KOMISIJOS ĮGYVENDINIMO REGLAMENTAS (ES) 2022/893

2022 m. birželio 7 d.

kuriuo dėl oficialiai kontrolei taikytinų analizės metodų sausumos bestuburių sudedamosioms dalims aptikti iš dalies keičiamas Reglamento (EB) Nr. 152/2009 VI priedas

(Tekstas svarbus EEE)

EUROPOS KOMISIJA,

atsižvelgdama į Sutartį dėl Europos Sąjungos veikimo,

atsižvelgdama į 2017 m. kovo 15 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentą (ES) 2017/625 dėl oficialios kontrolės ir kitos oficialios veiklos, kuri vykdoma siekiant užtikrinti maisto ir pašarų srities teisės aktų bei gyvūnų sveikatos ir gerovės, augalų sveikatos ir augalų apsaugos produktų taisyklių taikymą, kuriuo iš dalies keičiami Europos Parlamento ir Tarybos reglamentai (EB) Nr. 999/2001, (EB) Nr. 396/2005, (EB) Nr. 1069/2009, (EB) Nr. 1107/2009, (ES) Nr. 1151/2012, (ES) Nr. 652/2014, (ES) 2016/429 ir (ES) 2016/2031, Tarybos reglamentai (EB) Nr. 1/2005 ir (EB) Nr. 1099/2009 bei Tarybos direktyvos 98/58/EB, 1999/74/EB, 2007/43/EB, 2008/119/EB ir 2008/120/EB, ir kuriuo panaikinami Europos Parlamento ir Tarybos reglamentai (EB) Nr. 854/2004 ir (EB) Nr. 882/2004, Tarybos direktyvos 89/608/EEB, 89/662/EEB, 90/425/EEB, 91/496/EEB, 96/23/EB, 96/93/EB ir 97/78/EB bei Tarybos sprendimas 92/438/EEB (Oficialios kontrolės reglamentą) ([1]), ypač į jo 34 straipsnio 6 dalies pirmos pastraipos a punktą,

kadangi:

(1) Komisijos reglamente (EB) Nr. 152/2009 ([2]) nustatyti tyrimų metodai, kuriais remiama oficiali kontrolė, siekiant užtikrinti draudimo naudoti perdirbtus gyvūninius baltymus maistiniams gyvūnams skirtuose pašaruose vykdymą. Tai yra analizės metodai gyvūninėms sudedamosioms dalims aptikti atliekant oficialią pašarų kontrolę, kurie yra aprašyti to reglamento VI priede ir taikomi atliekant šviesos mikroskopijos arba polimerazės grandininės reakcijos (PGR) tyrimus;

(2) Komisijos reglamentu (ES) 2017/893 ([3]) buvo leista naudoti iš ūkinių vabzdžių gautus perdirbtus gyvūninius baltymus akvakultūros gyvūnų pašaruose, o Komisijos reglamentu (ES) 2021/1372 ([4]) – kiaulių ir naminių paukščių pašaruose, tačiau pagal Europos Parlamento ir Tarybos reglamentą (EB) Nr. 999/2001 ([5]) juos vis dar draudžiama naudoti tam tikruose pašaruose, visų pirma atrajotojų pašaruose;

(3) Europos Sąjungos etaloninė gyvūninių baltymų pašaruose tyrimo laboratorija parengė ir patvirtino specialų protokolą, apimantį dvigubo nusodinimo etapą, kuriuo užtikrinama, kad būtų aptinkamos sausumos bestuburių, įskaitant vabzdžius, dalelės, jei jų yra pašarinėse žaliavose, kombinuotuosiuose pašaruose ir premiksuose, pateiktuose laboratoriniams tyrimams. Šis protokolas su šiuo papildomu etapu turėtų būti taikomas vykdant oficialią kontrolę, siekiant patikrinti, ar tinkamai vykdomas draudimas naudoti perdirbtus gyvūninius baltymus iš vabzdžių tam tikruose maistiniams gyvūnams skirtuose pašaruose;

([1]) OL L 95, 2017 4 7, p. 1.

([2]) 2009 m. sausio 27 d. Komisijos reglamentas (EB) Nr. 152/2009, nustatantis oficialiai pašarų kontrolei taikytinus Bendrijos ėminių ėmimo ir analizės metodus (OL L 54, 2009 2 26, p. 1).

([3]) 2017 m. gegužės 24 d. Komisijos reglamentas (ES) 2017/893, kuriuo iš dalies keičiamos Europos Parlamento ir Tarybos reglamento (EB) Nr. 999/2001 I ir IV priedų ir Komisijos reglamento (ES) Nr. 142/2011 X, XIV ir XV priedų nuostatos dėl perdirbtų gyvūninių baltymų (OL L 138, 2017 5 25, p. 92).

([4]) 2021 m. rugpjūčio 17 d. Komisijos reglamentas (ES) 2021/1372, kuriuo dėl draudimo ūkinius neatrajotojus, išskyrus kailinius gyvūnus, šerti gyvūniniais baltymais iš dalies keičiamas Europos Parlamento ir Tarybos reglamento (EB) Nr. 999/2001 IV priedas (OL L 295, 2021 8 18, p. 1).

([5]) 2001 m. gegužės 22 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 999/2001, nustatantis tam tikrų užkrečiamųjų spongiforminių encefalopatijų prevencijos, kontrolės ir likvidavimo taisykles (OL L 147, 2001 5 31, p. 1).

(4) todėl Reglamento (EB) Nr. 152/2009 VI priede pateiktą šviesos mikroskopijos metodo aprašymą reikėtų patikslinti, kad į mėginių, kurie bus tiriami siekiant aptikti sausumos bestuburių sudedamąsias dalis, paruošimo protokolą būtų įtrauktas dvigubo nusodinimo etapas;

(5) todėl Reglamento (EB) Nr. 152/2009 VI priedas turėtų būti atitinkamai iš dalies pakeistas;

(6) šiame reglamente nustatytos priemonės atitinka Augalų, gyvūnų, maisto ir pašarų nuolatinio komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠĮ REGLAMENTĄ:

1 straipsnis

Reglamento (EB) Nr. 152/2009 VI priedas iš dalies keičiamas pagal šio reglamento priedą.

2 straipsnis

Šis reglamentas įsigalioja dvidešimtą dieną po jo paskelbimo *Europos Sąjungos oficialiajame leidinyje*.

Šis reglamentas privalomas visas ir tiesiogiai taikomas visose valstybėse narėse.

Priimta Briuselyje 2022 m. birželio 7 d.

Komisijos vardu
Pirmininkė
Ursula VON DER LEYEN

PRIEDAS

Reglamento (EB) Nr. 152/2009 VI priedas iš dalies keičiamas taip:

1) 1 punktas pakeičiamas taip:

„1. TIKSLAS IR TAIKYMO SRITIS

Gyvūninės sudedamosios dalys pašaruose nustatomos taikant šviesos mikroskopiją arba polimerazės grandininę reakciją (PGR) vadovaujantis šio priedo nuostatomis.

Šie du metodai leidžia aptikti gyvūninės sudedamąsias dalis premiksuose, pašarinėse žaliavose ir kombinuotajame pašare. Tačiau juos taikant tokių sudedamųjų dalių kiekio premiksuose, pašarinėse žaliavose ir kombinuotajame pašare neįmanoma apskaičiuoti. Abiejų metodų aptikimo riba žemesnė nei 0,1 % (m/m);

PGR metodas leidžia nustatyti gyvūninių sudedamųjų dalių premiksuose, pašarinėse žaliavose ir kombinuotajame pašare taksonominę grupę.

Šie metodai taikomi vykdant Europos Parlamento ir Tarybos reglamento (EB) Nr. 999/2001 (*) 7 straipsnio 1 dalyje, to reglamento IV priede ir Europos Parlamento ir Tarybos reglamento (EB) Nr. 1069/2009 (**) 11 straipsnio 1 dalyje nustatytų draudimų taikymo kontrolę.

Atsižvelgiant į tiriamą pašarą, šie metodai gali būti naudojami atskirai arba kartu pagal vieną bendrą tyrimo protokolą, vadovaujantis standartinėmis tyrimo procedūromis, nustatytomis už ES etaloninės gyvūninių baltymų pašaruose tyrimų laboratorijos (toliau – EURL-AP laboratorija) ir paskelbtomis jos svetainėje (***).

_____

(*) 2001 m. gegužės 22 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 999/2001, nustatantis tam tikrų užkrečiamųjų spongiforminių encefalopatijų prevencijos, kontrolės ir likvidavimo taisykles (OL L 147, 2001 5 31, p. 1).

(**) 2009 m. spalio 21 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 1069/2009, kuriuo nustatomos žmonėms vartoti neskirtų šalutinių gyvūninių produktų ir jų gaminių sveikumo taisyklės ir panaikinamas Reglamentas (EB) Nr. 1774/2002 (Šalutinių gyvūninių produktų reglamentas) (OL L 300, 2009 11 14, p. 1).

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

2) 2.1 punktas pakeičiamas taip:

„2.1. **Šviesos mikroskopija**

2.1.1. *Principas*

Gyvūninės sudedamosios dalys, kurių gali būti ištirti atsiųstuose premiksuose, pašarinėse žaliavose ir kombinuotuosiuose pašaruose, identifikuojamos remiantis tipinėmis ir mikroskopiškai identifikuojamomis charakteristikomis, kaip antai raumenų skaidulos ir kitos mėsos dalelės, kremzlės, kaulai, ragai, plaukai, šeriai, bestuburių kutikulės fragmentai, vabzdžių trachėjos dalys, kraujo produktai, pieno globulės, laktozės kristalai, plunksnos, kiaušinių lukštai, žuvų kaulai ir žvynai.

Mikroskopiniai tyrimai atliekami paruošus mėginius nusodinimo būdu.

Mėginiai nusodinami taip:

a) gyvūninėms, išskyrus sausumos bestuburius, sudedamosioms dalims aptikti taikomas vienkartinio nusodinimo tetrachloretilenu (TCE) etapas, išsamiai aprašytas 2.1.3.4.3 punkte;

b) sudedamosioms dalims iš sausumos bestuburių aptikti taikomas dvigubo nusodinimo petroeteriu (PE) ir tetrachloretilenu (TCE) etapas, išsamiai aprašytas 2.1.3.4.4 punkte.

2.1.2. *Reagentai ir įranga*

2.1.2.1. Reagentai

2.1.2.1.1. Koncentravimo medžiaga

— Tetrachloretilenas (lyginamasis svoris – 1,62).

— Petroeteris (PE), virimo temperatūra 40–60 °C (savitasis sunkis 0,65).

2.1.2.1.2. Dažymo reagentas

— Alizarino raudonojo tirpalas (2,5 ml 1 mol/l vandenilio chlorido rūgšties skiedžiama 100 ml vandens ir į šį tirpalą pridedama 200 mg alizarino raudonojo tirpalo).

2.1.2.1.3. Padengimo terpė

— Šarmas (NaOH 2,5 % m/V arba KOH 2,5 % m/V).

— Glicerolis (neskiestas, klampa – 1 490 cP) arba nenuolatinio objektinio stiklelio padengimo terpė, pasižyminti lygiavertėmis savybėmis, skirta paruošti daugkartinio naudojimo objektiniam stikleliui.

— „Norland ® Optical Adhesive 65“ (klampa – 1 200 cP) arba derva, pasižyminti lygiavertėmis savybėmis, skirta paruošti daugkartinio naudojimo objektiniam stikleliui

2.1.2.1.4. Padengimo terpė su dažymo savybėmis

— Liugolio tirpalas (2 g kalio jodido ištirpinama 100 ml vandens ir staigiai kratant pridedama 1 g jodo).

— Cistino reagentas (2 g švino acetato, 10 g NaOH/100 ml vandens).

— Felingo reagentas (paruoštas prieš naudojimą iš dviejų pradinių tirpalų A ir B vienodų dalių (1/1): A tirpalas (6,9 g vario (II) sulfato pentahidrato ištirpinama 100 ml vandens); B tirpalas (34,6 g kalio natrio tartrato tetrahidrato ir 12 g NaOH ištirpinama 100 ml vandens).

— Tetrametilbenzidinas / vandenilio peroksidas (1 g 3,3’,5,5’ tetrametilbenzidino (TMB) ištirpinama 100 ml ledinės acto rūgšties ir 150 ml vandens. Prieš naudojimą 4 šio TMB tirpalo dalys sumaišomos su 1 dalimi 3 % vandenilio peroksido).

2.1.2.1.5. Plovikliai

— Etanolis ≥ 96 % (techninis grynumas).

— Acetonas (techninis grynumas).

2.1.2.1.6. Balinimo reagentas

— Komercinis natrio hipochlorito tirpalas (9–14 % aktyviojo chloro).

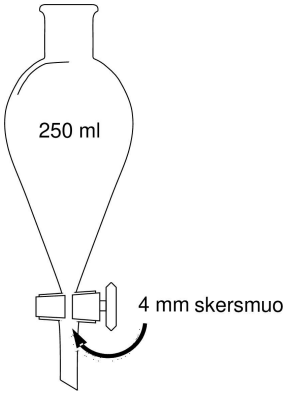
2.1.2.2. Įranga

— Analizės svarstyklės, kurių tikslumas – 0,001 g.

— Smulkinimo įranga: peilis arba rotorinis malūnėlis. Jeigu naudojamas rotorinis malūnėlis, draudžiama naudoti malimo sietus, kurių skersmuo ≤ 0,5 mm.

— Sietai, kurių kvadratinių akučių dydis – 0,25 mm, o plotis – 1 mm. Siekiant išvengti medžiagų nuostolių, sietų skersmuo, išskyrus mėginį, iš anksto nusijojantį sietą, neturi būti didesnis kaip 10 cm. Sietų kalibruoti nereikia.

— Kūginis 250 ml talpos stiklinis dalijamasis piltuvas su čiaupu iš teflono arba nepoliruoto stiklo kūgio apačioje. Čiaupo skersmuo turi būti ne mažesnis kaip 4 mm. Kaip alternatyvą nusodinimo tetrachloretilenu atveju galima naudoti ir nusodinimo menzūrą kūginiu dugnu su sąlyga, kad laboratorija įrodo, jog aptikimo ribos yra lygiavertės gaunamoms kūgio formos stikliniu dalijamuoju piltuvu.



Dalijamasis piltuvas

— Stereomikroskopas, kurio galutinis didinimo intervalas yra ne mažesnis kaip 6,5–40 kartų.

— Sudėtinis mikroskopas, kurio galutinis didinimo intervalas su šviesos lauko praeinamąja šviesa yra mažiausiai 100–400 kartų. Papildomai galima naudoti poliarizuotąją šviesą ir diferencinį interferencinį kontrastą.

— Tipiniai laboratoriniai stikliniai indai

— Objektinio stiklelio paruošimo įranga: tradiciniai mikroskopo stikleliai, tušti stikleliai, dengiamieji stikleliai (20 × 20 mm), pincetai, smulki mentelė.

— Laboratorinė krosnis

— Centrifuga.

— Filtravimo popierius: kokybiškas celiuliozės filtras (porų dydis 4–11 μm).

2.1.3. *Mėginių ėmimas ir mėginių ruošimas*

2.1.3.1. Mėginių ėmimas

Naudojamas reprezentatyvusis mėginys, paimtas pagal I priedo nuostatas.

2.1.3.1.1. Mėginių džiovinimas

Mėginiai, kurių drėgnis didesnis kaip 14 %, prieš apdorojant išdžiovinami pagal III priedą.

2.1.3.1.2. Paruošiamasis mėginių sijojimas:

siekiant surinkti informaciją apie galimą pašarų aplinkos užterštumą, rekomenduojama iš anksto nusijoti 1 mm granulių pavidalo pašarus ir branduolius, o po to paruošti, išanalizuoti ir atskirai pranešti apie dvi gautas frakcijas, kurios turi būti laikomos atskirais mėginiais.

2.1.3.2. Taikytinos atsargumo priemonės

Siekiant išvengti kryžminės laboratorinės taršos, visa daugkartinio naudojimo įranga prieš naudojimą rūpestingai nuvaloma. Prieš valymą išrenkamos dalijamojo piltuvo dalys. Dalijamojo piltuvo dalys ir stikliniai indai pirmiausia išplaunami rankomis, po to – plautuvėje. Sietai nuvalomi kietų šerių šepečiu. Jeigu prieš tai buvo sijojama riebi medžiaga, kaip antai žuvų miltai, pabaigoje sietus rekomenduojama išvalyti acetonu ir suspaustu oru.

2.1.3.3. Mėginių, kurių sudėtyje yra riebalų ar aliejaus, paruošimas

Ruošiant mėginius, kurių sudėtyje yra riebalų, vadovaujamasi šiuo protokolu:

— jeigu riebalai yra kieti, jie šildomi krosnyje tol, kol suskystėja,

— pipete iš mėginio dugno į centrifugavimo mėgintuvėlį perkeliama 40 ml riebalų ar aliejaus,

— mėginys centrifuguojamas 10 min 4 000 sūkių per minutę greičiu,

— jeigu po centrifugavimo riebalai yra kieti, jie šildomi krosnyje tol, kol suskystėja,

— mėginys centrifuguojamas 5 min 4 000 sūkių per minutę greičiu,

— analizės tikslais pusė dekantuotų priemaišų mažu šaukšteliu arba mentele perkeliama ant mikroskopo objektinių stiklelių. Kaip terpę rekomenduojama naudoti glicerolį,

— likusios priemaišos naudojamos ruošiant nuosėdas, kaip aprašyta 2.1.3.4.3 punkto pirmoje įtraukoje.

Tas pats protokolas, išskyrus pirmą ir ketvirtą įtraukas, taikomas ruošiant mėginius, sudarytus iš aliejaus.

2.1.3.4. Mėginių, jei tai ne riebalai ar aliejus, paruošimas

2.1.3.4.1. Mėginio dalijimas ir smulkinimas: analizės tikslais padalijama ir vėliau susmulkinama bent 50 g mėginio.

2.1.3.4.2. Žaliavos paruošimas: paruošiama bent 5 g masės susmulkinto pomėginio dalis. Ji prasijojama pro 0,25 mm akutes, o abi gautos frakcijos ištiriamos.

2.1.3.4.3. Vienkartinis nusodinimas tetrachloretilenu gyvūninėms sudedamosioms dalims, išskyrus sausumos bestuburius, aptikti.

— Nuosėdų ekstrahavimas ir paruošimas:

10 g susmulkinto pomėginio dalis (0,01 g tikslumu) perkeliama į dalijamąjį piltuvą arba nusodinimo menzūrą kūginiu dugnu ir įpilama 50 ml tetrachloretileno. Į piltuvą perkelta dalis negali viršyti 3 g, jeigu tai yra žuvų miltai arba kiti gryni gyvūniniai produktai, mineralinės sudedamosios dalys arba premiksai, iš kurių susidaro daugiau kaip 10 % nuosėdų. Mišinys stipriai kratomas bent 30 s, tada įpilama dar 50 ml tetrachloretileno, kad bet kokios prie piltuvo vidaus prilipusios dalelės būtų švariai nuplautos į indo vidų. Gautas mišinys pastatomas bent 5 minutėms, tada atsukamas čiaupas ir nuosėdos atskiriamos.

Jeigu naudojama nusodinimo menzūra kūginiu dugnu, mišinys energingai maišomas bent 15 s, tada įpilama dar bent 10 ml švaraus TCE, kad bet kokios prie menzūros sienelės prilipusios dalelės būtų švariai nuplautos į indo vidų. Mišinys pastatomas bent 3 minutėms, energingai maišomas bent 15 s, tada įpilama dar bent 10 ml švaraus tetrachloretileno, kad bet kokios prie menzūros sienelės prilipusios dalelės būtų švariai nuplautos į indo vidų. Gautas mišinys paliekamas stovėti ne trumpiau kaip 5 minutėms, tada skysta frakcija pašalinama atsargiai dekantuojant, stengiantis neprarasti nė trupučio nuosėdų.

Nuosėdos surenkamos ant filtravimo popieriaus, įdėto į piltuva, kad būtų galima atskirti likusį tetrachloretileną ir išvengti riebalų nuosėdų susidarymo. Nuosėdos turi būti išdžiovinamos. Nuosėdas rekomenduojama vėliau pasverti (0,001 g tikslumu), kad būtų galima kontroliuoti jų nusodinimo etapą. Galiausiai nuosėdos prasijojamos pro 0,25 mm akutes, o abi gautos frakcijos ištiriamos, išskyrus atvejus, kai sijojimas laikomas nebūtinu.

— Plūdrių ekstrahavimas ir paruošimas:

po to, kai taikant nurodytąjį metodą gaunamos nuosėdos, dalijamajame piltuve turėtų likti dvi fazės: skystoji, sudaryta iš tetrachloretileno, ir kietoji, sudaryta iš plūdriųjų medžiagų. Ši kietoji fazė – tai plūdriai, kurie gaunami atsukus čiaupą ir išpylus iš piltuvo visą tetrachloretileną. Apvertus dalijamąjį piltuvą, plūdriai perkeliami į didelę Petri lėkštelę ir išdžiovinama oro traukos gaubte. Ji prasijojama pro 0,25 mm akutes, o abi gautos frakcijos ištiriamos.

— Dažymo reagentų naudojimas

Kai subjektas ruošia mėginius, siekdamas supaprastinti tinkamą gyvūninių sudedamųjų dalių identifikavimą, jis gali naudoti dažymo reagentus pagal EURL-AP išleistas ir jos svetainėje paskelbtas gaires.

Jeigu nuosėdoms nuspalvinti naudojamas alizarino raudonojo tirpalas, vadovaujamasi šiuo protokolu:

— išdžiovintos nuosėdos perkeliamos į stiklinį mėgintuvėlį ir dukart praskalaujamos maždaug 5 ml etanolio (kiekvieną sykį 30 s naudojamas sūkurinis maišytuvas, po to leidžiama tirpalui 1 min. 30 s nusistovėti ir jis išpilamas),

— nuosėdos nubalinamos pridedant ne mažiau kaip 1 ml natrio hipochlorito tirpalo. Reakcija turėtų trukti 10 min. Mėgintuvėlis pripildomas vandens, nuosėdoms leidžiama 2–3 min. nusistovėti, po to vanduo ir suspenduotosios dalelės atsargiai išpilami,

— nuosėdos darkart kelis kartus praskalaujamos 10 ml vandens (30 s naudojamas sūkurinis maišytuvas, po to leidžiama joms nusistovėti ir kaskart išpilamas vanduo),

— pridedama 2–10 lašų alizarino raudonojo tirpalo, tada mišinys išmaišomas sūkuriniu maišytuvu. Reakcija turėtų trukti 30 s, tada nusispalvinusios nuosėdos dukart praskalaujamos maždaug 5 ml etanolio ir vieną kartą acetonu (kaskart 30 s naudojamas sūkurinis maišytuvas, po to leidžiama tirpikliui apie 1 min. nusistovėti ir jis išpilamas),

— nuspalvintos nuosėdos išdžiovinamos.

2.1.3.4.4. Dvigubas nusodinimas petroeteriu / tetrachloretilenu sausumos bestuburių sudedamosioms dalims aptikti.

Visi etapai atliekami kūginiame 250 ml stikliniame dalijamajame piltuve, kaip aprašyta 2.1.2.2 punkto ketvirtoje įtraukoje.

— Į dalijamąjį piltuvą įpilama 10 g (0,01 g tikslumu) susmulkinto pomėginio dalis, su kuria pirmiausia atliekamas vienkartinis nusodinimas tetrachloretilenu, kaip aprašyta 2.1.3.4.3 punkte, įskaitant nuosėdų atgavimą ant filtro popieriaus, įdėto į piltuvą. Šios nuosėdos gali būti naudojamos kaip pagal 2.1.3.4.3 punktą gautos nuosėdos.

— Mažas kartu su nuosėdomis nudrenuoto tetrachloretileno tūris turi būti perpilamas į matavimo cilindrą. Atsukus dalijamojo piltuvo čiaupą, matavimo cilindras turi būti pripildomas, kol gaunama 30 ml TCE. Pasiekus šį tūrį, čiaupas užsukamas.

— Šis surinktas TCE tūris pakeičiamas į dalijamąjį piltuvą įpilant 30 ml petroeterio, kurio virimo temperatūra 40–60 °C. Dalijamojo piltuvo turinys gerai sumaišomas, kad būtų gautas 30 % petroeterio ir 70 % tetrachloretileno mišinys (apytikslis tankis – 1,26 $g.cm^{-3}$). Leidžiama medžiagai nusistovėti 10 minučių. Atsiskirs dvi naujos frakcijos: antrosios nuosėdos ir galutiniai plūdriai (< 1,26 $g.cm^{-3}$). Antrosios nuosėdos turi būti atgautos Petri lėkštelėje (arba ant į piltuvą įdėto filtravimo popieriaus) laikant čiaupą atsuktą tol, kol tik truputis tirpiklių mišinio ir galutiniai plūdriai liks dalijamajame piltuve. Likęs skystis ir galutiniai plūdriai surenkami atskirai ant filtravimo popieriaus, kuris dedamas į piltuvą. Dalijamojo piltuvo siena turi būti nuplauta petroeteriu, kad būtų galima surinkti visą medžiagą iš galutinių plūdrių. Galutiniai plūdriai paliekami išdžiūti. Galiausiai nuosėdos prasijojamos pro 0,25 mm akutes, o abi gautos frakcijos ištiriamos, išskyrus atvejus, kai sijojimas laikomas nebūtinu.

2.1.4. *Mikroskopinis tyrimas*

2.1.4.1. Objektinio stiklelio paruošimas

Mikroskopo objektiniai stikleliai ruošiami naudojant nuosėdas ir, priklausomai nuo subjekto pasirinkimo, plūdrius arba žaliavą. Prireikus tik sausumos bestuburių sudedamosioms dalims aptikti taip pat ruošiami stikleliai iš galutinių plūdrių, gautų pagal 2.1.3.4.4 punktą. Paruošiamos abi gautos frakcijos (smulkioji ir rupioji). Frakcijų dalys ant objektinių stiklelių turi būti būdingos visai frakcijai.

Siekiant įvykdyti visus 2.1.4.2 punkte nustatytus tyrimo protokolo reikalavimus, paruošiama užtektinai objektinių stiklelių.

Mikroskopo objektiniai stikleliai naudojami kartu su tinkama terpe, vadovaujantis EURL-AP nustatytomis ir jos svetainėje paskelbtomis standartinėmis tyrimo procedūromis. Objektiniai stikleliai uždengiami dengiamaisiais stikleliais.

2.1.4.2. Stebėjimo protokolas, leidžiantis aptikti gyvūninės sudedamąsias dalis kombinuotajame pašare, pašarinėje žaliavoje ir premiksuose.

Paruošti mikroskopiniai objektiniai stikleliai stebimi pagal 1 ir 2 schemose pateiktus stebėjimo protokolus.

Pro sudėtinį mikroskopą stebimos nuosėdos ir, priklausomai nuo subjekto pasirinkimo, plūdriai arba žaliavos. Be to, sausumos bestuburių sudedamosioms dalims aptikti taip pat atliekami galutinių plūdrių, gautų pagal 2.1.3.4.4 punktą, stebėjimai pagal 3 schemą. Rupiosios frakcijos gali būti tiriamos stereomikroskopu, o ne tik sudėtiniu mikroskopu Kiekvienas stiklelis iš pagrindų patikrinamas nustatant įvairius didinimo lygius. Tikslūs paaiškinimai, kaip naudotis protokolais, išsamiai išdėstomi EURL-AP parengtose ir jos interneto svetainėje skelbiamose standartinėse tyrimo procedūrose.

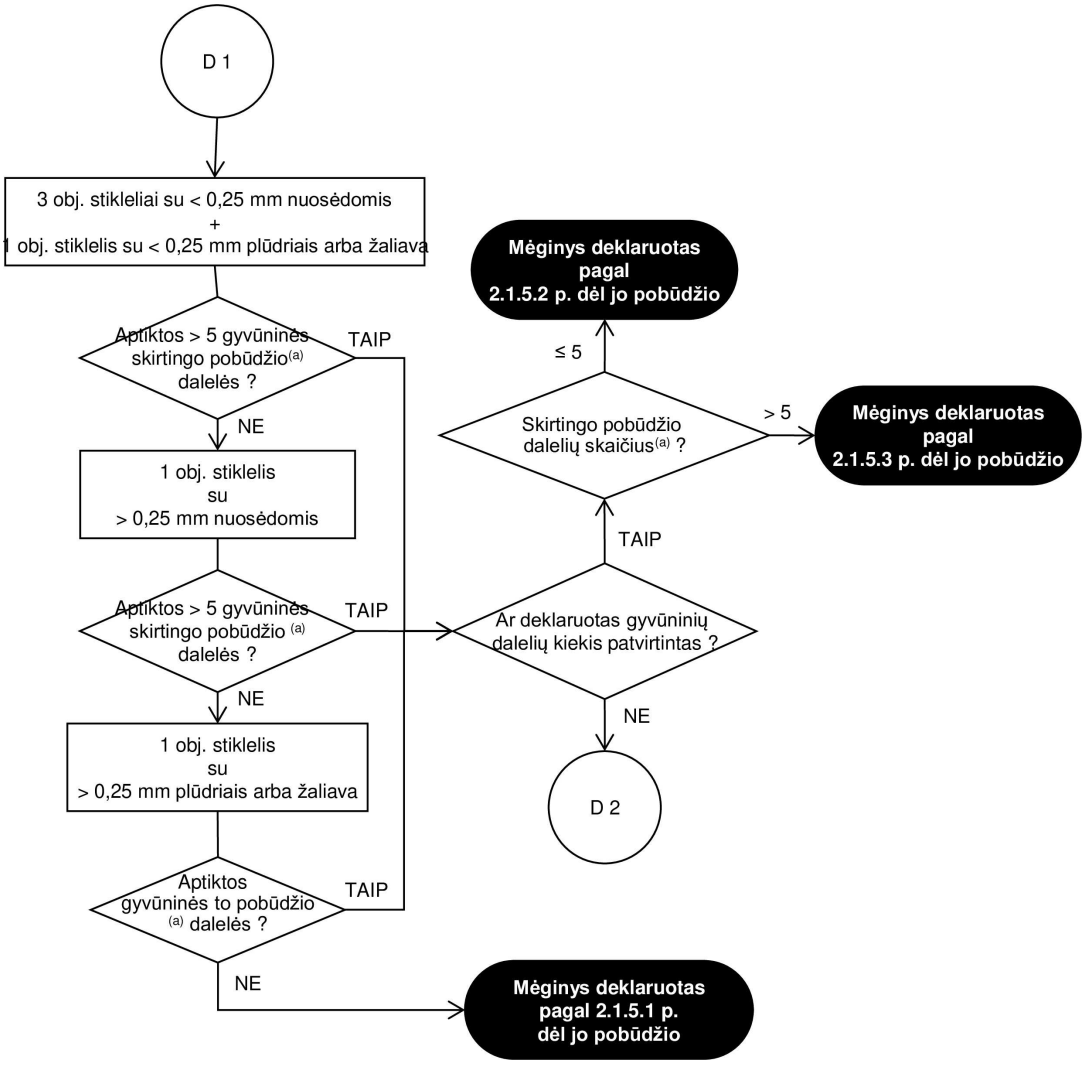
Griežtai paisoma, kiek mažiausiai objektinių stiklelių turi būti patikrinta kiekvienu stebėjimo protokole numatytu etapu, nebent visos frakcijų medžiagos nepakaktų, kad būtų galima laikytis nustatyto objektinių stiklelių skaičiaus, pavyzdžiui, kai negaunama nuosėdų. Kietųjų dalelių skaičiui registruoti per vieną tyrimą naudojami ne daugiau kaip 6 stikleliai.

Kai naudojant plūdrius ar žaliavą paruošiami papildomi stikleliai naudojant specifinę, dažymo savybių turinčią terpę, kaip nustatyta 2.1.2.1.4 punkte, siekiant toliau apibūdinti daleles (pvz., plunksnų, plaukų, raumenų ar kraujo daleles), kurios buvo aptiktos ant stiklelių, paruoštų naudojant kitas terpes, kaip nustatyta 2.1.2.1.3 punkte, dalelių skaičius skaičiuojamas remiantis ne daugiau kaip 6 stikleliais, įskaitant papildomus stiklelius su specifiškesne terpe. Nustatant kito pobūdžio daleles (sausumos stuburinių gyvūnų ir žuvų) neatsižvelgiama į papildomus stiklelius, paruoštus iš galutinių plūdrių, kaip aprašyta 2.1.3.4.4 punkte, siekiant aptikti sausumos bestuburių sudedamąsias dalis.

Kad būtų lengviau nustatyti dalelių pobūdį ir kilmę, subjektas gali naudoti tokias pagalbines priemones, kaip sprendimų patvirtinimo sistemos, vaizdo rinkiniai ir etaloniniai mėginiai.

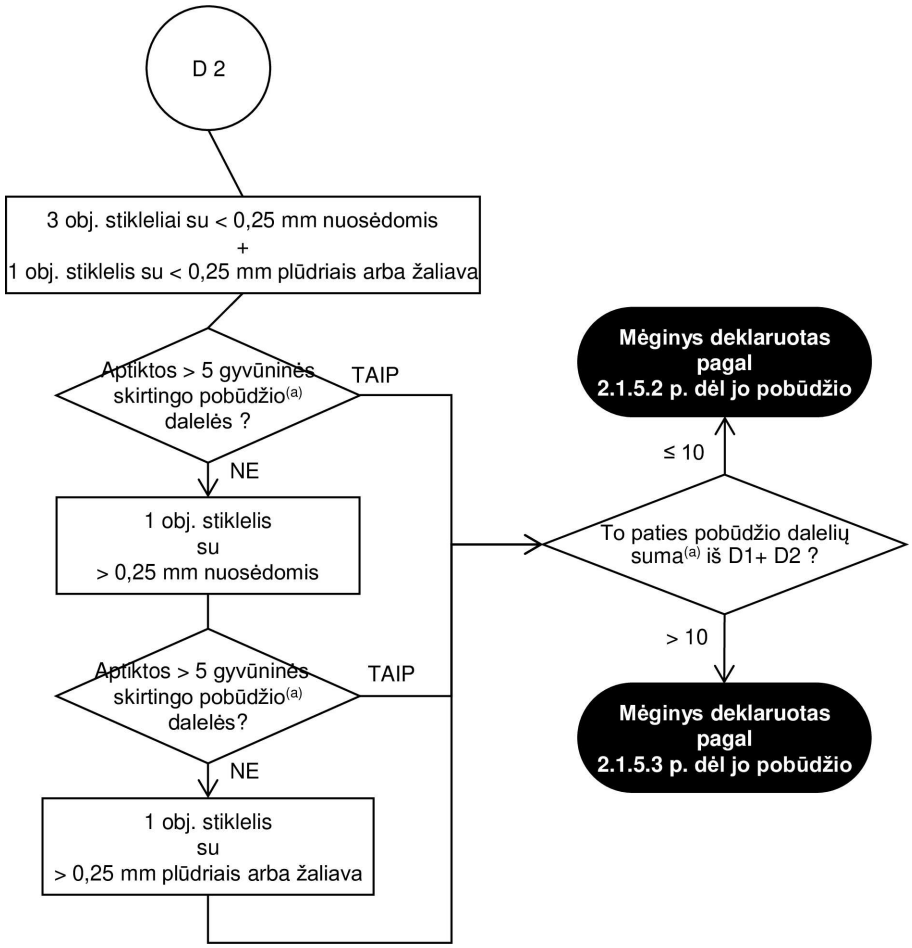
1 schema

Stebėjimo protokolas gyvūninėms dalelėms, išskyrus sausumos bestuburius, kombinuotuosiuose pašaruose, pašarinėse žaliavose ir premiksuose aptikti po vienkartinio nusodinimo tetrachloretilenu nustatant pirmą kartą



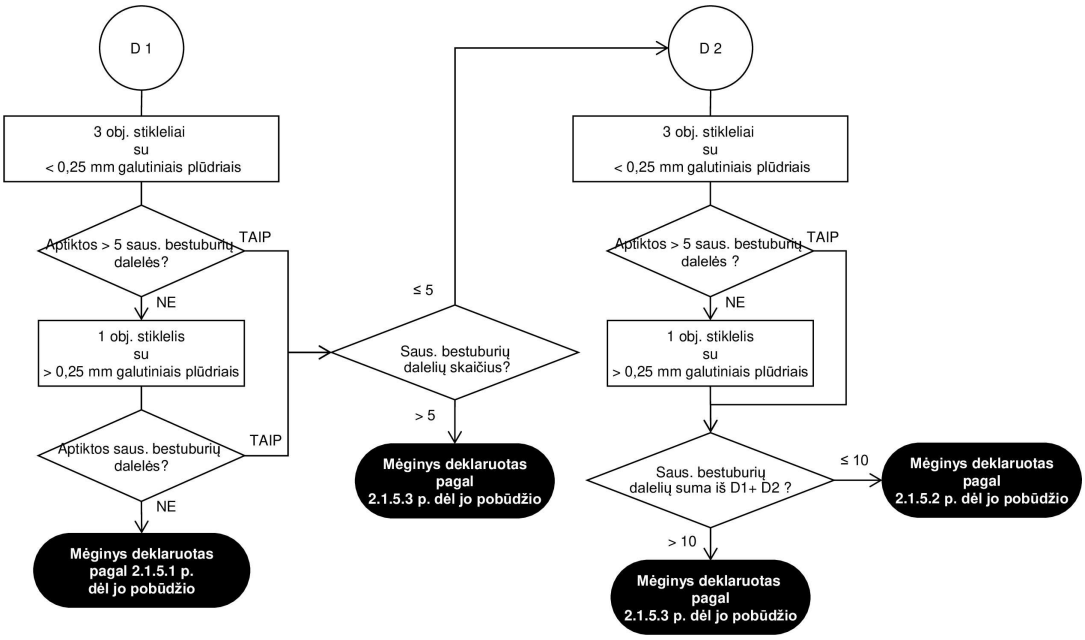
2 schema

Stebėjimo protokolas gyvūninėms dalelėms, išskyrus sausumos bestuburius, kombinuotuosiuose pašaruose, pašarinėse žaliavose ir premiksuose aptikti po vienkartinio nusodinimo tetrachloretilenu nustatant antrą kartą



3 schema

Stebėjimo protokolas sausumos bestuburių gyvūninėms sudedamosioms dalims kombinuotuosiuose pašaruose, pašarinėse žaliavose ir premiksuose aptikti po dvigubo nusodinimo petroeteriu / tetrachloretilenu



2.1.4.3. Tyrimų skaičius

Atliekami skirtingų pomėginių (kiekviena po 50 g) tyrimai.

Jei po pirmojo tyrimo, atlikto pagal 1 arba 3 schemoje pateiktą stebėjimo protokolą, neaptinkama jokių gyvūninių dalelių, papildomas tyrimas nebūtinas, o tyrimo rezultatai pranešami vartojant 2.1.5.1 punkte nustatytus terminus.

Jeigu po pirmojo tyrimo, atlikto pagal 1 schemoje pateiktą stebėjimo protokolą, aptinkama viena ar kelios tam tikro pobūdžio gyvūninės dalelės (t. y. sausumos stuburinių gyvūnų arba žuvų), o rastų dalelių pobūdis patvirtina deklaruotą mėginio kiekį, antras tyrimas nebūtinas. Jeigu, atlikus pirmąjį tyrimą, aptiktų nurodyto pobūdžio dalelių kiekis yra didesnis nei 5, apie tyrimo rezultatus pranešama nurodant dalelių pobūdį ir vartojant terminus pagal 2.1.5.3 punkto nuostatas. Priešingu atveju tyrimo rezultatai pranešami nurodant dalelių pobūdį ir vartojant terminus pagal 2.1.5.2 punkto nuostatas.

Jei po pirmojo tyrimo, atlikto pagal 3 schemoje pateiktą stebėjimo protokolą, nustatomos daugiau ne 5 sausumos bestuburių gyvūnų dalelės, papildomas tyrimas nebūtinas, o tyrimo rezultatai pranešami vartojant 2.1.5.3 punkte nustatytus terminus.

Visais kitais atvejais, įskaitant atvejus, kai laboratorijai kiekis nebuvo deklaruotas, atliekamas naujo pomėginio antras tyrimas. Jeigu, atlikus antrąjį tyrimą pagal 2 arba 3 schemoje nurodytą stebėjimo protokolą, per du tyrimus aptiktų nurodyto pobūdžio dalelių suma yra didesnė nei 10, apie tyrimo rezultatus pranešama nurodant dalelių pobūdį ir vartojant terminus pagal 2.1.5.3 punkto nuostatas. Priešingu atveju tyrimo rezultatai pranešami nurodant dalelių pobūdį ir vartojant terminus pagal 2.1.5.2 punkto nuostatas.

2.1.5. *Rezultatų užrašymas*

Pranešdama rezultatus, laboratorija nurodo, su kokios rūšies medžiaga atliktas tyrimas (nuosėdos, plūdriai, galutiniai plūdriai ar žaliavos). Ataskaitoje turi būti aiškiai nurodyta, kiek tyrimų atlikta ir ar frakcijos nebuvo sijojamos prieš ruošiant stiklelius pagal 2.1.3.4.3 punkto pirmos įtraukos trečią pastraipą arba 2.1.3.4.4 punkto trečią įtrauką.

Laboratorijos ataskaitoje pateikiama informacija bent apie sudedamąsias dalis, gautas iš sausumos stuburinių gyvūnų ir žuvų.

Informacija apie skirtingus atvejus gali būti pranešta toliau nurodytais būdais.

2.1.5.1. Neaptikta jokių nurodyto pobūdžio gyvūninių dalelių:

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, pateiktame mėginyje nebuvo aptikta jokių sausumos stuburinių gyvūnų kilmės dalelių,“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, pateiktame mėginyje nebuvo aptikta jokių žuvų kilmės dalelių.“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, pateiktame mėginyje nebuvo aptikta jokių sausumos bestuburių kilmės dalelių.“

2.1.5.2. 1–5 konkretaus pobūdžio gyvūninių dalelės, aptiktos atlikus tik vieną tyrimą, arba 1–10 konkretaus pobūdžio dalelių, aptiktų atliekant du tyrimus (nustatytų kietųjų dalelių skaičius yra mažesnis už sprendimo ribą, nustatytą ES etaloninės gyvūninių baltymų pašaruose tyrimo laboratorijos (EURL-AP) standartinėse tyrimo procedūrose (STP) ir paskelbtą jos interneto svetainėje):

Kai atliktas tik vienas tyrimas:

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, pateiktame mėginyje nebuvo aptikta daugiau nei 5 sausumos stuburinių gyvūnų kilmės dalelių. Dalelės buvo identifikuotos kaip [kaulų, kremzlių, raumenų, plaukų, ragų, kita (prašau nurodyti)] …dalelės. Šiam mikroskopinio tyrimo metodui nustatytas nedidelis aptinkamų dalelių skaičius, mažesnis už sprendimo ribą.“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, pateiktame mėginyje nebuvo aptikta daugiau nei 5 žuvų kilmės dalelių. Dalelės buvo identifikuotos kaip [žuvies kaulų, žuvų žvynų, kremzlių, raumenų, otolitų, žiaunų, kita (prašau nurodyti)] ...dalelės. Šiam mikroskopinio tyrimo metodui nustatytas nedidelis aptinkamų dalelių skaičius, mažesnis už sprendimo ribą.“

Kai atlikti du tyrimai:

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, atlikus du tyrimus pateiktame mėginyje nebuvo aptikta daugiau nei 10 sausumos stuburinių gyvūnų kilmės dalelių. Dalelės buvo identifikuotos kaip [kaulų, kremzlių, raumenų, plaukų, ragų, kita (prašau nurodyti)] …dalelės. Šiam mikroskopinio tyrimo metodui nustatytas nedidelis aptinkamų dalelių skaičius, mažesnis už sprendimo ribą.“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, atlikus du tyrimus pateiktame mėginyje nebuvo aptikta daugiau nei 10 žuvų kilmės dalelių.“ Dalelės buvo identifikuotos kaip [žuvies kaulų, žuvų žvynų, kremzlių, raumenų, otolitų, žiaunų, kita (prašau nurodyti)] ...dalelės. Šiam mikroskopinio tyrimo metodui nustatytas nedidelis aptinkamų dalelių skaičius, mažesnis už sprendimo ribą.“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, atlikus du tyrimus pateiktame mėginyje nebuvo aptikta daugiau nei 10 sausumos bestuburių kilmės dalelių. Dalelės buvo identifikuotos kaip [kutikulės fragmentai, burnos dalys, raumenys, trachėjos dalys, kita (prašau nurodyti)] …dalelės. Šiam mikroskopinio tyrimo metodui nustatytas nedidelis aptinkamų dalelių skaičius, mažesnis už sprendimo ribą.“

Papildomai:

— Kai atliekamas paruošiamasis mėginių sijojimas, laboratorijos ataskaitoje nurodoma, kurioje frakcijoje (prasijotoje, granuliuotoje ar branduolių) buvo aptikta gyvūninių dalelių, kadangi jų aptikimas tik prasijotoje frakcijoje gali būti aplinkos užteršimo požymis.

— Kai aptinkamos tik gyvūnų dalelės, kurių negalima priskirti nei sausumos stuburinių gyvūnų, nei žuvų kategorijai (pvz., raumenų skaidulos), ataskaitoje nurodoma, kad aptiktos tik tokios gyvūnų dalelės ir kad negalima atmesti galimybės, jog jos gautos iš sausumos stuburinių gyvūnų.

2.1.5.3. Daugiau kaip 5 konkretaus pobūdžio gyvūninės dalelės, aptiktos atliekant tik vieną tyrimą, arba daugiau kaip 10 konkretaus pobūdžio dalelių, aptiktų atliekant du tyrimus:

Kai atliktas tik vienas tyrimas:

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, pateiktame mėginyje buvo aptiktos daugiau nei 5 sausumos stuburinių gyvūnų kilmės dalelės. Dalelės buvo identifikuotos kaip [kaulų, kremzlių, raumenų, plaukų, ragų, kita (prašau nurodyti)] …dalelės.“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, pateiktame mėginyje buvo aptiktos daugiau nei 5 žuvų kilmės dalelės. Dalelės buvo identifikuotos kaip [žuvies kaulų, žuvų žvynų, kremzlių, raumenų, otolitų, žiaunų, kita (prašau nurodyti)] ...dalelės.“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, pateiktame mėginyje buvo aptiktos daugiau nei 5 sausumos bestuburių kilmės dalelės. Dalelės buvo identifikuotos kaip [kutikulės fragmentai, burnos dalys, raumenys, trachėjos dalys, kita (prašau nurodyti)] …dalelės.“

Kai atlikti du tyrimai:

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, atlikus du tyrimus pateiktame mėginyje aptikta daugiau nei 10 sausumos stuburinių gyvūnų kilmės dalelių. Dalelės buvo identifikuotos kaip [kaulų, kremzlių, raumenų, plaukų, ragų, kita (prašau nurodyti)] …dalelės.“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, atlikus du tyrimus pateiktame mėginyje aptikta daugiau nei 10 žuvų kilmės dalelių. Dalelės buvo identifikuotos kaip [žuvies kaulų, žuvų žvynų, kremzlių, raumenų, otolitų, žiaunų, kita (prašau nurodyti)] ...dalelės.“

— „Kiek buvo įmanoma įžiūrėti šviesos mikroskopu, atlikus du tyrimus pateiktame mėginyje aptikta daugiau nei 10 sausumos bestuburių kilmės dalelių. Dalelės buvo identifikuotos kaip [kutikulės fragmentai, burnos dalys, raumenys, trachėjos dalys, kita (prašau nurodyti)] …dalelės.“

Papildomai:

— Kai atliekamas paruošiamasis mėginių sijojimas, laboratorijos ataskaitoje nurodoma, kurioje frakcijoje (prasijotoje, granuliuotoje ar branduolių) buvo aptikta gyvūninių dalelių, kadangi jų aptikimas tik prasijotoje frakcijoje gali būti aplinkos užteršimo požymis.

— Kai aptinkamos tik gyvūnų dalelės, kurių negalima priskirti nei sausumos stuburinių gyvūnų, nei žuvų kategorijai (pvz., raumenų skaidulos), ataskaitoje nurodoma, kad aptiktos tik tokios gyvūnų dalelės ir kad negalima atmesti galimybės, jog jos gautos iš sausumos stuburinių gyvūnų.“