# VYKONÁVACIE NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2022/893

## zo 7. júna 2022,

## ktorým sa mení príloha VI k nariadeniu (ES) č. 152/2009, pokiaľ ide o metódy analýzy na zisťovanie zložiek suchozemských bezstavovcov na účely úradnej kontroly krmív

**(Text s významom pre EHP)**

EURÓPSKA KOMISIA,

so zreteľom na Zmluvu o fungovaní Európskej únie,

so zreteľom na nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 z 15. marca 2017 o úradných kontrolách a iných úradných činnostiach vykonávaných na zabezpečenie uplatňovania potravinového a krmivového práva a pravidiel pre zdravie zvierat a dobré životné podmienky zvierat, pre zdravie rastlín a pre prípravky na ochranu rastlín, o zmene nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001, (ES) č. 396/2005, (ES) č. 1069/2009, (ES) č. 1107/2009, (EÚ) č. 1151/2012, (EÚ) č. 652/2014, (EÚ) 2016/429 a (EÚ) 2016/2031, nariadení Rady (ES) č. 1/2005 a (ES) č. 1099/2009 a smerníc Rady 98/58/ES, 1999/74/ES, 2007/43/ES, 2008/119/ES a 2008/120/ES a o zrušení nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004 a (ES) č. 882/2004, smerníc Rady 89/608/EHS, 89/662/EHS, 90/425/EHS, 91/496/EHS, 96/23/ES, 96/93/ES a 97/78/ES a rozhodnutia Rady 92/438/EHS (nariadenie o úradných kontrolách) ([1]), a najmä na jeho článok 34 ods. 6 prvý pododsek písm. a),

keďže:

(1) Nariadením Komisie (ES) č. 152/2009 ([2]) sa stanovujú testovacie metódy používané na podporu úradných kontrol s cieľom presadzovať zákaz používania spracovaných živočíšnych bielkovín v krmivách pre zvieratá určené na výrobu potravín. Patria sem metódy analýzy na stanovenie zložiek živočíšneho pôvodu na účely úradnej kontroly krmív, ktoré sú opísané v prílohe VI k uvedenému nariadeniu a ktoré sa vykonávajú pomocou svetelnej mikroskopie alebo polymerázovej reťazovej reakcie (PCR).

(2) Používanie spracovaných živočíšnych bielkovín získaných z chovaného hmyzu v krmive pre živočíchy akvakultúry bolo povolené nariadením Komisie (EÚ) 2017/893 ([3]) a v krmive pre ošípané a hydinu nariadením Komisie (EÚ) 2021/1372 ([4]), ale v určitých krmivách, najmä v krmive prežúvavcov, je podľa nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 ([5]) stále zakázané.

(3) Referenčné laboratórium Európskej únie pre živočíšne proteíny v krmivách vypracovalo a validovalo osobitný protokol vrátane kroku dvojitej sedimentácie, ktorým sa zabezpečuje zisťovanie častíc zo suchozemských bezstavovcov vrátane hmyzu, ak sa nachádzajú v kŕmnych surovinách, kŕmnych zmesiach a premixoch predložených na laboratórne testovanie. Uvedený protokol doplnený o tento dodatočný krok by sa mal používať v rámci úradných kontrol na overenie správneho presadzovania zákazu používania spracovaných živočíšnych bielkovín hmyzu v určitých krmivách pre zvieratá určené na výrobu potravín.

([1]) Ú. v. EÚ L 95, 7.4.2017, s. 1.

([2]) Nariadenie Komisie (ES) č. 152/2009 z 27. januára 2009, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na účely úradných kontrol krmív (Ú. v. EÚ L 54, 26.2.2009, s. 1).

([3]) Nariadenie Komisie (EÚ) 2017/893 z 24. mája 2017, ktorým sa menia prílohy I a IV k nariadeniu Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 a prílohy X, XIV a XV k nariadeniu Komisie (EÚ) č. 142/2011, pokiaľ ide o ustanovenia o spracovaných živočíšnych bielkovinách (Ú. v. EÚ L 138, 25.5.2017, s. 92).

([4]) Nariadenie Komisie (EÚ) 2021/1372 zo 17. augusta 2021, ktorým sa mení príloha IV k nariadeniu Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001, pokiaľ ide o zákaz kŕmenia neprežúvavých hospodárskych zvierat s výnimkou zvierat chovaných na kožušinu živočíšnymi bielkovinami (Ú. v. EÚ L 295, 18.8.2021, s. 1).

([5]) Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 z 22. mája 2001, ktorým sa stanovujú pravidlá prevencie, kontroly a eradikácie niektorých prenosných spongiformných encefalopatií (Ú. v. ES L 147, 31.5.2001, s. 1).

(4) Opis metódy svetelnej mikroskopie stanovený v prílohe VI k nariadeniu (ES) č. 152/2009 by sa preto mal upraviť tak, aby protokol na prípravu vzoriek, ktoré sa majú testovať na účely zisťovania zložiek suchozemských bezstavovcov, zahŕňal krok dvojitej sedimentácie.

(5) Príloha VI k nariadeniu (ES) č. 152/2009 by sa preto mala zodpovedajúcim spôsobom zmeniť.

(6) Opatrenia stanovené v tomto nariadení sú v súlade so stanoviskom Stáleho výboru pre rastliny, zvieratá, potraviny a krmivá,

PRIJALA TOTO NARIADENIE:

*Článok 1*

Príloha VI k nariadeniu (ES) č. 152/2009 sa mení v súlade s prílohou k tomuto nariadeniu.

*Článok 2*

Toto nariadenie nadobúda účinnosť dvadsiatym dňom po jeho uverejnení v *Úradnom vestníku Európskej únie*.

Toto nariadenie je záväzné v celom rozsahu a priamo uplatniteľné vo všetkých členských štátoch.

V Bruseli 7. júna 2022

*Za Komisiu*
*predsedníčka*
Ursula VON DER LEYEN

*PRÍLOHA*

Príloha VI k nariadeniu (ES) č. 152/2009 sa mení takto:

1. Bod 1 sa nahrádza takto:

„1. ÚČEL A ROZSAH

Stanovenie zložiek živočíšneho pôvodu v krmivách sa uskutočňuje pomocou svetelnej mikroskopie alebo polymerázovej reťazovej reakcie (*polymerase chain reaction* – PCR) v súlade s ustanoveniami uvedenými v tejto prílohe.

Tieto dve metódy umožňujú zistiť prítomnosť zložiek živočíšneho pôvodu v premixoch, kŕmnych surovinách a kŕmnych zmesiach. Neumožňujú však výpočet množstva takýchto zložiek v premixoch, kŕmnych surovinách a kŕmnych zmesiach. Obe metódy majú detekčný limit nižší ako 0,1 % (hm. %).

Metóda PCR umožňuje identifikáciu taxonomickej skupiny zložiek živočíšneho pôvodu, ktoré sú prítomné v premixoch, kŕmnych surovinách a kŕmnych zmesiach.

Tieto metódy sa použijú na kontrolu uplatňovania zákazov stanovených v článku 7 ods. 1 nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 (*), v prílohe IV k uvedenému nariadeniu a v článku 11 ods. 1 nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 (**).

V závislosti od druhu testovaného krmiva možno tieto metódy použiť v rámci jedného operačného protokolu, a to buď jednotlivo, alebo vo vzájomnej kombinácii, v súlade so štandardnými operačnými postupmi (*standard operating procedures* – SOP), ktoré stanovilo a na svojej internetovej stránke zverejnilo Referenčné laboratórium EÚ pre živočíšne proteíny v krmivách (EURL-AP) (***).

_____

(*) Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001 z 22. mája 2001, ktorým sa stanovujú pravidlá prevencie, kontroly a eradikácie niektorých prenosných spongiformných encefalopatií (Ú. v. ES L 147, 31.5.2001, s. 1).

(**) Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 z 21. októbra 2009, ktorým sa ustanovujú zdravotné predpisy týkajúce sa vedľajších živočíšnych produktov a odvodených produktov neurčených na ľudskú spotrebu a ktorým sa zrušuje nariadenie (ES) č. 1774/2002 (nariadenie o vedľajších živočíšnych produktoch) (Ú. v. EÚ L 300, 14.11.2009, s. 1).

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

2. Bod 2.1 sa nahrádza takto:

„2.1. **Svetelná mikroskopia**

2.1.1. *Princíp*

Zložky živočíšneho pôvodu, ktoré sa môžu vyskytovať v premixoch, kŕmnych surovinách a kŕmnych zmesiach odoslaných na analýzu, sa zisťujú na základe typických a mikroskopicky identifikovateľných vlastností ako svalové vlákna a iné časti mäsa, chrupavky, kosti, rohovina, srsť, štetiny, kutikulárne fragmenty bezstavovcov, tracheálny systém hmyzu, výrobky z krvi, guľôčky mlieka, kryštály laktózy, perie, vaječné škrupiny, rybie kosti a šupiny.

Mikroskopické skúmanie sa vykonáva po príprave vzoriek sedimentáciou.

Vzorky sa podrobia sedimentačnému kroku takto:

a) na zisťovanie zložiek živočíšneho pôvodu iných ako suchozemské bezstavovce sa použije krok jednej sedimentácie tetrachlóretylénu (TCE), ako sa podrobne opisuje v bode 2.1.3.4.3;

b) na zisťovanie zložiek suchozemských bezstavovcov sa použije krok dvojitej sedimentácie petroléteru/tetrachlóretylénu (PE/TCE), ako sa podrobne opisuje v bode 2.1.3.4.4.

2.1.2. *Činidlá a vybavenie*

2.1.2.1. Činidlá

2.1.2.1.1. Zahusťovacie činidlo

— Tetrachlóretylén (špecifická hustota 1,62),

— Teplota varu petroléteru (PE) 40 – 60 °C (špecifická hustota 0,65).

2.1.2.1.2. Vyfarbovacie činidlo

— Roztok alizarínovej červene (zrieďte 2,5 ml 1M kyseliny chlorovodíkovej v 100 ml vody a do tohto roztoku pridajte 200 mg alizarínovej červene).

2.1.2.1.3. Preparačné činidlá

— Lúh (NaOH 2,5 % hm./obj. alebo KOH 2,5 % hm./obj.),

— Glycerol (neriedený, viskozita: 1 490 cP) alebo preparačné činidlo s rovnocennými vlastnosťami na prípravu natívneho preparátu,

— Norland ® Optical Adhesive 65 (viskozita: 1 200 cP) alebo živica s rovnocennými vlastnosťami na prípravu trvalého preparátu.

2.1.2.1.4. Preparačné činidlá s vyfarbovacími vlastnosťami

— Lugolov roztok (rozpustite 2 g jodidu draselného v 100 ml vody a pridajte 1 g jódu za stáleho pretrepávania),

— Cystínové činidlo (2 g octanu olovnatého, 10 g NaOH/100 ml vody),

— Fehlingovo činidlo [pripravuje sa pred použitím z dvoch rovnako veľkých častí (1/1) z dvoch roztokov A a B: roztok A (6,9 g pentahydrátu síranu meďnatého rozpustite v 100 ml destilovanej vody); roztok B (34,6 g vínanu sodnodraselného tetrahydrátu a 12 g NaOH sa rozpustí v 100 ml destilovanej vody)],

— Tetrametylbenzidín/peroxid vodíka. (1 g 3,3‘,5,5’ tetrametylbenzidínu sa rozpustí v 100 ml ľadovej kyseliny octovej a v 150 ml vody. Pred použitím zmiešajte 4 diely roztoku tetrametylbenzidínu s 1 dielom 3 %-ného peroxidu vodíka).

2.1.2.1.5. Oplachovacie prípravky

— Etanol ≥ 96 % (technický),

— Acetón (technický).

2.1.2.1.6. Bieliaci prostriedok

— Obchodný roztok chlórnanu sodného (9 – 14 % aktívneho chlóru).

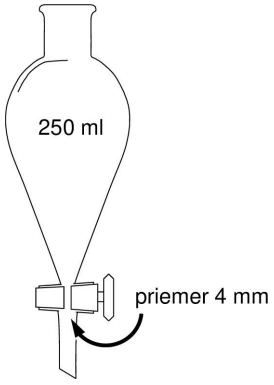
2.1.2.2. Vybavenie

— Analytická váha s presnosťou 0,001 g,

— Mlecie zariadenie: nôž alebo rotorový mlyn. Ak sa používa rotorový mlyn, nesmú sa v ňom používať sitá s veľkosťou ôk ≤ 0,5 mm,

— Sitá so štvorcovými okami so šírkou 0,25 mm a 1 mm. S výnimkou predbežného preosievania vzorky nesmie priemer sít presahovať 10 cm, aby sa zabránilo strate materiálu. Kalibrácia sít sa nevyžaduje,

— Sklenený kónický oddeľovací lievik s objemom 250 ml s teflónovým alebo so skleneným zabrúseným uzatváracím kohútikom na spodku kužeľa. Prierez uzatváracieho kohútika v otvorenej polohe je ≥ 4 mm. Alternatívne sa v prípade len jednej sedimentácie TCE môže použiť sklenená kónická sedimentačná kadička, ak laboratórium preukázalo, že hodnoty medznej detekcie zodpovedajú hodnotám získaným pri použití skleneného kónického oddeľovacieho lievika,




*Oddeľovací lievik*

— Stereoskopický mikroskop umožňujúci konečný rozsah zväčšenia minimálne 6,5× až 40×,

— Kombinovaný mikroskop umožňujúci konečný rozsah zväčšenia minimálne 100× až 400× v jasnom poli prechádzajúceho svetla. Ďalej možno použiť polarizované svetlo a diferenciálny interferenčný kontrast,

— Bežné laboratórne sklo,

— Pomôcky na prípravu podložného sklíčka: klasické podložné sklíčka, podložné sklíčka s jamkou, krycie sklíčka (20×20 mm), pinzety, laboratórna špachtlička,

— Laboratórna pec,

— Odstredivka,

— Filtračný papier: kvalitný celulózový filter (veľkosť pórov 4 – 11 μm).

2.1.3. *Odber a príprava vzoriek*

2.1.3.1. Odber vzoriek

Používa sa reprezentatívna vzorka odobraná v súlade s prílohou I.

2.1.3.1.1. Sušenie vzoriek

Vzorky s obsahom vlhkosti > 14 % sa pred manipuláciou vysušia v súlade s prílohou III.

2.1.3.1.2. Predbežné preosievanie vzoriek

S cieľom zhromaždiť informácie o možnej kontaminácii krmiva z okolitého prostredia sa odporúča vopred preosiať granulované a jadrové krmivo sitom s veľkosťou ôk 1 mm a následne pripraviť, analyzovať a osobitne nahlasovať dve vzniknuté frakcie, ktoré sa musia považovať za samostatné vzorky.

2.1.3.2. Preventívne opatrenia, ktoré sa majú prijať

Všetko vybavenie určené na viacnásobné použitie sa pred použitím dôkladne vyčistí, čím sa zabráni krížovej kontaminácii v laboratóriu. Pred čistením sa oddeľovací lievik rozoberie na jednotlivé časti. Jednotlivé časti oddeľovacieho lievika a skleneného vybavenia sa vopred umyjú ručne a následne sa vložia do umývacieho zariadenia. Sitá sa čistia kefou s pevnými syntetickými štetinami. Po preosiatí materiálu s obsahom tuku, ako je napr. rybia múčka, sa na záver odporúča očistiť sitá acetónom a stlačeným vzduchom.

2.1.3.3. Príprava vzoriek pozostávajúcich z tukov alebo olejov

Na analýzu vzoriek pozostávajúcich z tukov sa používa tento protokol:

— ak je tuk tuhej konzistencie, ohrieva sa v rúre, kým sa neroztopí,

— použitím pipety sa odoberie 40 ml tuku zo spodnej časti vzorky a prenesie sa do odstredivkovej skúmavky,

— vzorka sa odstreďuje počas 10 minút pri 4 000 ot/min.,

— ak je tuk po odstredení tuhý, ohrieva sa v rúre, kým sa neroztopí,

— odstreďovanie sa opakuje počas 5 minút pri 4 000 ot/min.,

— pomocou laboratórnej lyžičky alebo špachtle sa polovica dekantovaných nečistôt prenesie na mikroskopické podložné sklíčka na preskúmanie. Ako preparačné činidlo sa odporúča glycerol,

— zostávajúce nečistoty sa použijú na prípravu sedimentu, ako je opísané v bode 2.1.3.4.3 v prvej zarážke.

Ten istý protokol, s výnimkou prvej a štvrtej zarážky, sa použije na prípravu vzoriek pozostávajúcich z oleja.

2.1.3.4. Príprava iných vzoriek ako tuky alebo oleje

2.1.3.4.1. Odber podvzoriek a mletie: z aspoň 50 g vzorky sa pripravia podvzorky s cieľom vykonať analýzu a následne sa zomelú.

2.1.3.4.2. Príprava suroviny: pripraví sa dávka aspoň 5 g rozomletej podvzorky. Preoseje sa sitom s veľkosťou ôk 0,25 mm a tieto dve vzniknuté frakcie sa zanalyzujú.

2.1.3.4.3. Jedna sedimentácia TCE na zisťovanie zložiek živočíšneho pôvodu iných ako suchozemské bezstavovce.

— Extrakcia a príprava sedimentu:

do oddeľovacieho lievika alebo do kónickej sedimentačnej kadičky sa naváži dávka s hmotnosťou 10 g (s presnosťou na 0,01 g) rozomletej podvzorky a pridá sa 50 ml TCE. V prípade rybej múčky alebo iných výrobkov čisto živočíšneho pôvodu, minerálnych zložiek alebo premixov, ktoré vytvárajú viac ako 10 % sedimentu, sa dávka navážená do lievika obmedzí na 3 g. Zmes sa dôkladne pretrepáva počas aspoň 30 s a v priebehu oplachovania vnútorného povrchu oddeľovacieho lievika na účely odstránenia akýchkoľvek priľnutých pevných častíc sa opatrne pridáva ďalších 50 ml TCE. Vzniknutá zmes sa ponechá usadzovať počas aspoň piatich minút, kým sa sediment oddelí otvorením uzatváracieho kohútika.

Ak sa používa kónická sedimentačná kadička, musí sa zmes premiešavať aspoň počas 15 s a všetky pevné častice, ktoré priľnú na stene sedimentačnej kadičky, je nutné z vnútorného povrchu opatrne opláchnuť použitím aspoň 10 ml čistého TCE. Zmes sa ponechá stáť počas troch minút a následne sa opäť premieša počas 15 s a všetky pevné častice, ktoré priľnú na stene sedimentačnej kadičky, je nutné z vnútorného povrchu opatrne opláchnuť použitím aspoň 10 ml čistého TCE. Vzniknutá zmes sa ponechá usadzovať aspoň počas piatich minút a následne sa pomocou dekantácie tekutá frakcia opatrne odstráni a vyleje, pričom sa dbá na to, aby nedošlo k vyliatiu sedimentu.

Sediment sa zachytáva na filtračnom papieri umiestnenom do lievika, aby sa umožnilo oddelenie zostávajúceho TCE a zároveň zabránilo usadzovaniu tuku do sedimentu. Sediment sa vysuší. Odporúča sa následne odvážiť sediment (s presnosťou na 0,001 g) s cieľom kontrolovať krok sedimentácie. Napokon sa sediment preoseje sitom s veľkosťou ôk 0,25 mm a dve vzniknuté frakcie sa zanalyzujú, pokiaľ sa nepovažuje za potrebné ďalšie preosievanie.

— Extrakcia a príprava flotátu:

po odobratí sedimentu podľa uvedenej metódy by v oddeľovacom lieviku mali zostať dve fázy: tekutá, ktorú tvorí TCE, a pevná, vytvorená z plávajúceho materiálu. Pevnou zložkou je flotát, ktorý je nutné odobrať tak, že sa z lievika otvorením uzatváracieho kohútika úplne vypustí TCE. Obrátením oddeľovacieho lievika sa flotát premiestni na veľkú Petriho misku a vysuší sa vzduchom v laboratórnom digestore. Preoseje sa sitom s veľkosťou ôk 0,25 mm a tieto dve vzniknuté frakcie sa zanalyzujú.

— Použitie vyfarbovacích činidiel:

osoba vykonávajúca analýzu môže na uľahčenie správnej identifikácie zložiek živočíšneho pôvodu použiť pri príprave vzoriek vyfarbovacie činidlá v súlade s pokynmi, ktoré stanovilo a na svojej internetovej stránke zverejnilo Referenčné laboratórium EÚ pre živočíšne proteíny v krmivách (EURL-AP).

Ak sa na zafarbenie sedimentu použije roztok alizarínovej červene, použije sa tento protokol:

— vysušený sediment sa premiestni do sklenenej skúmavky a dvakrát sa opláchne asi 5 ml etanolu (vždy sa použije počas 30 s magnetické miešadlo, rozpúšťadlo sa nechá usadiť počas 1 min. 30 s a vyleje sa),

— sediment sa vybieli pridaním najmenej 1 ml roztoku hypochloritu sodného. Umožní sa priebeh reakcie počas 10 minút. Skúmavka sa naplní vodou, sediment sa nechá počas dvoch až troch minút usadiť a voda so suspendovanými časticami sa opatrne vyleje,

— sediment sa dvakrát opláchne približne 10 ml destilovanej vody (vždy sa počas 30 s použije magnetické miešadlo, zmes sa nechá usadiť a vyleje sa destilovaná voda),

— pridá sa 2 až 10 kvapiek roztoku alizarínovej červene a zmes sa za použitia magnetického miešadla rozmixuje. Reakcia sa ponechá prebiehať počas 30 s a zafarbený sediment sa dvakrát opláchne asi 5 ml etanolu a následne jedenkrát acetónom (vždy sa počas 30 s použije magnetické miešadlo, rozpúšťadlo sa nechá usadiť – asi 1 min. – a vyleje sa),

— zafarbený sediment sa vysuší.

2.1.3.4.4. Dvojitá sedimentácia PE/TCE na zisťovanie zložiek suchozemských bezstavovcov.

Všetky kroky sa vykonávajú v sklenenom kónickom oddeľovacom lieviku s objemom 250 ml, ako je opísané v bode 2.1.2.2 vo štvrtej zarážke.

— Do oddeľovacieho lievika sa naváži dávka s hmotnosťou 10 g (s presnosťou na 0,01 g) rozomletej podvzorky a najprv sa podrobí jednej sedimentácii TCE opísanej v bode 2.1.3.4.3 vrátane odobratia sedimentu na filtračnom papieri umiestnenom na lieviku. Tento sediment sa môže použiť ako sediment získaný z bodu 2.1.3.4.3.

— Malý objem TCE, ktorý vytečie spolu so sedimentom, sa premiestni do odmerného valca. Otvorením uzatváracieho kohútika oddeľovacieho lievika sa odmerný valec ďalej naplní až do získania 30 ml TCE. Keď sa dosiahne tento objem, uzatvárací kohútik sa zatvorí.

— Tento zachytený objem TCE sa nahradí pridaním objemu 30 ml petroléteru s teplotou varu 40 – 60 °C do oddeľovacieho lievika. Obsah oddeľovacieho lievika sa dôkladne premieša, aby sa získala zmes 30 % PE/70 % TCE (s hustotou približne 1,26 $g.cm^{-3}$). Materiál sa nechá usadzovať 10 minút. Oddelia sa dve nové frakcie: druhý sediment a konečný flotát (< 1,26 $g.cm^{-3}$). Druhý sediment sa odoberie pomocou Petriho misky (alebo na filtračnom papieri umiestnenom na lieviku) otvorením uzatváracieho kohútika, kým v oddeľovacom lieviku nezostane len troška rozpustenej zmesi a konečný flotát. Zvyšná kvapalina a konečný flotát sa zozbierajú oddelene na filtračnom papieri umiestnenom na lieviku. Stena oddeľovacieho lievika sa opláchne pomocou PE, aby sa zozbieral všetok materiál z konečného flotátu. Konečný flotát sa nechá vysušiť. Konečný flotát sa preoseje sitom s veľkosťou ôk 0,25 mm a dve vzniknuté frakcie sa zanalyzujú na účely zisťovania zložiek suchozemských bezstavovcov, pokiaľ sa nepovažuje za potrebné ďalšie preosievanie.

2.1.4. *Mikroskopické skúmanie*

2.1.4.1. Príprava podložných sklíčok

Mikroskopické podložné sklíčka sa pripravia zo sedimentu a, podľa úvahy osoby vykonávajúcej analýzu, buď z flotátu, alebo zo suroviny. Podľa potreby a len na účely zisťovania zložiek suchozemských bezstavovcov sa podložné sklíčka pripravia aj z konečného flotátu získaného podľa opisu v bode 2.1.3.4.4. Pripravia sa dve vzniknuté frakcie (jemná a hrubá). Testovacie dávky frakcií nanesené na podložné sklíčka by mali svojím pomerom zodpovedať celej frakcii.

Na účely uskutočnenia úplného skúšobného protokolu stanoveného v bode 2.1.4.2 sa pripraví dostatočný počet podložných sklíčok.

Mikroskopické podložné sklíčka sa zalejú primeraným preparačným činidlom v súlade so štandardnými operačnými postupmi, ktoré stanovilo a na svojej internetovej stránke zverejnilo EURL-AP. Podložné sklíčka sa zakryjú krycími sklíčkami.

2.1.4.2. Vývojový diagram pozorovania na účely zisťovania živočíšnych častíc v krmnych zmesiach, krmných surovinách a premixoch

Pripravené mikroskopické podložné sklíčka sa pozorujú v súlade s vývojovými diagramami pozorovania, ktoré sú uvedené v schémach č. 1 a č. 2.

Mikroskopické pozorovania sa uskutočňujú pomocou kombinovaného mikroskopu, pričom sa pozoruje sediment a podľa úvahy osoby vykonávajúcej analýzu buď na flotáte, alebo na surovine. Okrem toho sa na účely zisťovania zložiek suchozemských bezstavovcov vykonajú pozorovania aj na konečnom flotáte získanom podľa opisu v bode 2.1.3.4.4 v súlade so schémou č. 3. Pre hrubšie frakcie možno okrem kombinovaného mikroskopu použiť aj stereoskopický mikroskop. Celá plocha podložného sklíčka sa preskúma pri rôznom zväčšení. Presné vysvetlenia, ako používať vývojové diagramy, sú podrobne opísané v SOP, ktoré stanovilo a na svojom webovom sídle uverejnilo EURL-AP.

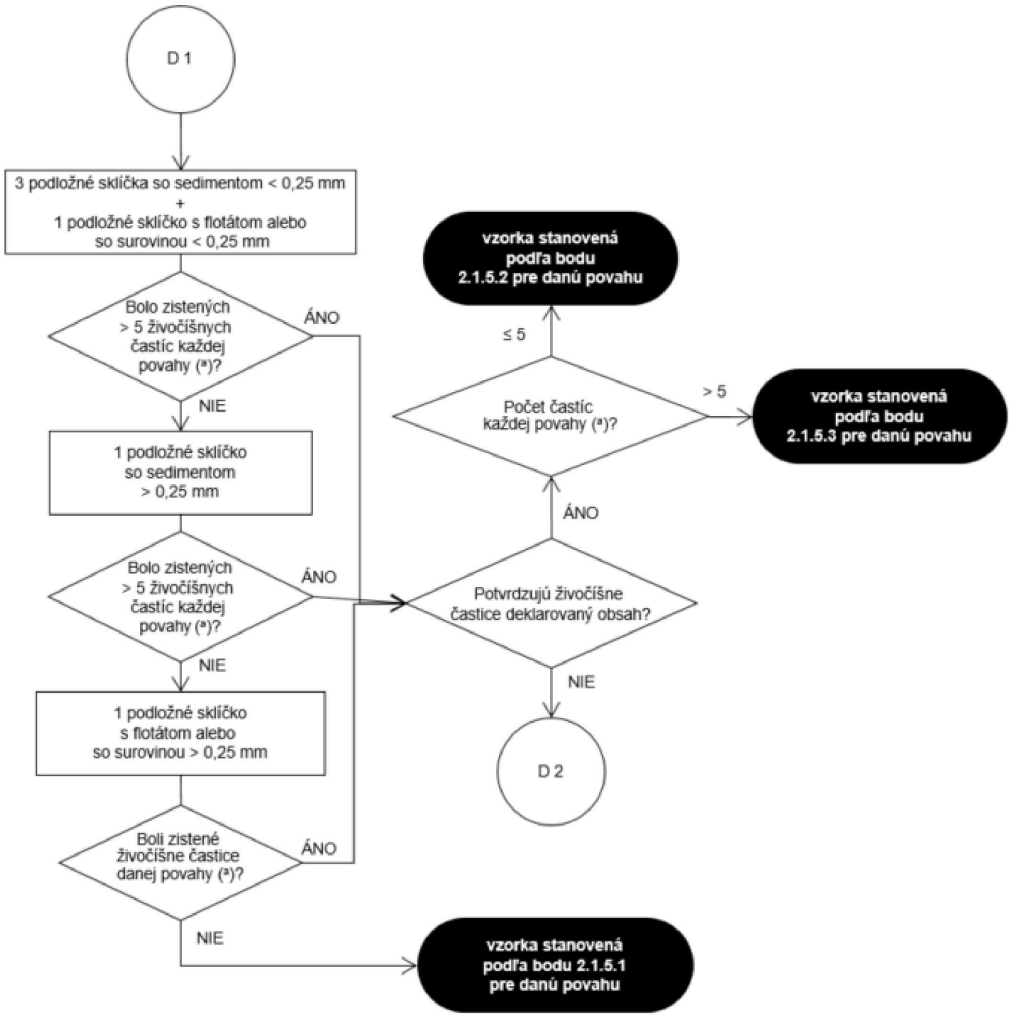
Minimálny počet podložných sklíčok, ktoré sa majú pozorovať, treba dôsledne dodržať v každom kroku vývojového diagramu pozorovania s výnimkou prípadu, keď celý materiál frakcie neumožňuje dosiahnutie stanoveného počtu podložných sklíčok, napríklad ak sa nezíska žiadny sediment. Na zaznamenanie počtu častíc sa použije najviac 6 podložných sklíčok na jednotlivé stanovenia.

V prípade, že sa na flotáte alebo surovine pripravia ďalšie podložné sklíčka s použitím špecifickejšieho preparačného činidla s vyfarbovacími vlastnosťami, ako sa opisuje v bode 2.1.2.1.4, s cieľom podrobnejšie charakterizovať štruktúry (napr. častice peria, srsti, svalov alebo krvi), ktoré boli zistené na podložných sklíčkach pripravených s použitím iných preparačných činidiel, ako sa opisuje v bode 2.1.2.1.3, počet častíc sa počíta na základe najviac 6 podložných sklíčok na jednotlivé stanovenia vrátane dodatočných podložných sklíčok so špecifickejším preparačným činidlom. Dodatočné podložné sklíčka pripravené z konečného flotátu získaného podľa opisu v bode 2.1.3.4.4 na účely zisťovania zložiek suchozemských bezstavovcov sa nezohľadňujú pri identifikácii iných povál (suchozemských stavovcov a rýb).

Osoba vykonávajúca pozorovanie môže na účely uľahčenia identifikácie povahy a pôvodu častíc využiť podporné nástroje, ako sú napr. podporné systémy na rozhodovanie, knižnice snímok a referenčné vzorky.

*Schéma č. 1*

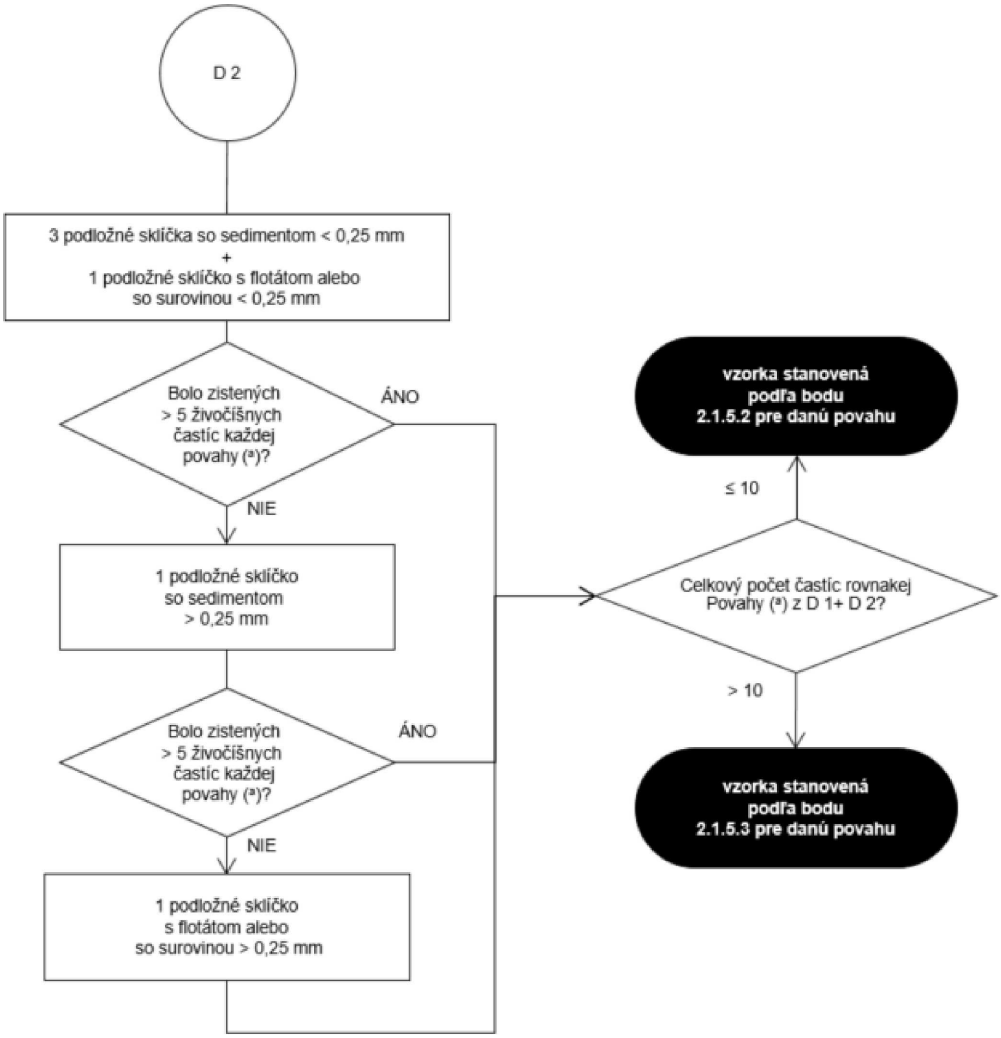
**Vývojový diagram pozorovania po jednej sedimentácii TCE na účely zisťovania živočíšnych častíc iných ako zo suchozemských bezstavovcov v kŕmnych zmesiach, kŕmnych surovinách a premixoch pre prvé stanovenie**




(„D 1" a „D 2" znamenajú prvé a druhé stanovenie; (a): suchozemské stavovce, ryby)

*Schéma č. 2*

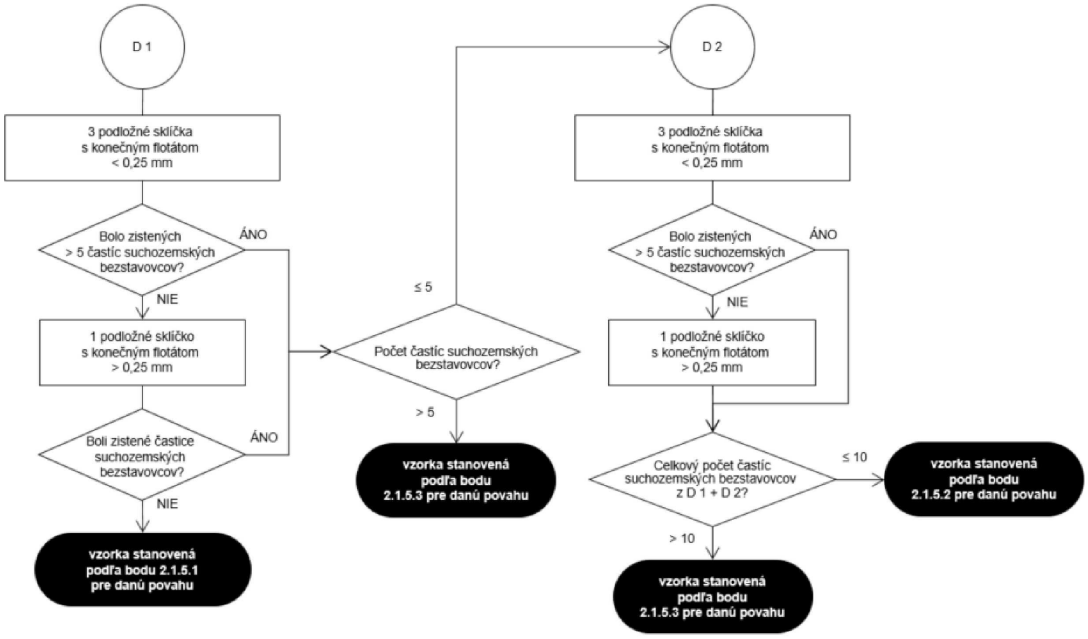
**Vývojový diagram pozorovania po jednej sedimentácii TCE na účely zisťovania živočíšnych častíc iných ako zo suchozemských bezstavovcov v kŕmnych zmesiach, kŕmnych surovinách a premixoch pre druhé stanovenie**




(„D 1" a „D 2" znamenajú prvé a druhé stanovenie; (a): suchozemské stavovce, ryby)

*Schéma č. 3*

**Vývojový diagram pozorovania po dvojitej sedimentácii PE/TCE na účely zisťovania zložiek suchozemských bezstavovcov v kŕmnych zmesiach, kŕmnych surovinách a premixoch**




(„D 1" a „D 2" znamenajú prvé a druhé stanovenie)

2.1.4.3. Počet stanovení

Stanovenia sa vykonávajú na rôznych podvzorkách, pričom každá z nich má hmotnosť 50 g.

Ak sa po prvom stanovení, ktoré sa vykonalo v súlade s vývojovým diagramom pozorovania uvedeným v schéme č. 1, alebo podľa potreby v schéme č. 3, nezistili žiadne živočíšne častice, ďalšie stanovenie nie je potrebné a výsledok analýzy sa nahlasuje s použitím znenia stanoveného v bode 2.1.5.1.

Ak sa po prvom stanovení, ktoré sa vykonalo v súlade s vývojovým diagramom pozorovania uvedeným v schéme č. 1, zistila jedna alebo viaceré živočíšne častice danej povahy (t. j. suchozemské stavovce alebo ryby) a povaha zistených častíc potvrdí deklarovaný obsah vzorky, druhé stanovenie nie je potrebné. Ak je počet živočíšnych častíc danej povahy zistený počas prvého stanovenia vyšší ako 5, za každú živočíšnu povahu sa nahlasuje výsledok analýzy s použitím znenia stanoveného v bode 2.1.5.3. Inak sa výsledok analýzy nahlasuje za každú živočíšnu povahu s použitím znenia stanoveného v bode 2.1.5.2.

Ak sa po prvom stanovení, ktoré sa vykonalo v súlade s vývojovým diagramom pozorovania uvedeným v schéme č. 3, zistil počet častíc suchozemských bezstavovcov vyšší ako 5, druhé stanovenie nie je potrebné a výsledok analýzy sa nahlasuje s použitím znenia stanoveného v bode 2.1.5.3.

Vo všetkých ostatných prípadoch vrátane prípadov, keď laboratóriu nebol deklarovaný obsah, sa vykoná druhé stanovenie z novej podvzorky. Ak je po druhom stanovení, ktoré sa vykonalo v súlade s vývojovým diagramom pozorovania uvedeným v schéme č. 2, alebo podľa potreby v schéme č. 3, celkový počet živočíšnych častíc danej povahy zistený počas dvoch stanovení vyšší ako 10, za každú živočíšnu povahu sa nahlasuje výsledok analýzy s použitím znenia stanoveného v bode 2.1.5.3. Inak sa výsledok analýzy nahlasuje za každú živočíšnu povahu s použitím znenia stanoveného v bode 2.1.5.2.

2.1.5. *Vyjadrenie výsledkov*

Pri nahlasovaní výsledkov laboratórium uvedie druh materiálu, na ktorom sa analýza uskutočnila (sediment, flotát, konečný flotát alebo surovina). V správe sa jasne uvedie počet vykonaných stanovení a či sa nevykonalo preosievanie frakcií pred prípravou podložných sklíčok v súlade s bodom 2.1.3.4.3 prvou zarážkou tretím odsekom alebo s bodom 2.1.3.4.4 treťou zarážkou.

Laboratórna správa musí obsahovať aspoň informáciu o prítomnosti zložiek pochádzajúcich zo suchozemských stavovcov a z rýb.

Jednotlivé situácie sa oznamujú takto:

2.1.5.1. Nebola zistená žiadna častica živočíšneho pôvodu danej povahy:

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke nezistila žiadna častica pochádzajúca zo suchozemských stavovcov.“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke nezistila žiadna častica pochádzajúca z rýb.“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke nezistila žiadna častica pochádzajúca zo suchozemských bezstavovcov.“

2.1.5.2. V prípade vykonania len jedného stanovenia bolo zistených 1 až 5 živočíšnych častíc danej povahy, alebo v prípade dvoch stanovení bolo zistených 1 až 10 živočíšnych častíc danej povahy [počet zistených častíc je nižší ako rozhodovací limit stanovený v SOP, ktoré stanovilo a na svojom webovom sídle uverejnilo EURL-AP]:

Ak bolo vykonané len jedno stanovenie:

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke nezistilo viac ako 5 častíc zo suchozemských stavovcov. V prípade zistených častíc išlo o ... [kosť, chrupavku, sval, srsť, rohovinu, iné (podľa možnosti spresnite)]. Táto nízka miera prítomnosti častíc je pod rozhodovacím limitom stanoveným pre mikroskopickú metódu.“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke nezistilo viac ako 5 častíc z rýb. V prípade zistených častíc išlo o … [rybie kosti, šupiny, chrupavku, sval, otolit, žiabre, iné (podľa možnosti spresnite)]. Táto nízka miera prítomnosti častíc je pod rozhodovacím limitom stanoveným pre mikroskopickú metódu.“

Ak boli vykonané dve stanovenia:

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke v rámci dvoch stanovení nezistilo viac ako 10 častíc zo suchozemských stavovcov. V prípade zistených častíc išlo o ... [kosť, chrupavku, sval, srsť, rohovinu, iné (podľa možnosti spresnite)]. Táto nízka miera prítomnosti častíc je pod rozhodovacím limitom stanoveným pre mikroskopickú metódu.“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke v rámci dvoch stanovení nezistilo viac ako 10 častíc z rýb. V prípade zistených častíc išlo o … [rybie kosti, šupiny, chrupavku, sval, otolit, žiabre, iné (podľa možnosti spresnite)]. Táto nízka miera prítomnosti častíc je pod rozhodovacím limitom stanoveným pre mikroskopickú metódu.“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke v rámci dvoch stanovení nezistilo viac ako 10 častíc zo suchozemských bezstavovcov. V prípade zistených častíc išlo o ... [kutikulárne fragmenty, ústne ústrojenstvo, svaly, tracheálne systémy, iné (podľa možnosti spresnite)]. Táto nízka miera prítomnosti častíc je pod rozhodovacím limitom stanoveným pre mikroskopickú metódu.“

Dodatočne:

— Ak sa použilo predbežné preosievanie vzorky, uvádza sa v laboratórnej správe frakcia (preosiata frakcia, granulovaná frakcia alebo jadrové krmivo), v ktorej boli zistené živočíšne častice, keďže zistenie živočíšnych častíc iba v prípade preosievanej frakcie môže byť ukazovateľom kontaminácie z okolitého prostredia.

— Ak sa zistili len živočíšne častice, ktoré nemožno klasifikovať ani ako suchozemské stavovce, ani ako ryby (napr. svalové vlákna), v správe sa uvedie, že boli zistené len takéto živočíšne častice a že nemožno vylúčiť, že pochádzajú zo suchozemských stavovcov.

2.1.5.3. V prípade vykonania len jedného stanovenia bolo zistených viac ako 5 živočíšnych častíc danej povahy, alebo v prípade dvoch stanovení bolo zistených viac ako 10 živočíšnych častíc danej povahy:

Ak bolo vykonané len jedno stanovenie:

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke zistilo viac ako 5 častíc zo suchozemských stavovcov. V prípade zistených častíc išlo o ... [kosť, chrupavku, sval, srsť, rohovinu, iné (podľa možnosti spresnite)].“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke zistilo viac ako 5 častíc z rýb. V prípade zistených častíc išlo o … [rybie kosti, šupiny, chrupavku, sval, otolit, žiabre, iné (podľa možnosti spresnite)].“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke zistilo viac ako 5 častíc zo suchozemských bezstavovcov. V prípade zistených častíc išlo o ... [kutikulárne fragmenty, ústne ústrojenstvo, svaly, tracheálne systémy, iné (podľa možnosti spresnite)].“

Ak boli vykonané dve stanovenia:

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke v rámci dvoch stanovení zistilo viac ako 10 častíc zo suchozemských stavovcov. V prípade zistených častíc išlo o ... [kosť, chrupavku, sval, srsť, rohovinu, iné (podľa možnosti spresnite)].“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke v rámci dvoch stanovení zistilo viac ako 10 častíc z rýb. V prípade zistených častíc išlo o … [rybie kosti, šupiny, chrupavku, sval, otolit, žiabre, iné (podľa možnosti spresnite)].“

— „Na základe skúmania svetelným mikroskopom sa v predloženej vzorke v rámci dvoch stanovení zistilo viac ako 10 častíc zo suchozemských bezstavovcov. V prípade zistených častíc išlo o ... [kutikulárne fragmenty, ústne ústrojenstvo, svaly, tracheálne systémy, iné (podľa možnosti spresnite)].“

Dodatočne:

— Ak sa použilo predbežné preosievanie vzorky, uvádza sa v laboratórnej správe frakcia (preosiata frakcia, granulovaná frakcia alebo jadrové krmivo), v ktorej boli zistené živočíšne častice, keďže zistenie živočíšnych častíc iba v prípade preosievanej frakcie môže byť ukazovateľom kontaminácie z okolitého prostredia.

— Ak sa zistili len živočíšne častice, ktoré nemožno klasifikovať ani ako suchozemské stavovce, ani ako ryby (napr. svalové vlákna), v správe sa uvedie, že boli zistené len takéto živočíšne častice a že nemožno vylúčiť, že pochádzajú zo suchozemských stavovcov.“