (EK) Nr. 396/2005, (EK) Nr. 1069/2009, (EK) Nr. 1107/2009, (ES) Nr. 1151/2012, (ES) Nr. 652/2014, (ES) 2016/429 un (ES) 2016/2031, Padomes Regulas (EK) Nr. 1/2005 un (EK) Nr. 1099/2009 un Padomes Direktīvas 98/58/EK, 1999/74/EK, 2007/43/EK, 2008/119/EK un 2008/120/EK un atceļ Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (EK) Nr. 854/2004 un (EK) Nr. 882/2004, Padomes Direktīvas 89/608/EEK, 89/662/EEK, 90/425/EEK, 91/496/EEK, 96/23/EK, 96/93/EK un 97/78/EK un Padomes Lēmumu 92/438/EEK (Oficiālo kontroļu regula) ([1]), un jo īpaši tās 34. panta 6. punkta pirmās daļas a) apakšpunktu,

tā kā:

(1) Komisijas Regula (EK) Nr. 152/2009 ([2]) nosaka testēšanas metodes, ko oficiālajās kontrolēs papildus izmanto, lai panāktu, ka tiek izpildīts aizliegums produktīvo dzīvnieku barībā izmantot pārstrādātu dzīvnieku izcelsmes proteīnu. To skaitā ir barības oficiālajā kontrolē izmantojamās analīzes metodes dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu noteikšanai, kas aprakstītas minētās regulas VI pielikumā un ko veic ar gaismas mikroskopiju vai polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR).

(2) Ar Komisijas Regulu (ES) 2017/893 ([3]) ir atļauts no lauksaimniecības kukaiņiem iegūtas pārstrādātas dzīvnieku olbaltumvielas izmantot akvakultūras dzīvnieku barībā un ar Komisijas Regulu (ES) 2021/1372 ([4]) ir atļauts tās izmantot cūku un mājputnu barībā, bet saskaņā ar Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (EK) Nr. 999/2001 ([5]) tās joprojām ir aizliegts izmantot dažu veidu un jo īpaši atgremotājiem paredzētajā barībā.

(3) Eiropas Savienības references laboratorija attiecībā uz dzīvnieku proteīniem barībā ir izstrādājusi un validējusi īpašu protokolu, kurš ietver divkāršas izgulsnēšanas posmu, kas nodrošina sauszemes bezmugurkaulnieku (tai skaitā kukaiņu) izcelsmes daļiņu noteikšanu, ja laboratoriskai testēšanai iesniegtajās barības sastāvdaļās, barības maisījumos un premiksos tādas ir. Minētais protokols būtu oficiālo kontroļu ietvaros jāizmanto ar šo papildu posmu, lai tādējādi pārbaudītu, vai tiek pareizi ievērots pārstrādātu dzīvnieku izcelsmes (kukaiņu) proteīnu izmantošanas aizliegums noteiktu produktīvo dzīvnieku barībā.

([1]) OV L 95, 7.4.2017., 1. lpp.

([2]) Komisijas Regula (EK) Nr. 152/2009 (2009. gada 27. janvāris), ar ko nosaka paraugu ņemšanas un analīzes metodes barības oficiālajai kontrolei (OV L 54, 26.2.2009., 1. lpp.).

([3]) Komisijas Regula (ES) 2017/893 (2017. gada 24. maijs), ar ko attiecībā uz noteikumiem par pārstrādātām dzīvnieku olbaltumvielām groza Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (EK) Nr. 999/2001 I un IV pielikumu, kā arī Komisijas Regulas (ES) Nr. 142/2011 X, XIV un XV pielikumu (OV L 138, 25.5.2017., 92. lpp.).

([4]) Komisijas Regula (ES) 2021/1372 (2021. gada 17. augusts), ar ko attiecībā uz aizliegumu lauksaimniecības dzīvniekus, kuri nav atgremotāji, izņemot kažokzvērus, barot ar olbaltumvielām, kas iegūtas no dzīvniekiem, groza Regulas (EK) Nr. 999/2001 IV pielikumu (OV L 295, 18.8.2021., 1. lpp.).

([5]) Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (EK) Nr. 999/2001 (2001. gada 22. maijs), ar ko paredz noteikumus dažu transmisīvo sūkļveida encefalopātiju profilaksei, kontrolei un apkarošanai (OV L 147, 31.5.2001., 1. lpp.).

(4) Tāpēc Regulas (EK) Nr. 152/2009 VI pielikumā sniegtais gaismas mikroskopijas metodes apraksts ir jāpielāgo, lai sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļu noteikšanai paredzēto testējamo paraugu sagatavošanas protokolā iekļautu divkāršas izgulsnēšanas posmu.

(5) Tāpēc Regulas (EK) Nr. 152/2009 VI pielikums būtu attiecīgi jāgroza.

(6) Šajā regulā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Augu, dzīvnieku, pārtikas aprites un dzīvnieku barības pastāvīgās komitejas atzinumu,

IR PIEŅĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Regulas (EK) Nr. 152/2009 VI pielikumu groza saskaņā ar šīs regulas pielikumu.

2. pants

Šī regula stājas spēkā divdesmitajā dienā pēc tās publicēšanas *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2022. gada 7. jūnijā

Komisijas vārdā –
priekšsēdētāja
Ursula VON DER LEYEN

PIELIKUMS

Regulas (EK) Nr. 152/2009 VI pielikumu groza šādi:

1) 1. punktu aizstāj ar šādu:

"1. MĒRĶIS UN DARBĪBAS JOMA

Lai barībā noteiktu dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļas, saskaņā ar pielikumā izklāstītajiem noteikumiem izmanto gaismas mikroskopiju vai polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR).

Šīs divas metodes ļauj noteikt dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu klātbūtni premiksos, barības sastāvdaļās un barības maisījumos. Tomēr ar tām nevar aprēķināt minēto sastāvdaļu daudzumu premiksos, barības sastāvdaļās un barības maisījumos. Abām metodēm noteikšanas robeža ir mazāka par 0,1 % (masas).

PĶR metode ļauj noteikt premiksos, barības sastāvdaļās un barības maisījumos klātesošo dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu taksonomisko grupu.

Šīs metodes piemēro Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (EK) Nr. 999/2001 (*) 7. panta 1. punktā, minētās regulas IV pielikumā un Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (EK) Nr. 1069/2009 (**) 11. panta 1. punktā noteikto aizliegumu piemērošanas kontrolei.

Atkarībā no testējamās barības veida minētās metodes atsevišķi vai kopā var izmantot viena operatīvā protokola ietvaros atbilstīgi standarta darbības procedūrām (*SOP*), ko izveidojusi un savā tīmekļa vietnē (***) publicējusi ES references laboratorija attiecībā uz dzīvnieku proteīniem barībā (*EURL-AP*).

(*) Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (EK) Nr. 999/2001 (2001. gada 22. maijs), ar ko paredz noteikumus dažu transmisīvo sūkļveida encefalopātiju profilaksei, kontrolei un apkarošanai (OV L 147, 31.5.2001., 1. lpp.).

(**) Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (EK) Nr. 1069/2009 (2009. gada 21. oktobris), ar ko nosaka veselības aizsardzības noteikumus attiecībā uz dzīvnieku izcelsmes blakusproduktiem un atvasinātajiem produktiem, kuri nav paredzēti cilvēku patēriņam, un ar ko atceļ Regulu (EK) Nr. 1774/2002 (Dzīvnieku izcelsmes blakusproduktu regula) (OV L 300, 14.11.2009., 1. lpp.).

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

2) 2.1. punktu aizstāj ar šādu:

"2.1. **Gaismas mikroskopija**

2.1.1. *Princips*

Dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļas, kuras var būt analīzei nosūtītajos premiksos, barības sastāvdaļās un barības maisījumos, identificē pēc raksturīgiem un ar mikroskopu nosakāmiem elementiem, piemēram, muskuļu šķiedrām un citām gaļas daļiņām, skrimšļiem, kauliem, ragiem, matiem, sariem, bezmugurkaulnieku kutikulas fragmentiem, kukaiņu trahejas struktūrām, asins produktiem, piena tauku lodītēm, laktozes kristāliem, spalvām, olu čaumalām, asakām un zvīņām.

Mikroskopiskās pārbaudes pēc paraugu sagatavošanas veic izgulsnējot.

Paraugu izgulsnēšanas posmu veic šādi:

a) lai noteiktu dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļas, kas nav sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļas, veic vienkāršu izgulsnēšanu ar tetrahloretilēnu (TCE), un to dara, kā norādīts 2.1.3.4.3. punktā;

b) lai noteiktu sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļas, veic divkāršu izgulsnēšanu ar petrolēteri/tetrahloretilēnu (PE/TCE), un to dara, kā norādīts 2.1.3.4.4. punktā.

2.1.2. *Reaģenti un aprīkojums*

2.1.2.1. Reaģenti

2.1.2.1.1. Koncentrēšanas aģents

— Tetrahloretilēns (relatīvais blīvums 1,62).

— Petrolēteris (PE), viršanas temperatūra 40–60 °C (relatīvais blīvums 0,65).

2.1.2.1.2. Krāsošanas reaģents

— Alizarīnsarkanais šķīdums (atšķaida 2,5 ml 1M sālsskābes 100 mililitros ūdens un pievieno šim šķīdumam 200 mg alizarīnsarkanā).

2.1.2.1.3. Ietvarvide

— Sārms (NaOH 2,5 % (m/V) vai KOH 2,5 % (m/V)).

— Glicerīns (neatšķaidīts, viskozitāte: 1 490 cP) vai ietvarvide ar identiskām īpašībām nepastāvīga priekšmetstikliņa sagatavošanai.

— *Norland ® Optical Adhesive 65* (viskozitāte: 1 200 cP) vai ietvarvide ar identiskām īpašībām pastāvīga priekšmetstikliņa sagatavošanai.

2.1.2.1.4. Krāsojoša ietvarvide

— Lugola šķīdums (izšķīdina 2 g kālija jodīda 100 mililitros ūdens un pievieno 1 g joda, bieži sakratot).

— Cistīna reaģents (2 g svina acetāta, 10 g NaOH/100 ml ūdens).

— Fēlinga reaģents (pirms lietošanas sagatavo no divu izejas standartšķīdumu A un B vienādām daļām (1/1): A šķīdums (6,9 g vara (II) sulfāta pentahidrāta izšķīdina 100 ml ūdens); B šķīdums (34,6 g kālija nātrija tartrāta tetrahidrāta un 12 g NaOH izšķīdina 100 ml ūdens).

— Tetrametilbenzidīna/ūdeņraža peroksīds (1 g 3,3',5,5' tetrametilbenzidīna (TMB) izšķīdina 100 ml ledus etiķskābes un 150 ml ūdens. Pirms izmantošanas 4. daļas šā *TMB* šķīduma sajauc ar 1. daļu 3 % ūdeņraža peroksīda).

2.1.2.1.5. Skalošanas aģenti

— Etanols ≥ 96 % (tehniskais).

— Acetons (tehniskais).

2.1.2.1.6. Balināšanas reaģents

— Komerciāls nātrija hipohlorīta šķīdums (9–14 % aktīvā hlora).

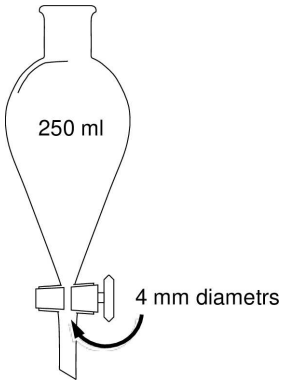
2.1.2.2. Aprīkojums

— Analītiskie svari ar precizitāti līdz 0,001 g.

— Smalcināšanas ierīce: naža vai rotora dzirnavas. Rotora dzirnavās aizliegts izmantot dzirnavu sietus ar ≤ 0,5 mm acīm.

— Sieti ar 0,25 mm un 1 mm platām kvadrātveida acīm. Lai izvairītos no materiālu zudumiem, sietu diametrs (izņemot parauga priekšsijāšanai) nepārsniedz 10 cm. Sietu kalibrēšana nav vajadzīga.

— Konusveida dalāmpiltuve ar 250 ml tilpumu, aprīkota ar teflona vai slīpēta stikla krānu konusa pamatnē. Krāna atvēruma diametrs ir ≥ 4 mm. Var izmantot (tikai vienkāršas izgulsnēšanas posmam ar TCE) arī izgulsnēšanas vārglāzi ar konisku dibenu, ja laboratorija ir pierādījusi, ka noteikšanas robežas ir identiskas tām, ko iegūst, izmantojot konusveida dalāmpiltuvi.



Dalāmpiltuve

— Stereomikroskops ar kopējā palielinājuma amplitūdu vismaz no 6,5× līdz 40×.

— Optiskais mikroskops ar kopējā palielinājuma amplitūdu vismaz no 100× līdz 400× un atstarotas gaismas gaišo lauku. Papildus var izmantot polarizēto gaismu un diferenciālās interferences kontrastu.

— Laboratorijas standarta stikla trauki.

— Aprīkojums priekšmetstikliņu sagatavošanai: parasti mikroskopa priekšmetstikliņi, priekšmetstikliņi ar iedobi, segstikliņi (20 × 20 mm), pincete, smalka lāpstiņa.

— Laboratorijas krāsns.

— Centrifūga.

— Filtrpapīrs: kvalitatīvs celulozes filtrs (poru lielums: 4–11 μm).

2.1.3. *Paraugu ņemšana un paraugu sagatavošana*

2.1.3.1. Atlase

Izmanto reprezentatīvu paraugu, kas ņemts saskaņā ar I pielikumu.

2.1.3.1.1. Paraugu žāvēšana

Paraugus, kuru mitruma saturs ir > 14 %, pirms izmantošanas žāvē saskaņā ar III pielikumu.

2.1.3.1.2. Paraugu priekšsijāšana

Lai savāktu informāciju par iespējamo vidiskas izcelsmes piesārņojumu barībā, granulētu barību un kodolus ieteicams priekšsijāt līdz 1 mm izmēram un tad iegūtās divas frakcijas, kuras jāuzskata par atsevišķiem paraugiem, sagatavot un analizēt atsevišķi, kā arī atsevišķi ziņot par tām.

2.1.3.2. Veicamie piesardzības pasākumi

Lai laboratorijā novērstu savstarpēju piesārņošanu, visu vairākkārt izmantojamo aprīkojumu pirms izmantošanas rūpīgi notīra. Dalāmpiltuvi pirms tīrīšanas sadala pa daļām. Dalāmpiltuves daļas un stikla traukus no sākuma mazgā ar rokām un tad mazgāšanas ierīcē. Sietus tīra, izmantojot suku ar cietiem, sintētiskiem sariem. Ja sijāti taukaini līdzekļi, piemēram, zivju milti, sietu galīgo tīrīšanu ieteicams veikt ar acetonu un saspiestu gaisu.

2.1.3.3. Tauku vai eļļas paraugu sagatavošana

Šo protokolu izmanto, sagatavojot tauku paraugus:

— ja tauki ir cieti, tos sasilda krāsnī, līdz tie kļūst šķidri,

— izmantojot pipeti, 40 ml tauku no parauga apakšpuses pārnes uz centrifugēšanas mēģeni,

— paraugu centrifugē 10 minūtes ar 4 000 apgr./min,

— ja pēc centrifugēšanas tauki ir cieti, tos sasilda krāsnī, līdz tie kļūst šķidri,

— centrifugēšanu atkārto 5 minūtes ar 4 000 apgr./min,

— izmantojot nelielu karoti vai lāpstiņu, pusi no dekantētā piemaisījuma pārbaudīšanai pārnes uz mikroskopa priekšmetstikliņiem; Kā ietvarvidi ieteicams izmantot glicerīnu,

— atlikušos piemaisījumus izmanto nogulšņu sagatavošanā, kā aprakstīts 2.1.3.4.3. punkta pirmajā ievilkumā.

To pašu protokolu (izņemot pirmo un ceturto ievilkumu) piemēro, lai sagatavotu eļļas paraugus.

2.1.3.4. Tādu paraugu sagatavošana, kas nav tauku vai eļļas paraugi

2.1.3.4.1. Pakārtotu paraugu ņemšana un smalcināšana: vismaz 50 g parauga ņem pakārtota parauga analīzei un tad sasmalcina.

2.1.3.4.2. Izejvielu sagatavošana: sagatavo vismaz 5 g samalta pakārtotā parauga. To sijā līdz 0,25 mm lielumam un pārbauda abas iegūtās frakcijas.

2.1.3.4.3. Vienkārša izgulsnēšana ar TCE, lai noteiktu dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļas, kas nav sauszemes bezmugurkaulnieki.

— Nogulšņu ekstrakcija un sagatavošana:

10 g (ar precizitāti līdz 0,01 g) smalcināta pakārtotā parauga pārnes dalāmpiltuvē vai izgulsnēšanas vārglāzē ar konisku dibenu un pievieno 50 ml TCE. Attiecībā uz zivju miltiem vai citiem tīriem dzīvnieku izcelsmes produktiem, minerālu sastāvdaļām vai premiksiem, kas rada vairāk nekā 10 % nogulšņu, piltuvē pārnesto daudzumu samazina līdz 3 g. Maisījumu vismaz 30 sekundes spēcīgi krata un uzmanīgi pievieno vēl vismaz 50 ml TCE, noskalojot piltuves iekšējo virsmu, lai atdalītu jebkādas pielipušas daļiņas. Iegūto maisījumu nostādina vismaz piecas minūtes, pirms atver krānu nogulšņu atdalīšanai.

Ja izmanto izgulsnēšanas vārglāzi ar konisku dibenu, maisījumu spēcīgi maisa vismaz 15 sekundes un jebkādas daļiņas, kas pielipušas vārglāzes malām, uzmanīgi noskalo no iekšējās virsmas ar vismaz 10 ml tīra TCE. Maisījumu nostādina trīs minūtes un tad atkal maisa 15 sekundes, un jebkādas vārglāzes maliņām pielipušās daļiņas uzmanīgi noskalo no iekšējās virsmas ar vismaz 10 ml TCE. Maisījumu nostādina vismaz piecas minūtes un tad, uzmanīgi dekantējot, šķidro frakciju atdala un atmet, cenšoties saglabāt visas nogulsnes.

Nogulsnes savāc uz filtrpapīra, kas ievietots piltuvē, lai varētu atdalīt atlikušo TCE, vienlaikus izvairoties no tauku nogulsnēšanās nogulsnēs. Nogulsnes izžāvē. Lai kontrolētu nogulsnēšanās posmu, nogulsnes pēc tam ieteicams nosvērt (ar precizitāti līdz 0,001 g). Visbeidzot, nogulsnes sijā līdz 0,25 mm lielumam un pārbauda divas iegūtās frakcijas, ja vien netiek atzīts, ka sijāšana nav vajadzīga.

— Flotātu ekstrakcija un sagatavošana:

pēc tam, kad ar iepriekš aprakstīto metodi atgūtas nogulsnes, dalāmpiltuvē paliek divas fāzes: no TCE sastāvoša šķidra fāze un no flotējoša materiāla sastāvošai cieta fāze. Cietā fāze ir flotāts, ko atgūst, ja no piltuves, atverot krānu, pilnībā nolej TCE. Apgriežot dalāmpiltuvi, flotātu pārnes Petri trauciņā un ar gaisu žāvē velkmes skapī. To sijā līdz 0,25 mm lielumam un pārbauda abas iegūtās frakcijas.

— Krāsošanas reaģentu izmantošana:

Lai atvieglotu dzīvnieku izcelsmes sastāvdaļu noteikšanu, laborants paraugu sagatavošanas laikā var izmantot reaģentus saskaņā ar pamatnostādnēm, ko *EURL-AP* izstrādājusi un publicējusi savā tīmekļa vietnē.

Ja nogulsnes krāsotas ar alizarīnsarkano šķīdumu, piemēro šādu protokolu:

— Izžāvētās nogulsnes pārnes stikla mēģenē un divreiz noskalo ar apmēram 5 ml etanola (katru reizi virpuļmikseri izmanto 30 sekundes, šķīdinātāju nostādina apmēram pusotras minūtes un nolej).

— Nogulsnes balina, pievienojot vismaz 1 ml nātrija hipohlorīta šķīduma. Reakcijai ļauj turpināties 10 minūtes. Mēģeni piepilda ar ūdeni, nogulsnes nostādina 2–3 minūtes un lēni nolej ūdeni un suspendētās daļiņas.

— Nogulsnes noskalo vēl divas reizes ar apmēram 10 ml ūdens (katru reizi virpuļmikseri izmanto 30 sekundes, ļauj nogulsnēties un nolej ūdeni).

— pievieno 2–10 pilienus alizarīnsarkanā šķīduma un maisījumu ievieto virpuļmikserī. Reakcijai ļauj notikt 30 sekundes un iekrāsotās nogulsnes divreiz noskalo ar apmēram 5 ml etanola un tad vienreiz ar acetonu (katru reizi virpuļmikseri izmanto 30 sekundes, šķīdumu nostādina apmēram 1 minūti un nolej).

— Iekrāsotās nogulsnes žāvē.

2.1.3.4.4. Divkāršā izgulsnēšana ar PE/TCE sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļu noteikšanai.

Visus posmus veic 250 ml konusveida dalāmpiltuvē, kā aprakstīts 2.1.2.2. punkta ceturtajā ievilkumā.

— 10 g (ar precizitāti līdz 0,01 g) smalcināta pakārtotā parauga pārnes dalāmpiltuvē un tam vispirms veic vienkāršu izgulsnēšanu ar TCE, kā aprakstīts 2.1.3.4.3. punktā, ieskaitot nogulšņu atgūšanu uz filtrpapīra, kas novietots uz piltuves. Šīs nogulsnes var izmantot tāpat kā ar 2.1.3.4.3. punktā aprakstīto procedūru iegūtās nogulsnes.

— Nelielo daudzumu TCE, kas notecināts kopā ar nogulsnēm, pārnes mērcilindrā. Atverot dalāmpiltuves krānu, turpina piepildīt mērcilindru, līdz iegūst 30 ml TCE. Kad šis tilpums ir sasniegts, krānu aizver.

— Šo savākto TCE tilpumu aizstāj, dalāmpiltuvē pievienojot 30 ml petrolētera ar 40–60 °C viršanas temperatūru. Dalāmpiltuves saturu rūpīgi samaisa, lai iegūtu 30 % PE/70 % TCE maisījumu (ar blīvumu aptuveni 1,26 g/cm^3). Ļauj materiālam nogulsnēties 10 minūtes. Atdalīsies divas jaunas frakcijas: otrās nogulsnes un galīgais flotāts (< 1,26 g/cm^3). Otrās nogulsnes paredzēts atgūt Petri trauciņā (vai uz piltuves uzlikta filtrpapīra), atverot krānu, līdz dalāmpiltuvē paliek tikai nedaudz šķīdinātāja maisījuma un galīgais flotāts. Atlikušo šķidrumu un galīgo flotātu savāc atsevišķi uz filtrpapīra, kas novietots uz piltuves. Dalāmpiltuves sienu skalo ar PE, lai savāktu visu materiālu no galīgā flotāta. Gala flotātam ļauj izžūt. Galīgo flotātu sijā līdz 0,25 mm lielumam, un pārbauda divas iegūtās frakcijas, lai noteiktu sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļas, ja vien netiek atzīts, ka sijāšana nav vajadzīga.

2.1.4. *Mikroskopiskā pārbaude*

2.1.4.1. Priekšmetstikliņa sagatavošana

Mikroskopa priekšmetstikliņus sagatavo no nogulsnēm un, atkarībā no laboranta izvēles, no flotāta vai izejvielas. Vajadzības gadījumā, lai noteiktu tikai sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļas, no iegūtā galīgā flotāta sagatavo arī priekšmetstikliņus, kā aprakstīts 2.1.3.4.4. punktā. Sagatavo divas iegūtās frakcijas (smalko un rupjo). Uz priekšmetstikliņiem uznestie frakciju paraugi raksturo visu frakciju.

Lai nodrošinātu pilnīgu pārbaudes protokola izpildi, kā noteikts 2.1.4.2. punktā, sagatavo pietiekamu skaitu priekšmetstikliņu.

Saskaņā ar *SOP*, ko izstrādājusi un savā tīmekļa vietnē publicējusi *EURL-AP*, mikroskopa priekšmetstikliņus pārklāj ar atbilstošu ietvarvidi. Priekšmetstikliņus pārklāj ar segstikliņiem.

2.1.4.2. Novērojumu plūsmkarte dzīvnieku izcelsmes daļiņu noteikšanai barības maisījumos, barības sastāvdaļās un premiksos.

Sagatavotos mikroskopa priekšmetstikliņus novēro saskaņā ar 1. un 2. diagrammā norādītajām novērojumu plūsmkartēm.

Nogulšņu un, atkarībā no laboranta izvēles, flotātu vai izejvielu mikroskopiskos novērojumus veic, izmantojot optisko mikroskopu. Turklāt, lai noteiktu sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļas, novērojumus veic arī attiecībā uz galīgo flotātu, kas iegūts, kā aprakstīts 2.1.3.4.4. punktā, saskaņā ar 3. diagrammu. Attiecībā uz rupjajām frakcijām papildus optiskajam mikroskopam var izmantot stereomikroskopu. Katru priekšmetstikliņu pilnībā pārbauda dažādos palielinājumos. Precīzi skaidrojumi par to, kā izmantot plūsmkartes, ir sīki izklāstīti *SOP*, ko izstrādājusi un savā tīmekļa vietnē publicējusi *EURL-AP*.

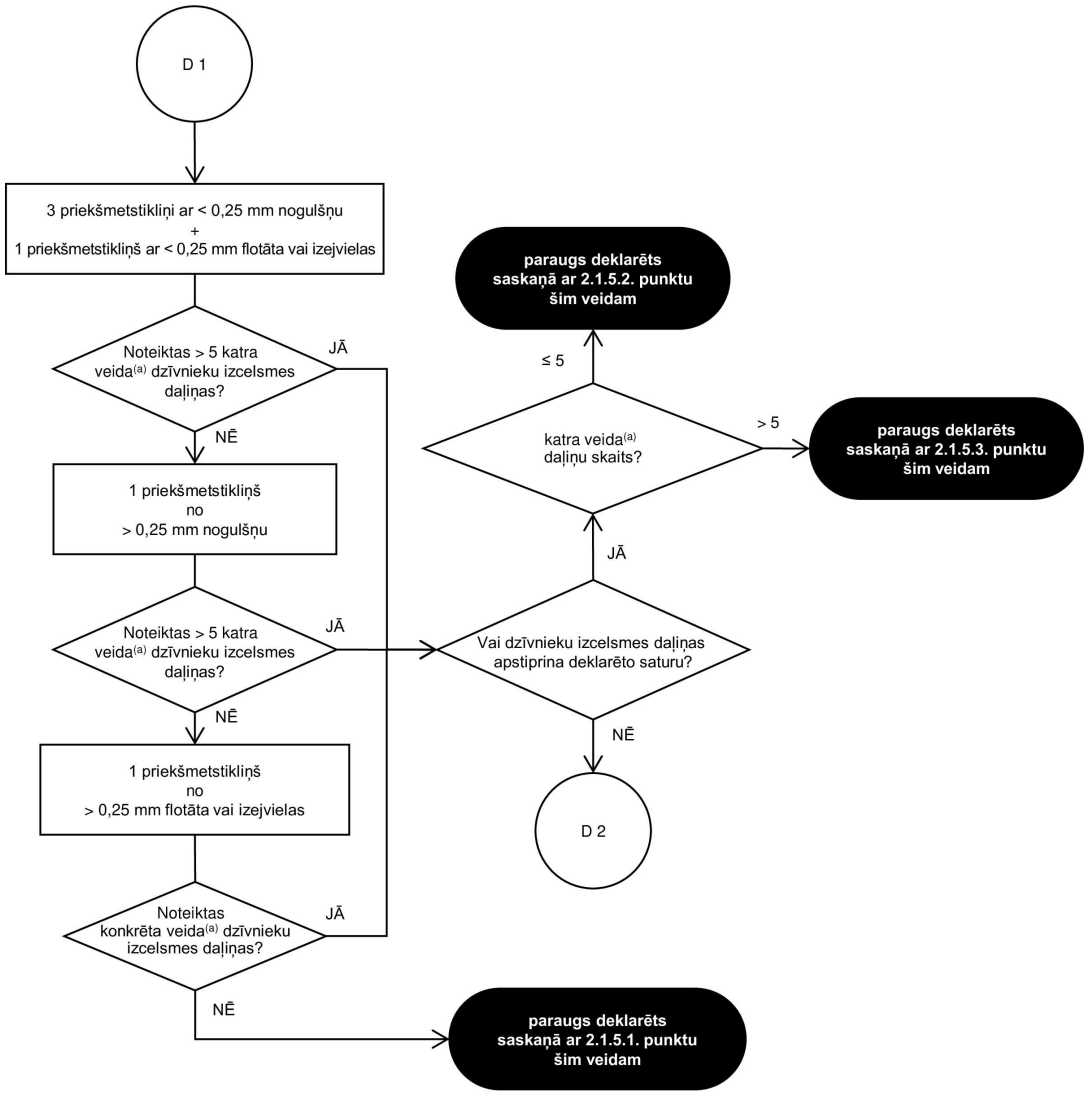
Stingri ievēro katrā novērojumu plūsmkartes posmā noteikto minimālo novērojamo priekšmetstikliņu skaitu, izņemot gadījumus, kad frakcijas materiāla kopums ir nepietiekams noteiktā priekšmetstikliņu skaita nodrošināšanai, piemēram, ja nogulsnes neiegūst. Daļiņu skaita reģistrēšanai vienā noteikšanā izmanto ne vairāk kā 6 priekšmetstikliņus.

Ja uz flotāta vai izejvielas sagatavo papildu priekšmetstikliņus ar specifiskāku krāsojošu ietvarvidi, kā aprakstīts 2.1.2.1.4. punktā, lai sīkāk raksturotu struktūras (piemēram, spalvas, mati, muskuļi vai asins daļiņas), kas noteiktas uz priekšmetstikliņiem, kuri sagatavoti ar citām ietvarvidēm, kā aprakstīts 2.1.2.1.3. punktā, tad daļiņu skaitu aprēķina, pamatojoties uz vienā noteikšanā izmantoto priekšmetstikliņu skaitu, kas nepārsniedz 6, ieskaitot papildu priekšmetstikliņus ar specifiskāku ietvarvidi. Papildu priekšmetstikliņus, kuri sagatavoti no galīgā flotāta, kas iegūts, kā aprakstīts 2.1.3.4.4. punktā, lai noteiktu sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļas, neņem vērā citu daļiņu veidu (sauszemes mugurkaulnieku un zivju izcelsmes) noteikšanai.

Lai atvieglotu daļiņu veida un izcelsmes identificēšanu, laborants var izmantot tādus palīginstrumentus kā, piemēram, lēmumatbalsta sistēma, attēlu bibliotēkas un standartparaugi.

1. diagramma

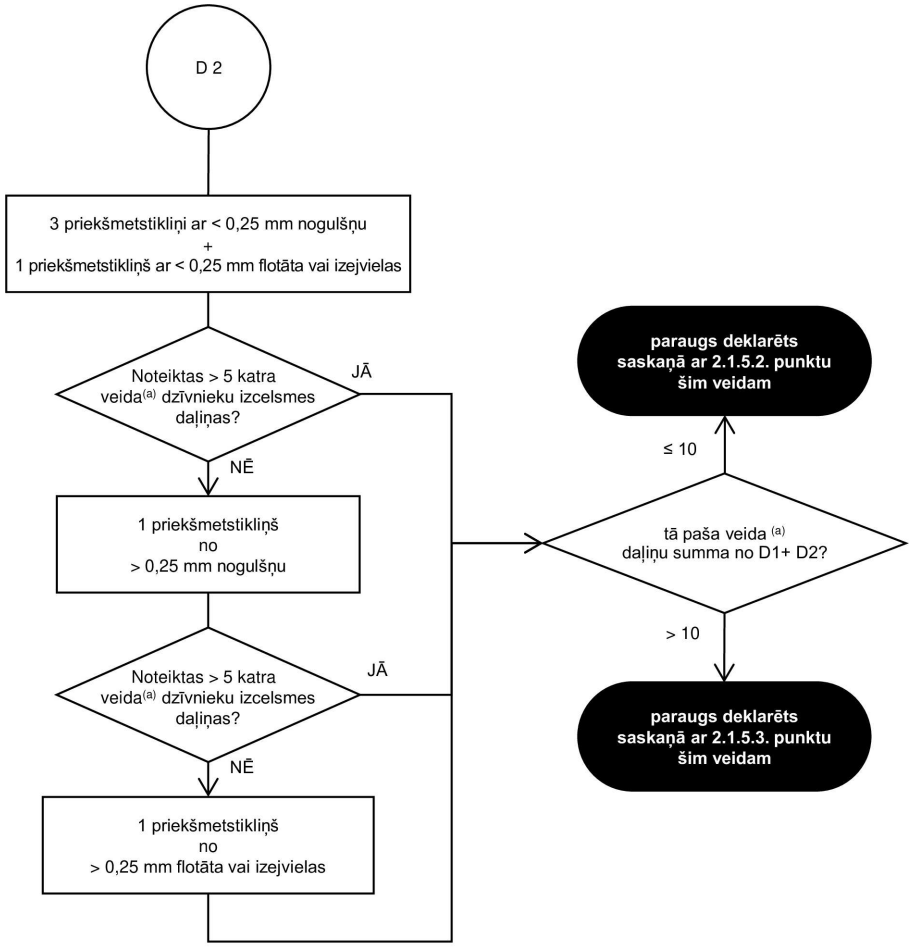
Pirmās noteikšanas novērojumu plūsmkarte pēc vienkāršas izgulsnēšanas ar TCE dzīvnieku izcelsmes daļiņu, kas nav no sauszemes bezmugurkaulniekiem, noteikšanai barības maisījumos, barības sastāvdaļās un premiksos



("D1" un "D2" attiecas uz pirmo un otro noteikšanu; (a): sauszemes mugurkaulnieki, zivis)

2. diagramma

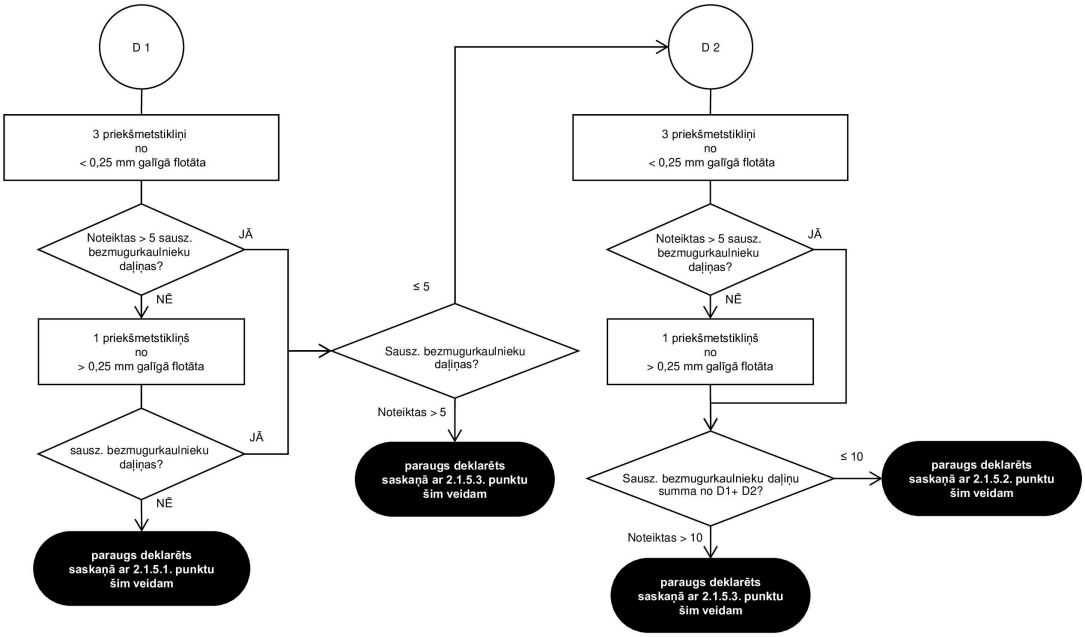
Otrās noteikšanas novērojumu plūsmkarte pēc vienkāršas izgulsnēšanas ar TCE dzīvnieku izcelsmes daļiņu, kas nav no sauszemes bezmugurkaulniekiem, noteikšanai barības maisījumos, barības sastāvdaļās un premiksos



("D1" un "D2" attiecas uz pirmo un otro noteikšanu; (a): sauszemes mugurkaulnieki, zivis)

3. diagramma

Novērojumu plūsmkarte pēc divkāršas izgulsnēšanas ar PE/TCE sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes sastāvdaļu noteikšanai barības maisījumos, barības sastāvdaļās un premiksos



("D1" un "D2" attiecas uz pirmo un otro noteikšanu.)

2.1.4.3. Noteikšanu skaits

Noteikšanas veic dažādiem pakārtotiem paraugiem, kur katra parauga svars ir 50 g.

Ja pēc pirmās noteikšanas, kas veikta attiecīgi saskaņā ar 1. vai 3. diagrammā norādīto novērojumu plūsmkarti, dzīvnieku izcelsmes daļiņas nav noteiktas, papildu noteikšana nav jāveic, un analīzes rezultātu paziņo, lietojot 2.1.5.1. punktā izklāstīto formulējumu.

Ja pēc pirmās noteikšanas, kas veikta saskaņā ar 1. diagrammā norādīto novērojumu plūsmkarti, ir noteiktas viena vai vairākas konkrēta veida (t. i., sauszemes mugurkaulnieku vai zivju) dzīvnieku izcelsmes daļiņas un atklāto daļiņu veids atbilst parauga deklarētajam saturam, otrā noteikšana nav jāveic. Ja konkrēta veida dzīvnieku izcelsmes daļiņu skaits, kas noteikts pirmās noteikšanas laikā, ir lielāks par 5, analīzes rezultātu paziņo par katru dzīvnieku veidu, lietojot 2.1.5.3. punktā izklāstīto formulējumu. Pretējā gadījumā analīzes rezultātu paziņo par katru dzīvnieku veidu, lietojot 2.1.5.2. punktā izklāstīto formulējumu.

Ja pēc pirmās noteikšanas, kas veikta saskaņā ar 3. diagrammā norādīto novērojumu plūsmkarti, ir noteiktas vairāk nekā 5 sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes daļiņas, otra noteikšana nav jāveic, un analīzes rezultātu paziņo, lietojot 2.1.5.3. punktā izklāstīto formulējumu šim veidam.

Visos citos gadījumos – arī tad, ja laboratorijai nav iesniegta satura deklarācija, – veic otru noteikšanu, izmantojot jaunu pakārtoto paraugu. Ja pēc otrās noteikšanas, kas veikta attiecīgi saskaņā ar 2. vai 3. diagrammā norādīto novērojumu plūsmkarti, šo divu noteikšanu laikā noteikto konkrēta veida dzīvnieku izcelsmes daļiņu summa ir lielāka par 10, analīzes rezultātu paziņo par katru dzīvnieku veidu, lietojot 2.1.5.3. punktā izklāstīto formulējumu. Pretējā gadījumā analīzes rezultātu paziņo par katru dzīvnieku veidu, lietojot 2.1.5.2. punktā izklāstīto formulējumu.

2.1.5. *Rezultātu izteikšana*

Paziņojot rezultātus, laboratorija norāda, kāda veida materiāls ir analizēts (nogulsnes, flotāts, galīgais flotāts vai izejviela). Ziņojumā skaidri jānorāda, cik noteikšanas ir veiktas un vai nav veikta frakciju sijāšana pirms priekšmetstikliņu sagatavošanas saskaņā ar 2.1.3.4.3. punkta pirmā ievilkuma trešo daļu vai 2.1.3.4.4. punkta trešo ievilkumu.

Laboratorijas ziņojumā jābūt vismaz informācijai par sauszemes mugurkaulnieku vai zivju izcelsmes sastāvdaļu klātbūtni.

Par dažādajām situācijām paziņo kādā no tālāk minētajiem veidiem.

2.1.5.1. Nav noteikta neviena konkrēta veida dzīvnieku izcelsmes daļiņa:

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā nav noteikta neviena sauszemes mugurkaulnieku izcelsmes daļiņa."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā nav noteikta neviena zivju izcelsmes daļiņa."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā nav noteikta neviena sauszemes bezmugurkaulnieku izcelsmes daļiņa."

2.1.5.2. Veicot tikai vienu noteikšanu, ir noteiktas 1 līdz 5 konkrēta veida dzīvnieku izcelsmes daļiņas, vai divu noteikšanu gadījumā ir noteiktas 1 līdz 10 konkrēta veida daļiņas (noteikto daļiņu skaits nepārsniedz izšķiršanas robežu, kas paredzēta *SOP*, kuras izstrādājusi un savā tīmekļa vietnē publicējusi *EURL-AP*):

Ja ir veikta tikai viena noteikšana:

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā ir noteiktas ne vairāk kā 5 daļiņas, kuru izcelsme ir no sauszemes mugurkaulniekiem. Daļiņas tika identificētas kā … [kauls, skrimslis, muskulis, spalva, rags, cits (precizēt)]. Šī niecīgā klātbūtne nesasniedz šai mikroskopiskajai metodei paredzēto izšķiršanas robežu."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā ir noteiktas ne vairāk kā 5 daļiņas, kuru izcelsme ir no zivīm. Daļiņas tika identificētas kā … [asaka, zvīņa, skrimslis, muskulis, otolīts, žaunas, cits (precizēt)]. Šī niecīgā klātbūtne nesasniedz šai mikroskopiskajai metodei paredzēto izšķiršanas robežu."

Ja ir veiktas divas noteikšanas:

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā divās noteikšanās ir noteiktas ne vairāk kā 10 daļiņas, kuru izcelsme ir no sauszemes mugurkaulniekiem. Daļiņas tika identificētas kā … [kauls, skrimslis, muskulis, spalva, rags, cits (precizēt)]. Šī niecīgā klātbūtne nesasniedz šai mikroskopiskajai metodei paredzēto izšķiršanas robežu."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā divās noteikšanās ir noteiktas ne vairāk kā 10 daļiņas, kuru izcelsme ir no zivīm. Daļiņas tika identificētas kā … [asaka, zvīņa, skrimslis, muskulis, otolīts, žaunas, cits (precizēt)]. Šī niecīgā klātbūtne nesasniedz šai mikroskopiskajai metodei paredzēto izšķiršanas robežu."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā divās noteikšanās ir noteiktas ne vairāk kā 10 daļiņas, kuru izcelsme ir no sauszemes bezmugurkaulniekiem. Daļiņas tika identificētas kā ... [kutikulas fragmenti, mutes daļas, muskuļi, trahejas struktūras, cits (precizēt)]. Šī niecīgā klātbūtne nesasniedz šai mikroskopiskajai metodei paredzēto izšķiršanas robežu."

Turklāt:

— ja paraugs bijis priekšsijāts, laboratorijas ziņojumā min, kāda veida frakcijā (sijātā frakcijā, granulētā frakcijā vai kodolos) dzīvnieku izcelsmes daļiņas ir noteiktas, jo tikai sijātajā frakcijā noteiktas dzīvnieku izcelsmes daļiņas var liecināt par vidiskas izcelsmes piesārņojumu.

— Ja ir noteiktas tikai tādas dzīvnieku izcelsmes daļiņas, kuras nav klasificējamas ne kā sauszemes mugurkaulnieki, ne zivis (piem., muskuļu šķiedras), ziņojumā norāda, ka ir noteiktas tikai šādas dzīvnieku izcelsmes daļiņas un ka nav iespējams izslēgt, ka to izcelsme ir no sauszemes mugurkaulniekiem.

2.1.5.3. Veicot tikai vienu noteikšanu, ir noteiktas vairāk nekā 5 konkrēta veida dzīvnieku izcelsmes daļiņas, vai divu noteikšanu gadījumā ir noteiktas vairāk nekā 10 konkrēta veida daļiņas:

Ja ir veikta tikai viena noteikšana:

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā ir noteiktas vairāk nekā 5 daļiņas, kuru izcelsme ir no sauszemes mugurkaulniekiem. Daļiņas tika identificētas kā … [kauls, skrimslis, muskulis, spalva, rags, cits (precizēt)]."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā ir noteiktas vairāk nekā piecas daļiņas, kuru izcelsme ir no zivīm. Daļiņas tika identificētas kā … [asaka, zvīņa, skrimslis, muskulis, otolīts, žaunas, cits (precizēt)]."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā ir noteiktas vairāk nekā 5 daļiņas, kuru izcelsme ir no sauszemes bezmugurkaulniekiem. Daļiņas tika identificētas kā … [kutikulas fragmenti, mutes daļas, muskuļi, trahejas struktūras, cits (precizēt)]."

Ja ir veiktas divas noteikšanas:

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā divās noteikšanās ir noteiktas vairāk nekā 10 daļiņas, kuru izcelsme ir no sauszemes mugurkaulniekiem. Daļiņas tika identificētas kā … [kauls, skrimslis, muskulis, spalva, rags, cits (precizēt)]."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā divās noteikšanās ir noteiktas vairāk nekā 10 daļiņas, kuru izcelsme ir no zivīm. Daļiņas tika identificētas kā … [asaka, zvīņa, skrimslis, muskulis, otolīts, žaunas, cits (precizēt)]."

— "Cik bija iespējams saskatīt ar gaismas mikroskopu, iesniegtajā paraugā divās noteikšanās ir noteiktas vairāk nekā 10 daļiņas, kuru izcelsme ir no sauszemes bezmugurkaulniekiem. Daļiņas tika identificētas kā … [kutikulas fragmenti, mutes daļas, muskuļi, trahejas struktūras, cits (precizēt)]."

Turklāt:

— ja paraugs bijis priekšsijāts, laboratorijas ziņojumā min, kāda veida frakcijā (sijātā frakcijā, granulētā frakcijā vai kodolos) dzīvnieku izcelsmes daļiņas ir noteiktas, jo tikai sijātajā frakcijā noteiktas dzīvnieku izcelsmes daļiņas var liecināt par vidiskas izcelsmes piesārņojumu.

— Ja ir noteiktas tikai tādas dzīvnieku izcelsmes daļiņas, kuras nav klasificējamas ne kā sauszemes mugurkaulnieki, ne zivis (piem., muskuļu šķiedras), ziņojumā norāda, ka ir noteiktas tikai šādas dzīvnieku izcelsmes daļiņas un ka nav iespējams izslēgt, ka to izcelsme ir no sauszemes mugurkaulniekiem."