

Reglugerð framkvæmdastjórnarinnar (ESB) nr. 51/2013

2013/EES/56/16

frá 16. janúar 2013

um breytingu á reglugerð (EB) nr. 152/2009 að því er varðar greiningaraðferðir til að ákvarða innihaldsefni úr dýraríkinu vegna opinbers eftirlits með fódri (*)

FRAMKVÆMDASTJÓRN EVRÓPUSAMBANDSINS
HEFUR,

með hliðsjón af sáttmálanum um starfshætti Evrópusambandsins,

með hliðsjón af reglugerð Evrópuþingsins og ráðsins (EB) nr. 882/2004 frá 29. apríl 2004 um opinbert eftirlit til að staðfesta að lög um fóður og matvæli og reglur um heilbrigði og velferð dýra séu virt ⁽¹⁾, einkum 4. mgr. 11. gr.,

og að teknu tilliti til eftirfarandi:

- 1) Í 1. mgr. 7. gr. reglugerðar Evrópuþingsins og ráðsins (EB) nr. 999/2001 frá 22. maí 2001 um setningu reglna um forvarnir gegn, eftirlit með og útrýmingu tiltekinna tegunda smitandi heilahrörnnunar⁽²⁾ er kveðið á um bann við því að jörturdýr séu fódruð á prótíni úr dýrum. Bannið er rýmkað til að það nái til annarra dýra en jörturdýra og þrenget að því, að því er varðar fóðrun þessara dýra með afurðum úr dýraríkinu, í samræmi við IV. viðauka við þá reglugerð.
- 2) Í 1. mgr. 11. gr. reglugerðar Evrópuþingsins og ráðsins (EB) nr. 1069/2009 frá 21. október 2009 um heilbrigðisreglur að því er varðar aukaafurðir úr dýrum og afleiddar afurðir sem ekki eru ætlaðar til manneldis og um niðurfellingu á reglugerð (EB) nr. 1774/2002 ⁽³⁾ er lagt bann við fóðrun landdýra, annarra en loðdýra, af tilteknum tegundum með unnu dýrapróttíni sem er fengið úr skrokkum eða hlutum skrokka dýra af sömu tegund, sem og við fóðrun eldisfiska með unnu dýrapróttíni sem er fengið úr skrokkum eða hlutum skrokka eldisfiska af sömu tegund.
- 3) Í VI. viðauka við reglugerð framkvæmdastjórnarinnar (EB) nr. 152/2009 frá 27. janúar 2009 um aðferðir við sýnatöku og greiningu vegna opinbers eftirlits með

fóðri ⁽⁴⁾ er mælt fyrir um aðferðir við greiningu til að ákvarða innihaldsefni úr dýraríkinu vegna opinbers eftirlits með fódri. Með smásjáraðferðinni, sem er um þessar mundir eina fullgilta aðferðin til að greina dýrapróttín í fódri, er hægt að greina á milli innihaldsefna úr landdýrum og innihaldsefna úr fiski en ekki hægt að ákvarða magn innihaldsefna úr dýraríkinu, sem er fyrir hendi í fódri, með nægilega mikilli nákvæmni og þar af leiðandi skal ekki nota hana í þessum tilgangi.

- 4) Tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýrapróttín í fódri hefur fullgilt nýja aðferð, sem byggist á kjarnsýrumögnun, til að greina innihaldsefni úr dýraríkinu. Framkvæmdarannsókn, sem skipulögð var með landsbundnum tilvísunarrannsóknarstofum aðildarríkjanna, staðfesti að nýja aðferðin er nægilega traust til að hægt sé að nota hana sem opinbera eftirlitsaðferð í Sambandinu. Með þessari nýju aðferð er hægt að greina innihaldsefni úr dýraríkinu í fódri og einnig úr hvaða dýrategundum þessi innihaldsefni eru komin. Notkun þessarar nýju aðferðar ásamt smásjáraðferðinni eða í stað hennar, eftir því sem við á, kæmi að miklu gagni við eftirlit með rétttri framkvæmd á banninu við fóðrun sem mælt er fyrir um í reglugerðum (EB) nr. 999/2001 og (EB) nr. 1069/2009.
- 5) Því ber að skipta út VI. viðauka við reglugerð (EB) nr. 152/2009 til samræmis við það.
- 6) Ráðstafanirnar, sem kveðið er á um í þessari reglugerð, eru í samræmi við álit fastanefndarinnar um matvælaferlið og heilbrigði dýra og hvorki Evrópuþingið né ráðið hefur andmælt þeim.

SAMÞYKKT REGLUGERÐ ÞESSA:

I. gr.

Í stað VI. viðauka við reglugerð (EB) nr. 152/2009 komi textinn sem er settur fram í viðaukanum við þessa reglugerð.

(*) Þessi EB-gerð birtist í Stjtið. ESB L 20, 23.1.2013, bls. 33. Hennar var getið í ákvörðun sameiginlegu EES-nefndarinnar nr. 153/2013 frá 4. október 2013 um breytingu á I. viðauka (Heilbrigði dýra og plantna) við EES-samninginn, biður birtingar.

⁽¹⁾ Stjtið. ESB L165, 30.4.2004, bls. 1.

⁽²⁾ Stjtið. EB L 147, 31.5.2001, bls. 1.

⁽³⁾ Stjtið. ESB L 300, 14.11.2009, bls. 1.

⁽⁴⁾ Stjtið. ESB L 54, 26.2.2009, bls. 1.

2. gr.

Reglugerð þessi öðlast gildi á tuttugasta degi eftir að hún birtist í *Stjórnartíðindum Evrópusambandsins*.

Reglugerð þessi er bindandi í heild sinni og gildir í öllum aðildarríkjunum án frekari lögfestingar.

Gjört í Brussel 16. janúar 2013.

Fyrir hönd framkvæmdastjórnarinnar,

Forseti.

José Manuel BARROSO

VIÐAUKI

„VI. VIÐAUKI

GREININGARÁÐFERÐIR TIL AÐ ÁKVARÐA INNIHALDSEFNI ÚR DÝRARÍKINU VEGNA OPINBERS EFTIRLITS MEÐ FÓÐRI

1. TILGANGUR OG GILDISSVIÐ

Ákvarða skal innihaldsefni úr dýraríkinu í fódri með ljóssmásjárrannsókn eða kjarnsýrumögnun í samræmi við ákvæðin sem mælt er fyrir um í þessum viðauka.

Þessar tvær aðferðir gera það kleift að greina hvort innihaldsefni úr dýraríkinu eru til staðar í fódurefnum og fódurblöndu. Þær gera það þó ekki kleift að reikna út magn slíkra innihaldsefna í fódurefnum og fódurblöndu. Greiningarmörk beggja aðferðanna eru undir 0,1% (massahlutfall).

Kjarnsýrumögnunaraðferðin gerir það kleift að greina flokkunarfræðilegan hóp innihaldsefna úr dýraríkinu sem eru til staðar í fódurefnum og fódurblöndu.

Þessar aðferðir gilda að því er varðar eftirlit með því að þeim bönnum, sem mælt er fyrir um í 1. mgr. 7. gr. og IV. viðauka við reglugerð (EB) nr. 999/2001 og í 1. mgr. 11. gr. reglugerðar (EB) nr. 1069/2009, sé beitt.

Nota má þessar aðferðir eftir því hvaða tegund af fódri er verið að prófa, ýmist einar og sér eða saman í einni rekstraraðgerð, í samræmi við staðlaðar verklagsreglur sem tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýraprótin í fódri (EURL-AP) kom á og birti á vefsetri sínu ⁽⁵⁾.

2. AÐFERÐIR

2.1. Ljóssmásjárrannsókn

2.1.1. Meginregla

Innihaldsefni úr dýraríkinu, sem mega vera í fódurefnum og fódurblöndu sem er send til greiningar, eru greind á grundvelli dæmigerðra eiginleika sem greina má í smásjá, t.d. vöðvaþræðir og aðrar agnir í kjöti, brjós, bein landdýra, horn, hár, burstir, blóð, fiður, eggjaskurn, fiskbein og hreistur.

2.1.2. Prófefni og búnaður

2.1.2.1. Prófefni

2.1.2.1.1. Hreinsunarefni

2.1.2.1.1.1. Tetraklóretýlen (eðlisþyngd 1,62)

2.1.2.1.2. Litunarefni

2.1.2.1.2.1. Lausn með alisarínrauðum (2,5 ml af 1M saltsýru eru þynntir með 100 ml af vatni og 200 mg af alisarínrauðum er bætt út í lausnina).

2.1.2.1.3. Steypiefni

2.1.2.1.3.1. Lútur (NaOH 2,5%, massi miðað við rúmmál, eða KOH 2,5%, massi miðað við rúmmál)

2.1.2.1.3.2. Glýseról (óþynnt, seigja: 1490 cP)

2.1.2.1.3.3. Norland ® Optical Adhesive 65 (seigja: 1200 cP) eða resín með jafngilda eiginleika með tilliti til undirbúnings varanlegra sýnisglerja

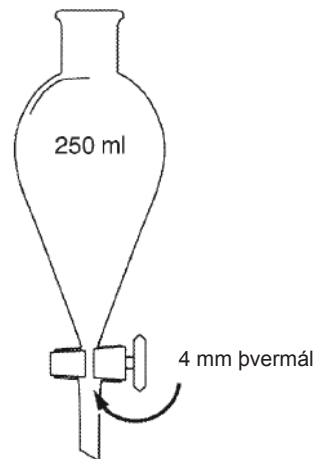
2.1.2.1.4. Steypiefni með litunareiginleika

2.1.2.1.4.1. Lugollaun (2 g af kalíumjoðiði eru leyst upp í 100 ml af vatni og 1 g af joði bætt við og hrist á meðan).

(5) <http://eurl.craw.eu/>

- 2.1.2.1.4.2. Systínprófefni (2 g blýasetat, 10 g NaOH/100 ml vatn).
- 2.1.2.1.4.3. Fehling-prófefni (tilreitt fyrir notkun úr tveimur stofnlausnum, A og B, í jöfnum hlutföllum (1/1). Lausn A: 6,9 g af kopar(II)súlfatpentahýdrati eru leyst upp í 100 ml af vatni. Lausn B: 34,6 g af kalíumnatriumt artrattetrahydrati og 12 g af NaOH eru leyst upp í 100 ml af vatni)
- 2.1.2.1.4.4. Tetrametýlbensidín/vetnisperoxíð. (1 g af 3,3',5,5' tetrametýlbensidíni (TMB) eru leyst upp í 100 ml af ísediki og 150 ml af vatni. Fjórum hlutum af þessari TMB-lausn er blandað saman við einn hluta af 3% vetnisperoxíði fyrir notkun)
- 2.1.2.1.5. Skolefni
- 2.1.2.1.5.1. Etanól $\geq 96\%$ (tæknilegur hreinleiki)
- 2.1.2.1.5.2. Aseton (tæknilegur hreinleiki)
- 2.1.2.1.6. Bleikingarefni
- 2.1.2.1.6.1. Natriumhýpóklórítlausn sem fæst í verslunum (9–14% virkur klór)
- 2.1.2.2. Búnaður
- 2.1.2.2.1. Fínvog með 0,001 g nákvæmni
- 2.1.2.2.2. Mólunarbúnaður: kvörn eða mortél
- 2.1.2.2.3. Sigtí með ferhyrnda möskva sem eru 0,25 mm og 1 mm að stærð
- 2.1.2.2.4. Keilulaga skiltrekt úr gleri með 250 ml rúmmál og með loka úr tefloni eða slípuðu gleri við botn keilunnar. Opíð á lokanum skal vera ≥ 4 mm að þvermáli. Einnig má nota bikarglas með keilulaga botni til botnfellingar, að því tilskildu að rannsóknarstofan hafi sýnt fram á að greining með þeirri aðferð skili jafngildum niðurstöðum og með keilulaga skiltrekt úr gleri.

Skiltrekt



- 2.1.2.2.5. Viðsjá með endanlegt stækkunarsvæði sem er a.m.k. $6,5\times$ til $40\times$
- 2.1.2.2.6. Bjartsviðssmásjá (e. *compound microscope*) með endanlegt stækkunarsvæði sem er a.m.k. $100\times$ til $400\times$ og með gegnumfarandi ljósi. Til viðbótar má nota smásjá með skautuðu ljósi eða smásjá þar sem stilla má birtuskil með ljósfasamun (e. *differential interferential contrast*)
- 2.1.2.2.7. Stöðluð glervara fyrir rannsóknarstofur
- 2.1.2.2.8. Búnaður fyrir undirbúning sýnisglerja: sígild smásjargler, sýnisgler með holu, þekjugler (20×20 mm), tangir, fingerður spaði
- 2.1.3. *Sýnataka og undirbúningur sýnis*
- 2.1.3.1. Sýnataka

Nota skal dæmigert sýni, sem tekið er í samræmi við ákvæðin sem mælt er fyrir um í I. viðauka.

2.1.3.2. Varúðarráðstafanir

Til að koma í veg fyrir víxlmengun á milli rannsóknarstofa skal hreinsa allan endurnotanlegan búnað vandlega fyrir notkun. Taka skal skiltrehtarhluta í sundur fyrir hreinsun. Skiltrehtarhluta og glermuni skal forþvo handvirkt og því næst þvo í þvottavél. Hreinsa skal sigti með burstu með stífum gervihárum. Mælst er til þess að lokinni sigtun á fituefni á borð við fiskimjöl að sigti séu að lokum hreinsuð með asetoni og þrýstilofni.

2.1.3.3. Undirbúningur annarra sýna en fitu eða olíu

2.1.3.3.1. Þurrkun sýna: sýni með > 14% rakainnihald skal þurrkað áður en það er meðhöndlað.2.1.3.3.2. Forsigtun sýna: mælst er til þess að kögglað föður og kjarnar séu forsigtuð í 1 mm sigti og að því næst séu hlutarnir tveir, sem falla til við það, undirbúnir og greindir sem aðskilin sýni.2.1.3.3.3. Taka undirsýna og mólun: skipta skal a.m.k. 50 g af sýninu í undirsýni sem skal greina og því næst mala.2.1.3.3.4. Útdráttur og undirbúningur botnfalls: 10 g skammtur (með 0,01 g nákvæmni) af malaða undirsýninu er fluttur í skiltrektina eða bikarglasið með keilulaga botni til botnfellingar og 50 ml af tetraklóretýleni bætt við. Skammturinn sem er fluttur í trektina skal ekki vera stærri en 3 g ef um er að ræða fiskimjöl eða aðrar hreinar dýraafurðir, innihaldsefni úr jarðefnum eða forblöndur sem mynda yfir 10% af botnfalli. Hrista skal blönduna rækilega í a.m.k. 30 sekúndur og bæta skal a.m.k. 50 ml af tetraklóretýleni til viðbótar varlega saman við, jafnframt því sem innra borð trektarinnar er skolað til að fjarlægja allar viðloðandi agnir. Blandan sem úr þessu verður skal látin standa í a.m.k. 5 mínútur áður en botnfallið er skilið frá með því að opna lokann.

Ef notast er við bikarglas með keilulaga botni til botnfellingar skal hrista blönduna rækilega í a.m.k. 15 sekúndur og skola vandlega burt allar agnir, sem loða við hlið bikarglassins, niður innra borð þess með a.m.k. 10 ml af hreinu tetraklóretýleni. Blandan skal látin standa í 3 mínútur og síðan hrist aftur í 15 sekúndur og allar agnir, sem loða við hlið bikarglassins, skulu skolaðar vandlega niður innra borð þess með a.m.k. 10 ml af hreinu tetraklóretýleni. Blandan sem úr þessu verður skal látin standa í a.m.k. 5 mínútur og fljótandi hlutinn síðan fjarlægður og honum kastað með því að umhella varlega og gæta þess vel að ekkert af botnfallinu fari forgörðum í leiðinni.

Botnfallið skal þurrkað og síðan vegið (með 0,001 g nákvæmni). Ef meira en 5% af botnfallinu samanstandur af > 0,50 mm ögnum skal sigta það í 0,25 mm sigti og rannsaka hlutana tvo sem falla til við það.

2.1.3.3.5. Útdráttur og undirbúningur flots (e. flotate): eftir að botnfallið er skilið frá með aðferðinni sem er lýst hér að framan ættu tveir fasar að vera eftir í skiltrektinni: annar í fljótandi formi, sem samanstandur af tetraklóretýleni, og hinn í föstu formi, sem er myndaður úr fljótandi efni. Þessi fasti fasi er flotið og er skilinn frá með því að hella öllu tetraklóretýleninu úr trektinni með því að opna lokann. Með því að snúa skiljunartrektinni við er flotið flutt í stóra ræktunarskál og loftþurrkað í reykhettu. Ef meira en 5% af flötinu samanstandur af > 0,50 mm ögnum skal sigta það í 0,25 mm sigti og rannsaka hlutana tvo sem falla til við það.2.1.3.3.6. Undirbúningur hráefnis: undirbúa skal a.m.k. 5 g skammt af malaða undirsýninu. Ef meira en 5% af efninu samanstandur af > 0,50 mm ögnum skal sigta það í 0,25 mm sigti og rannsaka hlutana tvo sem falla til við það.

2.1.3.4. Undirbúningur sýna sem samanstanda af fitu eða olíu

Nota skal eftirfarandi aðferðarlýsingu við undirbúning sýna sem samanstanda af fitu eða olíu:

- Ef fitan er í föstu formi skal hún hituð upp í ofni þar til hún er orðin að vökva.
- 40 ml af fitu eða olíu eru teknir með pípettu neðst úr sýninu og fluttir í tilraunaglas fyrir skilvindu.
- Sýnið skal skilið í skilvindu í 10 mínútur við 4000 snúninga á mínútu.
- Ef fitan er í föstu formi eftir skiljun skal hún hituð upp í ofni þar til hún er orðin að vökva.
- Skiljunin er endurtekin í fimm mínútur við 4000 snúninga á mínútu.

- Með lítilli skeið eða spaða er helmingurinn af umhelltu óhreinindunum fluttur á sýnisgler til greiningar, mælt er með glýseróli sem steypiefni.
- Nota skal óhreinindin sem eftir eru til að undirbúa botnfallið eins og lýst er í lið 2.1.3.3.

2.1.3.5. Notkun litunarefna

Til að auðvelda rétta sanna greiningu á innihaldsefnum úr dýrarikinu er rekstraraðila heimilt að nota litunarefni meðan á undirbúningi sýnis stendur, í samræmi við leiðbeiningarnar sem tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýraprótín í fòðri gaf út og birti á vefsetri sínu.

Ef lausn með alasarínrauðum er notuð til að lita botnfallið gildir eftirfarandi aðferðarlýsing:

- Flytja skal þurrkaða botnfallið í tilraunaglas úr gleri og skola það tvisvar með u.þ.b. 5 ml af etanóli (í bæði skiptin skal nota iðublandara í 30 sekúndur, lausnin skal látin standa í um eina mínútu og 30 sekúndur og síðan hellt af).
- Bleikja skal botnfallið með því að bæta við a.m.k. 1 ml af natriumhýpóklórítlausn. Efnahvarfið skal látið halda áfram í 10 mínútur. Tilraunaglassið skal fyllt með vatni og botnfallið látið setjast til í tvær til þrjár mínútur og vatninu og svifögnunum skal hellt varlega af.
- Botnfallið skal skolað tvisvar í viðbót með um 10 ml af vatni (iðublandari skal notaður í 30 sekúndur, látið setjast til og vatninu hellt af í hvert skipti).
- Bæta skal við 2 til 10 dropum af lausninni með alasarínrauðum og blandan látin í iðublandara. Efnahvarfið skal látið ganga í 30 sekúndur og litaða botnfallið skal skolað tvisvar með u.þ.b. 5 ml af etanóli og síðan skolað einu sinni með asetoni (í bæði skiptin skal nota iðublandara í 30 sekúndur, lausnin skal látin setjast til í um eina mínútu og síðan hellt af).
- Litaða botnfallið skal þurrkað.

2.1.4. Smásjárrannsókn

2.1.4.1. Undirbúningur sýnisglerja

Útbúa skal smásæ sýnisgler úr botnfallinu og annað hvort flotinu eða hráefninu, eftir því sem rekstraraðilinn kys. Ef notast var við sigtun meðan á undirbúningi sýnisins stóð skal undirbúa hlutana tvo (þann fína og þann grófa) sem féllu til við það. Sýnishlutar af hlutum sem er strokið á sýnisgler skulu vera dæmigerðir fyrir hlutann allan.

Undirbúa skal nægilegan fjölda sýnisglerja til að tryggja að hægt sé að fylgja heildstæðri rannsóknaraðferðarlýsingu, eins og mælt er fyrir um í lið 2.1.4.2.

Smásæ sýnisgler skulu höfð í viðunandi steypiefni í samræmi við stöðluðu verklagsreglurnar sem tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýraprótín í fòðri kom á og birti á vefsetri sínu. Þekja skal sýnisglerin með þekjuglerjum.

2.1.4.2. Eftirlitsaðferðarlýsingar vegna greiningar á ögnum úr dýrum í fòðurlöndu og fòðurefni

Athuga skal smásæju sýnisglerin, sem undirbúin hafa verið, í samræmi við eftirlitsaðferðarlýsingarnar sem mælt er fyrir um í skýringarmynd 1 að því er varðar fòðurlöndu og fòðurefni önnur en hreint fiskimjöl eða í skýringarmynd 2 að því er varðar hreint fiskimjöl.

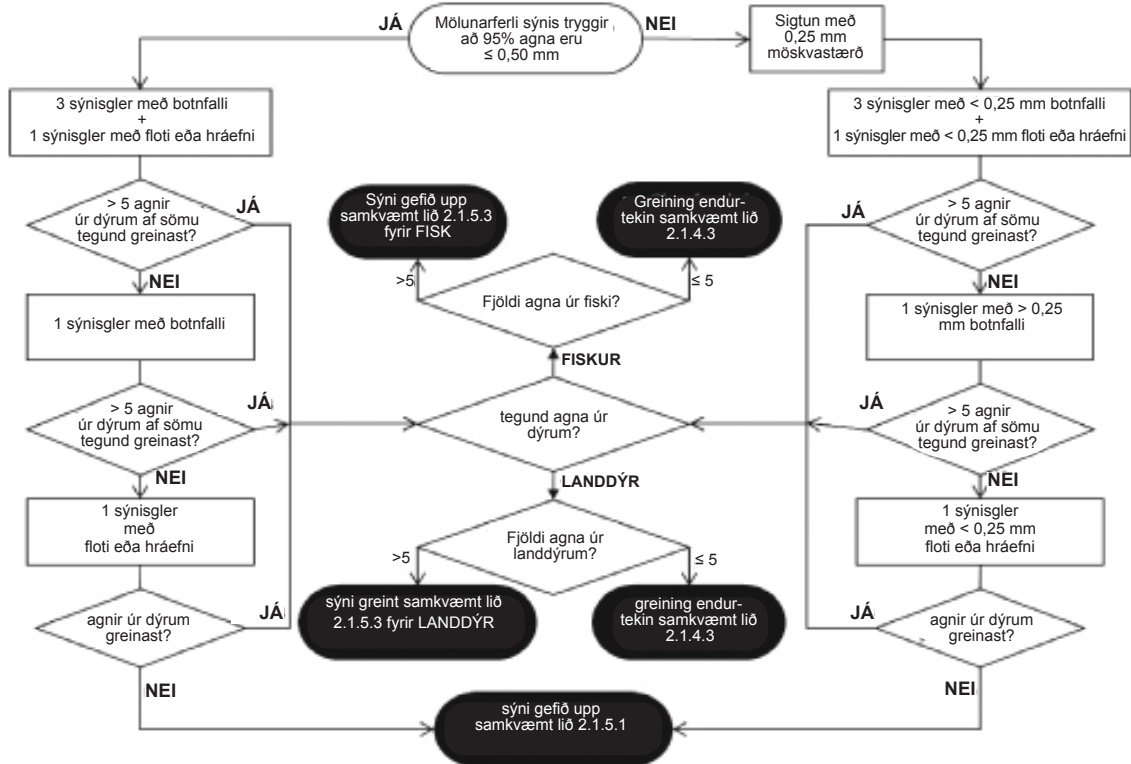
Smásjárskoðunin skal fara þannig fram að smásjáin er notuð á botnfallið og annað hvort á flotið eða á hráefnið, eftir því sem rekstraraðilinn kys. Nota má viðsjá til viðbótar við smásjána fyrir grófu hlutana. Skima skal hvert sýnisgler í heild sinni við mismunandi stækkun.

Taka skal ítrasta tillit til þess lágmarksfjölda sýnisglerja, sem athuga skal á öllum stigum eftirlitsaðferðarlýsingarinnar, nema ekki sé unnt að ná jafn mörgum sýnisglerjum og mælt er fyrir um með öllu efninu í hlutunum. Ekki skal athuga fleiri en sex sýnisgler við hverja ákvörðun.

Til að auðvelda auðkenningu á eðli og uppruna agna er rekstraraðilanum heimilt að nota stuðningsbúnað á borð við stoðkerfi fyrir ákvarðanir, myndasöfn og viðmiðunarsýni.

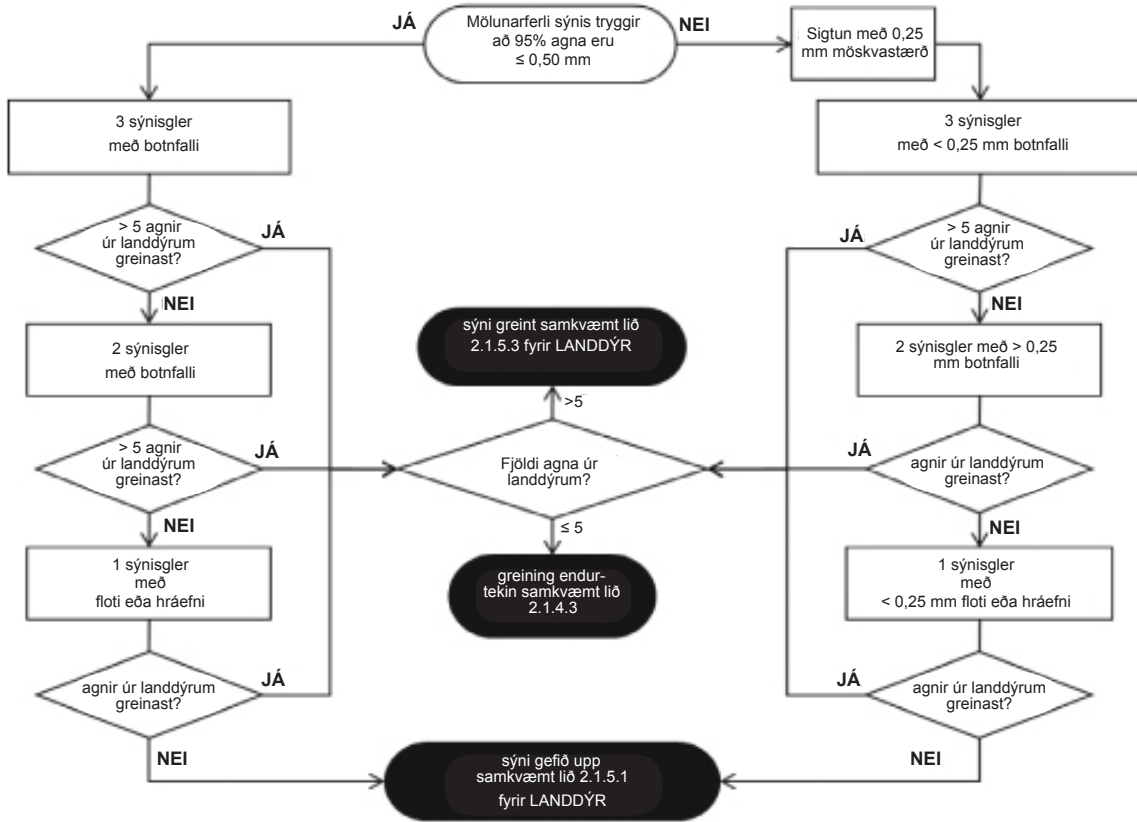
Skýringarmynd 1

Eftirlitsaðferðarlýsing vegna greiningar á ögnum úr dýrum í fôðurlöndu og fôðurefni öðru en fiskimjöli



Skýringarmynd 2

Eftirlitsaðferðarlýsing fyrir greiningu á ögnum úr dýrum í fiskimjöli



2.1.4.3. Fjöldi ákvarðana

Ef engar agnir úr dýrum af tiltekinni tegund (þ.e. landdýr eða fiskur) greinast í kjölfar fyrstu ákvörðunar, sem er framkvæmd í samræmi við þá eftirlitsaðferðarlýsingu sem mælt er fyrir um í skýringarmynd 1 eða skýringarmynd 2, eftir því sem við á, er ekki þörf á frekari ákvörðunum og skal þá gefa upp niðurstöðu greiningarinnar og nota til þess hugtökin sem mælt er fyrir um í lið 2.1.5.1.

Ef heildarfjöldi agna úr dýrum af tiltekinni tegund (þ.e. landdýr eða fiskur) sem greinist, í kjölfar fyrstu ákvörðunar sem er framkvæmd í samræmi við þá eftirlitsaðferðarlýsingu sem mælt er fyrir um í skýringarmynd 1 eða skýringarmynd 2, eftir því sem við á, er á bilinu einn til fimm skal framkvæma aðra ákvörðun út frá nýju 50 g undirsýni. Ef fjöldi agna úr dýrum af þessari tilteknu tegund sem greinast er á bilinu núll til fimm í kjölfar þessarar síðari ákvörðunar skal gefa upp niðurstöðu greiningarinnar með þeim hugtökum sem mælt er fyrir um í lið 2.1.5.2, en að öðrum kosti skal framkvæma þriðju ákvörðunina út frá nýju 50 g undirsýni. Ef summa agna af tiltekinni tegund, sem greinast við fyrstu og aðra ákvörðun, er hærrí en 15 í kjölfar ákvarðananna tveggja er þó ekki þörf á frekari ákvörðunum og skal þá umsvifalaust gefa upp niðurstöðu greiningarinnar og nota til þess hugtökin sem mælt er fyrir um í lið 2.1.5.3. Ef summa agna úr dýrum af tiltekinni tegund, sem greinast við ákvarðanirnar þrjár, er hærrí en 15 í kjölfar þriðju ákvörðunarinnar skal gefa upp niðurstöðu greiningarinnar og nota til þess hugtökin sem mælt er fyrir um í lið 2.1.5.3. Að öðrum kosti skal gefa upp niðurstöðu greiningarinnar og nota til þess hugtökin sem mælt er fyrir um í lið 2.1.5.2.

Ef fleiri en fimm agnir úr dýrum af tiltekinni tegund (þ.e. landdýr eða fiskur) greinast í kjölfar fyrstu ákvörðunar, sem er framkvæmd í samræmi við þær eftirlitsaðferðarlýsingar sem mælt er fyrir um í skýringarmynd 1 eða í skýringarmynd 2, eftir því sem við á, skal gefa upp niðurstöðu greiningarinnar og nota til þess hugtökin sem mælt er fyrir um í lið 2.1.5.3.

2.1.5. Framsetning niðurstaðna

Þegar niðurstöður eru gefnar upp skal rannsóknarstofan tilgreina á hvaða tegund efnis greiningin var framkvæmd (botnfall, flot eða hráefni) og hversu margar ákvarðanir voru framkvæmdar.

Skýrsla rannsóknarstofunnar skal a.m.k. innihalda upplýsingar um tilvist innihaldsefna úr landdýrum og fiski.

Eftir því sem við á skal greina frá niðurstöðunni á eftirfarandi hátt.

2.1.5.1. Engin ögn úr dýri af tiltekinni tegund greinist:

- Við athugun í ljóssmásjá var ekki að finna neinar agnir úr landdýrum í framlagða sýninu.
- Við athugun í ljóssmásjá var ekki að finna neinar agnir úr fiski í framlagða sýninu.

2.1.5.2. Að meðaltali greindust á bilinu ein til fimm agnir úr dýrum af tiltekinni tegund:

- Við athugun í ljóssmásjá var ekki að finna fleiri en fimm agnir úr landdýrum, að meðaltali á hverja ákvörðun, í framlagða sýninu. Agnirnar voru greindar sem ... [bein, brjósk, vöðvi, hár, horn ...] Þar eð þetta magn er svo lítið að það er undir greiningarmörkum smásjáraðferðarinnar er ekki hægt að útiloka áhættuna á að niðurstaðan sé falsjálkvæð.

Eða, eftir því sem við á.

- Við athugun í ljóssmásjá var ekki að finna fleiri en fimm agnir úr fiski, að meðaltali á hverja ákvörðun, í framlagða sýninu. Agnirnar voru greindar sem ... [fiskbein, hreistur, brjósk, vöðvi, kvarnir, tálkn ...] Þar eð þetta magn er svo lítið að það er undir greiningarmörkum smásjáraðferðarinnar er ekki hægt að útiloka áhættuna á að niðurstaðan sé falsjálkvæð.

Ef sýni hefur verið forsigtað skal þess getið í skýrslu rannsóknarstofunnar í hvaða hluta (sigtaða hlutanum, kögglaða hlutanum eða kjörnum) agnirnar úr dýrunum greindust, að svo miklu leyti sem það kann að vera til marks um umhverfismengun að agnir úr dýrum greinist eingöngu í sigtaða hlutanum.

2.1.5.3. Að meðaltali greindust fleiri en fimm agnir úr dýrum af tiltekinni tegund

- Við athugun í ljóssmásjá fundust fleiri en fimm agnir úr landdýrum, að meðaltali á hverja ákvörðun, í framlagða sýninu. Agnirnar voru greindar sem ... [bein, brjósk, vöðvi, hár, horn ...]

Eða, eftir því sem við á.

- Við athugun í ljósmásjá fundust fleiri en fimm agnir úr fiski, að meðaltali á hverja ákvörðun, í framlagða sýninu. Agnirnar voru greindar sem ... [fiskbein, hreistur, brjósk, vöðvi, kvarnir, tálkn ...]

Ef sýni hefur verið forsigtað skal þess getið í skýrslu rannsóknarstofunnar í hvaða hluta (sigtaða hlutanum, kögglaða hlutanum eða kjörnum) agnirnar úr dýrunum greindust, að svo miklu leyti sem það kann að vera til marks um umhverfismengun að agnir úr dýrum greinist eingöngu í sigtaða hlutanum.

2.2. Kjarnsýrumögnun (PCR)

2.2.1. Meginregla

Deoxýríbósakjarnsýrubrot (DNA) úr dýraríkinu, sem kunna að vera fyrir hendi í fôðurefni og fôðurböndu, eru greind með genamögnunaraðferð (e. *genetic amplification technique*) við kjarnsýrumögnun, sem beinist að tegundabundnum DNA-röðum.

Kjarnsýrumögnunaraðferðin kallar á að fyrst fari fram DNA-útdráttur. Að því búnu skal beita mögnun á DNA-útdráttinn sem þannig fékkst, í því skyni að greina dýrategundina sem prófunin er miðuð við.

2.2.2. Prófefni og búnaður

2.2.2.1. Prófefni

2.2.2.1.1. Prófefni fyrir DNA-útdrátt

Einungis skal nota prófefni sem tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýrapróttín í fôðri hefur samþykkt og birt á vefsetri sínu.

2.2.2.1.2. Prófefni fyrir genamögnun

2.2.2.1.2.1. Lyklar og þreifarar

Einungis skal nota lykla og þreifara með röðum af fákirnum sem tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýrapróttín í fôðri hefur fullgilt ⁽⁶⁾.

2.2.2.1.2.2. Master Mix

Einungis skal nota Master Mix-lausrer sem innihalda ekki prófefni sem innihalda DNA úr dýrum og gætu því leitt til rangra niðurstaðna ⁽⁷⁾.

2.2.2.1.2.3. Afmengunarprófefni

2.2.2.1.2.3.1. Saltsýrulausn (0,1 N)

2.2.2.1.2.3.2. Bleikiefni (natríumhýpóklórítlausn með 0,15% af virkum klór)

2.2.2.1.2.3.3. Prófefni, sem ekki eru ætandi, til að afmenga dýran búnað á borð við fínvogir (t.d. DNA Erase™ frá MP Biomedicals)

2.2.2.2. Búnaður

2.2.2.2.1. Fínvog með 0,001 g nákvæmni

2.2.2.2.2. Mólunarbúnaður

2.2.2.2.3. Lotuhitari sem gerir kleift að framkvæma kjarnsýrumögnun í rauntíma

2.2.2.2.4. Örskilvinda fyrir örvinduglós

2.2.2.2.5. Safn af örpípettum sem gera kleift að pípla frá 1 µl og allt að 1000 µl

2.2.2.2.6. Staðlaður sameindalíffræðibúnaður úr plasti: örskilvinduglós, plastbroddar með síum fyrir örpípettur, plötur sem henta fyrir lotuhitarann.

2.2.2.2.7. Frystar til að geyma sýni og prófefni

⁽⁶⁾ Skráin yfir þessa lykla og þreifara fyrir hverja dýrategund, sem prófunin er miðuð við, er aðgengileg á vefsetri tilvísunarrannsóknarstofu ESB fyrir dýrapróttín í fôðri.

⁽⁷⁾ Dæmi um nothæf Master Mix er að finna á vefsetri tilvísunarrannsóknarstofu ESB fyrir dýrapróttín í fôðri.

- 2.2.3. *Sýnataka og undirbúningur sýnis*
- 2.2.3.1. *Sýnataka*
- Nota skal dæmigert sýni, sem tekið er í samræmi við ákvæðin sem mælt er fyrir um í I. viðauka.
- 2.2.3.2. *Undirbúningur sýnis*
- Undirbúningur rannsóknarsýnanna fram að DNA-útdrætti skulu uppfylla kröfurnar sem settar eru fram í II. viðauka. Skipta skal a.m.k. 50 g af sýninu í undirsýni sem skal greina og því næst mala.
- Undirbúa skal sýnin í öðru herbergi en því þar sem DNA-útdrættinum og genamögnuninni er ætlað að fara fram, eins og lýst er í ISO-staðli 24276.
- Tilreiða skal tvo sýnishluta, a.m.k. 100 mg hvorn.
- 2.2.4. *DNA-útdráttur*
- Framkvæma skal DNA-útdráttinn á hverjum og einum tilreiddum sýnishluta samkvæmt stöðluðu verklagsreglunum sem tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýrapróttin í fóðri kom á og birti á vefsetri sínu.
- Tilreiða skal tvö útdráttarsýni til viðmiðunar (e. *extraction control*) fyrir hverja útdráttarröð eins og lýst er í ISO-staðli 24276.
- blanksýni til viðmiðunar (e. *extraction blank control*),
 - jákvætt DNA-útdráttarsýni til viðmiðunar (e. *DNA extraction control*).
- 2.2.5. *Genamögnun*
- Framkvæma skal genamögnunina með þeim aðferðum sem fullgiltar hafa verið að því er varðar hverja og eina tegund sem þarfnast auðkenningar. Mælt er fyrir um þessar aðferðir í stöðluðu verklagsreglunum sem tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýrapróttin í fóðri kom á og birti á vefsetri sínu. Greina skal hvern DNA-útdrátt í a.m.k. tveimur mismunandi þynningum í því skyni að meta hömlun.
- Tilreiða skal tvö mögnunarsýni til viðmiðunar (e. *amplification control*) fyrir hverja marktægund eins og lýst er í ISO-staðli 24276.
- nota skal jákvætt DNA-marksýni (e. *positive DNA target control*) sem jákvætt viðmið fyrir hverja plötu eða röð af prófunum með kjarnsýrumögnun,
 - nota skal prófefnamögnunarblöndu án DNA-móts sem neikvætt viðmið fyrir hverja plötu eða röð af prófunum með kjarnsýrumögnun.
- 2.2.6. *Túlkun og framsetning niðurstaðna*
- Þegar niðurstöðurnar eru gefnar upp skal rannsóknarstofan tilgreina a.m.k. þyngd sýnishlutanna sem notaðir voru, útdráttaraðferðina sem notuð var, fjölda ákvarðana sem gerðar voru og greiningarmörk viðkomandi aðferðar.
- Ekki skal túlka og gefa upp niðurstöður ef jákvæða DNA-útdráttarsýnið og jákvæða DNA-marksýnið gefa ekki jákvæðar niðurstöður fyrir viðfang prófunarinnar og ef prófefnamögnunarsýnið er jafnframt neikvætt.
- Ef niðurstöður úr sýnishlutunum tveimur samrýmast ekki skal a.m.k. endurtaka genamögnunaraðgerðina. Ef grunsemdir eru uppi á rannsóknarstofunni um að DNA-útdrættirnir gætu orsakað ósamræmið skal framkvæma nýjan DNA-útdrátt og því næst genamögnun, áður en niðurstöðurnar eru túlkaðar.
- Byggja skal endanlega framsetningu niðurstaðnanna á samþættingu og túlkun niðurstaðna sýnishlutanna tveggja í samræmi við staðlaðar verklagsreglur sem tilvísunarrannsóknarstofa ESB fyrir dýrapróttin í fóðri kom á og birti á vefsetri sínu.
- 2.2.6.1. *Neikvæð niðurstaða*
- Gefa skal upp neikvæða niðurstöðu með eftirfarandi hætti:
- Ekkert DNA úr X greindist í framlagða sýninu (þar sem X er sú dýrategund eða sá hópur dýrategunda sem er viðfang prófunarinnar).
- 2.2.6.2. *Jákvæð niðurstaða*
- Gefa skal upp jákvæða niðurstöðu með eftirfarandi hætti:
- DNA úr X greindist í framlagða sýninu (þar sem X er sú dýrategund eða sá hópur dýrategunda sem er viðfang prófunarinnar).“