

REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2022/893 DELLA COMMISSIONE**del 7 giugno 2022****che modifica l'allegato VI del regolamento (CE) n. 152/2009 per quanto riguarda i metodi di analisi ai fini dell'individuazione di costituenti di invertebrati terrestri nell'ambito del controllo ufficiale degli alimenti per gli animali****(Testo rilevante ai fini del SEE)**

LA COMMISSIONE EUROPEA,

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

visto il regolamento (UE) 2017/625 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 15 marzo 2017, relativo ai controlli ufficiali e alle altre attività ufficiali effettuati per garantire l'applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi, delle norme sulla salute e sul benessere degli animali, sulla sanità delle piante nonché sui prodotti fitosanitari, recante modifica dei regolamenti (CE) n. 999/2001, (CE) n. 396/2005, (CE) n. 1069/2009, (CE) n. 1107/2009, (UE) n. 1151/2012, (UE) n. 652/2014, (UE) 2016/429 e (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio, dei regolamenti (CE) n. 1/2005 e (CE) n. 1099/2009 del Consiglio e delle direttive 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE e 2008/120/CE del Consiglio, e che abroga i regolamenti (CE) n. 854/2004 e (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, le direttive 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE e 97/78/CE del Consiglio e la decisione 92/438/CEE del Consiglio (regolamento sui controlli ufficiali) ⁽¹⁾, in particolare l'articolo 34, paragrafo 6, primo comma, lettera a),

considerando quanto segue:

- (1) Il regolamento (CE) n. 152/2009 della Commissione ⁽²⁾ stabilisce i metodi di prova utilizzati a sostegno dei controlli ufficiali per far rispettare il divieto di utilizzare proteine animali trasformate nei mangimi destinati ad animali da produzione alimentare. Sono compresi i metodi di analisi, descritti nell'allegato VI di detto regolamento, per la determinazione dei costituenti di origine animale nell'ambito del controllo ufficiale degli alimenti per gli animali eseguita mediante microscopia ottica o mediante reazione a catena della polimerasi (PCR).
- (2) L'uso di proteine animali trasformate derivate da insetti d'allevamento è stato autorizzato nei mangimi per animali d'acquacoltura dal regolamento (UE) 2017/893 della Commissione ⁽³⁾, e nei mangimi per suini e pollame dal regolamento (UE) 2021/1372 della Commissione ⁽⁴⁾, ma è ancora vietato a norma del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio ⁽⁵⁾ in alcuni mangimi, in particolare nei mangimi per ruminanti.
- (3) Il laboratorio di riferimento dell'Unione europea per le proteine animali nei mangimi ha sviluppato e convalidato un protocollo speciale, comprendente una fase di sedimentazione doppia, che garantisce l'individuazione di particelle provenienti da invertebrati terrestri, compresi gli insetti, se presenti in materie prime per mangimi, mangimi composti e premiscele sottoposti a prove di laboratorio. Con questa fase aggiuntiva, tale protocollo dovrebbe essere utilizzato nel quadro dei controlli ufficiali per verificare la corretta applicazione del divieto di utilizzare proteine animali trasformate di insetti in determinati mangimi per animali destinati alla produzione di alimenti.

⁽¹⁾ GU L 95 del 7.4.2017, pag. 1.

⁽²⁾ Regolamento (CE) n. 152/2009 della Commissione, del 27 gennaio 2009, che fissa i metodi di campionamento e d'analisi per i controlli ufficiali degli alimenti per gli animali (GU L 54 del 26.2.2009, pag. 1).

⁽³⁾ Regolamento (UE) 2017/893 della Commissione, del 24 maggio 2017, che modifica gli allegati I e IV del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio e gli allegati X, XIV e XV del regolamento (UE) n. 142/2011 della Commissione per quanto riguarda le disposizioni in materia di proteine animali (GU L 138 del 25.5.2017, pag. 92).

⁽⁴⁾ Regolamento (UE) 2021/1372 della Commissione, del 17 agosto 2021, che modifica l'allegato IV del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda il divieto di somministrazione di proteine animali agli animali d'allevamento non ruminanti diversi dagli animali da pelliccia (GU L 295 del 18.8.2021, pag. 1).

⁽⁵⁾ Regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 22 maggio 2001, recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili (GU L 147 del 31.5.2001, pag. 1).

- (4) La descrizione del metodo della microscopia ottica di cui all'allegato VI del regolamento (CE) n. 152/2009 dovrebbe pertanto essere adattata al fine di includere una fase di sedimentazione doppia nel protocollo per la preparazione dei campioni da sottoporre a prova per individuare i costituenti di invertebrati terrestri.
- (5) È pertanto opportuno modificare di conseguenza l'allegato VI del regolamento (CE) n. 152/2009.
- (6) Le misure di cui al presente regolamento sono conformi al parere del comitato permanente per le piante, gli animali, gli alimenti e i mangimi,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

L'allegato VI del regolamento (CE) n. 152/2009 è modificato conformemente all'allegato del presente regolamento.

Articolo 2

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 7 giugno 2022

Per la Commissione
La presidente
Ursula VON DER LEYEN

ALLEGATO

L'allegato VI del regolamento (CE) n. 152/2009 è così modificato:

1) il punto 1 è sostituito dal seguente:

«1. FINALITÀ E CAMPO DI APPLICAZIONE

La determinazione dei costituenti di origine animale negli alimenti per animali deve essere eseguita mediante microscopia ottica o mediante reazione a catena della polimerasi (PCR) in conformità alle disposizioni del presente allegato.

Questi due metodi permettono di individuare la presenza di costituenti di origine animale nelle premiscele, nelle materie prime per mangimi e nei mangimi composti, ma non di calcolarne la quantità. Entrambi i metodi presentano un limite di rilevazione inferiore a 0,1 % (p/p).

Il metodo PCR consente di identificare il gruppo tassonomico dei costituenti di origine animale presenti nelle premiscele, nelle materie prime per mangimi e nei mangimi composti.

Questi metodi si applicano per il controllo dell'applicazione dei divieti di cui all'articolo 7, paragrafo 1, del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio (*), all'allegato IV di tale regolamento e all'articolo 11, paragrafo 1, del regolamento (CE) n. 1069/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio (**).

In funzione del tipo di alimento per animali analizzato, questi metodi possono essere utilizzati, entro un unico protocollo operativo, singolarmente o in combinazione, secondo le procedure operative standard («POS») stabilite dal laboratorio di riferimento dell'UE per le proteine animali nei mangimi (EURL-AP) e pubblicate sul suo sito web (**).

(*) Regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 22 maggio 2001, recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili (GU L 147 del 31.5.2001, pag. 1).

(**) Regolamento (CE) n. 1069/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, recante norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale e ai prodotti derivati non destinati al consumo umano e che abroga il regolamento (CE) n. 1774/2002 (regolamento sui sottoprodotti di origine animale) (GU L 300 del 14.11.2009, pag. 1).

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

2) il punto 2.1 è sostituito dal seguente:

«2.1. **Microscopia ottica**

2.1.1. *Principio*

I costituenti di origine animale che possono essere presenti nelle premiscele, nelle materie prime per mangimi e nei mangimi composti sottoposti ad analisi sono individuati sulla base di caratteristiche tipiche e identificabili al microscopio, come fibre muscolari o altre particelle di carne, cartilagini, ossa, corna, peli, setole, frammenti cuticolari di invertebrati, strutture tracheali di insetti, prodotti sanguigni, globuli di latte, cristalli di lattosio, piume, gusci d'uovo, lisce e scaglie.

Effettuare gli esami al microscopio dopo la preparazione di campioni mediante sedimentazione.

Sottoporre i campioni a una fase di sedimentazione come segue:

- a) ai fini dell'individuazione dei costituenti di origine animale diversi dagli invertebrati terrestri, una fase di sedimentazione singola in tetracloroetilene (TCE) come precisato al punto 2.1.3.4.3;
- b) ai fini dell'individuazione dei costituenti di invertebrati terrestri, una fase di sedimentazione doppia in etere di petrolio/tetracloroetilene (PE/TCE) come precisato al punto 2.1.3.4.4.

2.1.2. *Reagenti e attrezzature*

2.1.2.1. *Reagenti*

2.1.2.1.1. *Agente concentratore*

- Tetracloroetilene (peso specifico 1,62).
- Etere di petrolio (PE), con punto di ebollizione compreso tra 40 °C e 60 °C (peso specifico 0,65).

2.1.2.1.2. Reagente colorante

- Soluzione di rosso di alizarina (diluire 2,5 ml di acido cloridrico 1M in 100 ml di acqua, aggiungere 200 mg di rosso di alizarina alla soluzione).

2.1.2.1.3. Mezzi di montaggio

- Liscivia (NaOH a 2,5 % in p/v o KOH a 2,5 % in p/v).
- Glicerolo (non diluito, viscosità: 1 490 cP) o un mezzo di montaggio con proprietà equivalenti per la preparazione dei vetrini non permanenti.
- Norland[®] Optical Adhesive 65 (viscosità: 1 200 cP) o resina con proprietà equivalenti per la preparazione dei vetrini permanenti.

2.1.2.1.4. Mezzi di montaggio con proprietà coloranti

- Soluzione di Lugol (sciogliere 2 g di ioduro di potassio in 100 ml di acqua e aggiungere 1 g di iodio agitando ripetutamente).
- Reagente cistina (2 g di acetato di piombo, 10 g di NaOH/100 ml di acqua).
- Reagente di Fehling (preparato prima dell'uso da parti eguali (1/1) di due soluzioni madre A e B: soluzione A (sciogliere 6,9 g di solfato di rame (II) pentaidrato in 100 ml di acqua); soluzione B (sciogliere 34,6 g di tartrato di potassio e di sodio tetraidrato e 12 g di NaOH in 100 ml di acqua)).
- Tetrametilbenzidina/perossido di idrogeno (sciogliere 1 g di 3,3', 5,5' tetrametilbenzidina (TMB) in 100 ml di acido acetico glaciale e 150 ml di acqua. Prima dell'uso, mescolare 4 parti di questa soluzione di TMB con 1 parte di perossido di idrogeno al 3 %).

2.1.2.1.5. Agenti di risciacquo

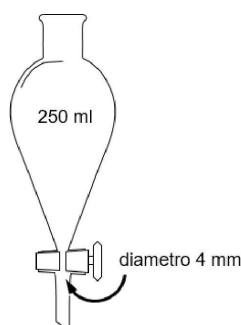
- Etanolo ≥ 96 % (per analisi).
- Acetone (per analisi).

2.1.2.1.6. Reagente sbiancante

- Soluzione di ipoclorito di sodio in commercio (9-14 % di cloro attivo).

2.1.2.2. Attrezzature

- Bilancia analitica con precisione di 0,001 g.
- Apparecchiatura per macinazione: mulino a lame o a rotore. Se si utilizza un mulino a rotore, sono proibiti setacci a maglie $\leq 0,5$ mm.
- Setacci a maglie quadrate di 0,25 mm e 1 mm di larghezza. Fatta eccezione per la presetacciatura del campione, il diametro dei setacci non deve superare i 10 cm per evitare la perdita di materiali. La taratura dei setacci non è necessaria.
- Imbuto separatore conico di vetro con capacità di 250 ml munito di rubinetto in teflon o vetro smerigliato alla base del cono. Il diametro dell'apertura del rubinetto deve essere di almeno ≥ 4 mm. In alternativa, unicamente per la sedimentazione singola in TCE, può essere utilizzato un decantatore a fondo conico, a condizione che il laboratorio abbia dimostrato che i livelli di rilevamento sono equivalenti a quelli ottenuti utilizzando l'imbuto separatore conico di vetro.



Imbuto separatore

- Stereomicroscopio con gamma di ingrandimenti finali almeno da 6,5x a 40x.
- Microscopio composto in campo chiaro a luce trasmessa con gamma di ingrandimenti finali almeno da 100x a 400x. Possono inoltre essere utilizzati la luce polarizzata e il contrasto interferenziale differenziale.
- Vetreria da laboratorio standard.
- Attrezzatura per la preparazione dei vetrini: vetrini per microscopio classici, vetrini concavi, vetrini coprioggetti (20x20 mm), pinzette, spatole
- Forno da laboratorio.
- Centrifuga.
- Carta da filtro: filtro in cellulosa per analisi qualitativa (dimensione dei pori: 4-11 μm).

2.1.3. *Campionamento e preparazione del campione*

2.1.3.1. Campionamento

Deve essere utilizzato un campione rappresentativo, prelevato secondo le prescrizioni di cui all'allegato I.

2.1.3.1.1. Essiccazione del campione

I campioni con tenore di umidità > 14 % devono essere essiccati prima del trattamento conformemente all'allegato III.

2.1.3.1.2. Presetacciatura del campione

Al fine di raccogliere informazioni su un'eventuale contaminazione ambientale del mangime, si raccomanda di presetacciare a 1 mm i mangimi pellettati e le granaglie e successivamente di preparare, analizzare ed esprimere separatamente le due frazioni risultanti, che devono essere considerate come campioni distinti.

2.1.3.2. Precauzioni

Per evitare rischi di contaminazione crociata in laboratorio, tutte le attrezzature riutilizzabili devono essere accuratamente pulite prima dell'uso. Prima di essere pulito l'imbuto separatore deve essere smontato. I pezzi che compongono l'imbuto separatore e la vetreria devono essere prima lavati a mano e poi in lavastoviglie. I setacci devono essere puliti usando una spazzola a setole sintetiche rigide. Dopo la setacciatura di materie grasse, come le farine di pesce, è raccomandata una pulitura finale dei setacci con acetone e aria compressa.

2.1.3.3. Preparazione di campioni costituiti da grassi o oli

Per la preparazione di campioni costituiti da grassi, seguire il seguente protocollo:

- se il grasso si presenta in forma solida, scaldarlo in un forno fino a liquefarlo.
- Utilizzando una pipetta, trasferire 40 ml di grasso dal fondo del campione in un tubo di centrifugazione.
- Centrifugare il campione per 10 min a 4 000 giri/minuto.
- Se il grasso si presenta in forma solida dopo la centrifugazione, riscaldarlo in un forno fino a liquefarlo.
- Ripetere la centrifugazione per 5 min a 4 000 giri/minuto.
- Utilizzando un cucchiaino o una spatola, trasferire metà delle impurità decantate su vetrini per microscopio per l'esame. Si raccomanda il glicerolo come mezzo di montaggio.
- Utilizzare le impurità restanti per preparare il sedimento come indicato al punto 2.1.3.4.3, primo trattino.

Applicare lo stesso protocollo, ad eccezione del primo e del quarto trattino, per la preparazione di campioni costituiti da oli.

2.1.3.4. Preparazione dei campioni diversi da grassi o oli

2.1.3.4.1. Sottocampionamento e macinatura: prelevare dal campione e macinare un sottocampione di almeno 50 g da analizzare.

2.1.3.4.2. Preparazione del campione tal quale: preparare un'aliquota di almeno 5 g di sottocampione macinato. Setacciarlo a 0,25 mm e procedere all'esame delle due frazioni risultanti.

2.1.3.4.3. Sedimentazione singola in TCE ai fini dell'individuazione dei costituenti di origine animale diversi dagli invertebrati terrestri.

— Estrazione e preparazione del sedimento:

trasferire un'aliquota di 10 g (precisione 0,01 g) del sottocampione macinato nell'imbuto separatore o nel decantatore a fondo conico e aggiungere 50 ml di TCE. L'aliquota trasferita nell'imbuto deve essere limitata a 3 g nel caso delle farine di pesce o di altri prodotti di origine esclusivamente animale, di ingredienti minerali o di premiscele che generano più del 10 % di sedimento. Agitare vigorosamente la miscela per almeno 30 secondi e versare con cautela altri 50 ml di TCE sulla superficie interna dell'imbuto per rimuovere le particelle ad esso aderenti. Lasciare riposare la miscela così ottenuta per almeno 5 minuti prima di separare il sedimento aprendo il rubinetto.

Se è utilizzato un decantatore a fondo conico, agitare vigorosamente la miscela per almeno 15 secondi e lavare accuratamente la superficie interna del decantatore con almeno 10 ml di TCE pulito per rimuovere le particelle aderenti alle pareti. Lasciare riposare la miscela per 3 minuti, quindi agitare nuovamente per 15 secondi e lavare accuratamente la superficie interna del decantatore con almeno 10 ml di TCE pulito per rimuovere le particelle aderenti alle pareti. Lasciare riposare la miscela così ottenuta per almeno 5 minuti, quindi rimuovere ed eliminare la frazione liquida travasandola accuratamente, facendo attenzione a non perdere nulla del sedimento.

Il sedimento deve essere raccolto su una carta da filtro posizionata in un imbuto per consentire la separazione del TCE rimanente, evitando al contempo la deposizione di grasso nel sedimento. Il sedimento deve essere lasciato essiccare. Si raccomanda di pesare successivamente il sedimento (con una precisione di 0,001 g) per controllare la fase di sedimentazione. Infine setacciare il sedimento a 0,25 mm e procedere all'esame delle due frazioni risultanti, a meno che la setacciatura non sia ritenuta necessaria.

— Estrazione e preparazione del flottato:

dopo il recupero del sedimento con il metodo sopra descritto, devono rimanere nell'imbuto separatore due fasi: una fase liquida costituita dal TCE e una fase solida costituita dal materiale flottante. Recuperare la fase solida (flottato) facendo defluire completamente dall'imbuto il TCE aprendo il rubinetto. Rovesciando l'imbuto separatore, trasferire il flottato in una grande piastra Petri e farlo essiccare ad aria in una cappa aspirante. Setacciarlo a 0,25 mm e procedere all'esame delle due frazioni risultanti.

— Uso di reagenti coloranti

Per facilitare la corretta identificazione dei costituenti di origine animale, l'operatore può utilizzare reagenti di colorazione durante la preparazione dei campioni, seguendo le linee guida emesse dall'EURL-AP e pubblicate sul suo sito web.

Il sedimento può essere sottoposto a colorazione utilizzando una soluzione di rosso di alizarina, applicando il seguente protocollo:

- trasferire il sedimento secco in una provetta di vetro e risciacquare due volte con circa 5 ml di etanolo (utilizzare ogni volta un agitatore Vortex per 30 secondi, lasciare decantare il solvente per circa 1 minuto e 30 secondi ed eliminarlo).
- Sbiancare il sedimento aggiungendo almeno 1 ml di soluzione di ipoclorito di sodio. Lasciare reagire per 10 minuti. Riempire d'acqua la provetta, lasciare decantare il sedimento per 2-3 minuti ed eliminare con cautela l'acqua e le particelle in sospensione.
- Risciacquare altre due volte il sedimento con circa 10 ml di acqua (utilizzare un agitatore Vortex per 30 secondi, lasciare decantare ed eliminare l'acqua ogni volta).
- Aggiungere da 2 a 10 gocce di soluzione di rosso di alizarina e agitare nel Vortex la miscela. Lasciare reagire per 30 secondi e risciacquare due volte il sedimento colorato con circa 5 ml di etanolo e poi una volta con acetone (utilizzare ogni volta un agitatore Vortex per 30 secondi, lasciare decantare il solvente per circa 1 minuto ed eliminarlo).
- Essiccare il sedimento colorato.

2.1.3.4.4. Sedimentazione doppia in PE/TCE ai fini dell'individuazione dei costituenti di invertebrati terrestri.

Tutte le fasi devono essere effettuate in un imbuto separatore conico di vetro da 250 ml, come descritto al punto 2.1.2.2, quarto trattino.

- Trasferire un'aliquota di 10 g (precisione 0,01 g) del sottocampione macinato nell'imbuto separatore e sottoporla dapprima a una sedimentazione singola in TCE, come descritto al punto 2.1.3.4.3, compreso il recupero del sedimento su una carta da filtro posizionata su un imbuto. Questo sedimento può essere utilizzato come quello ottenuto come descritto al punto 2.1.3.4.3.
- Trasferire in un cilindro graduato il piccolo volume di TCE fatto colare con il sedimento. Il cilindro graduato deve essere ulteriormente riempito, aprendo il rubinetto dell'imbuto separatore, fino a ottenere 30 ml di TCE. Una volta raggiunto questo volume, chiudere il rubinetto.
- Sostituire il volume raccolto di TCE aggiungendo nell'imbuto separatore un volume di 30 ml di etere di petrolio, con punto di ebollizione compreso tra 40 °C e 60 °C. Mescolare accuratamente il contenuto dell'imbuto separatore per ottenere una miscela costituita da 30 % PE/70 % TCE (con una densità di circa 1,26 g/cm³). Lasciare riposare il materiale per 10 minuti. Si separeranno due nuove frazioni: un secondo sedimento e un flottato finale (< 1,26 g/cm³). Recuperare il secondo sedimento in una piastra Petri (o su una carta da filtro posizionata su un imbuto) aprendo il rubinetto fino a quando nell'imbuto di separazione restano solo una piccola quantità di miscela solvente e il flottato finale. Raccogliere separatamente su una carta da filtro posizionata su un imbuto il liquido residuo e il flottato finale. Risciacquare la parete dell'imbuto di separazione con un getto di PE per raccogliere tutto il materiale dal flottato finale. Lasciare essiccare il flottato finale. Setacciare il flottato finale a 0,25 mm, a meno che la setacciatura non sia ritenuta necessaria, e procedere all'esame delle due frazioni risultanti ai fini dell'individuazione dei costituenti di invertebrati terrestri.

2.1.4. *Esame al microscopio*

2.1.4.1. Preparazione dei vetrini

Preparare i vetrini per microscopio a partire dal sedimento e, a scelta dell'operatore, dal flottato o dal campione tal quale. Se del caso, unicamente ai fini dell'individuazione dei costituenti di invertebrati terrestri, preparare i vetrini anche a partire dal flottato finale ottenuto come descritto al punto 2.1.3.4.4. Preparare le due frazioni risultanti (fine e grossolana). Le aliquote sottoposte ad analisi delle frazioni distribuite sui vetrini devono essere rappresentative dell'intera frazione.

Preparare un numero di vetrini sufficiente affinché possa essere realizzato un protocollo d'esame completo, come previsto al punto 2.1.4.2.

Montare i vetrini per microscopio con il mezzo di montaggio adeguato secondo le procedure operative standard (POS) stabilite dall'EURL-AP e pubblicate sul suo sito web. Posizionare sui vetrini portaoggetti i vetrini coprioggetti.

2.1.4.2. Diagramma di flusso per l'osservazione ai fini dell'individuazione di particelle animali nei mangimi composti, nelle materie prime per mangimi e nelle premiscele

Per l'osservazione dei vetrini per microscopio preparati procedere conformemente ai diagrammi di flusso di cui ai diagrammi 1 e 2.

Le osservazioni microscopiche devono essere effettuate utilizzando il microscopio composto sul sedimento e, a scelta dell'operatore, sul flottato o sul campione tal quale. Inoltre, ai fini dell'individuazione dei costituenti di invertebrati terrestri, deve essere sottoposto a osservazione anche il flottato finale ottenuto come descritto al punto 2.1.3.4.4 conformemente al diagramma 3. Lo stereomicroscopio può essere utilizzato in aggiunta al microscopio composto per l'osservazione delle frazioni grossolane. Ogni vetrino deve essere esaminato interamente a vari ingrandimenti. Precisazioni in merito all'utilizzo dei diagrammi di flusso sono fornite mediante una POS stabilita dall'EURL-AP e pubblicata sul suo sito web.

Il numero minimo di vetrini da osservare in ogni fase dei diagrammi di flusso per l'osservazione deve essere rigorosamente rispettato, a meno che sia impossibile, pur utilizzando tutto il materiale della frazione, raggiungere il numero di vetrini stabilito, ad esempio se non si ottiene alcun sedimento. Al fine di registrare il numero di particelle, per ogni determinazione devono essere osservati non più di 6 vetrini.

Se si preparano vetrini aggiuntivi a partire dal flottato o dal campione tal quale utilizzando un mezzo di montaggio più specifico con proprietà coloranti, come indicato al punto 2.1.2.1.4, per caratterizzare ulteriormente le strutture (ad esempio piume, peli, muscolo o particelle di sangue) individuate sui vetrini preparati con altri mezzi di montaggio, come indicato al punto 2.1.2.1.3, il numero di particelle deve essere conteggiato in base a un numero di vetrini per determinazione non superiore a 6, compresi i vetrini aggiuntivi per i quali è stato utilizzato un mezzo di montaggio più specifico. I vetrini aggiuntivi, preparati a partire dal flottato finale ottenuto come descritto al punto 2.1.3.4.4, ai fini dell'individuazione dei costituenti di invertebrati terrestri non devono essere presi in considerazione per l'individuazione di elementi di nature diverse (vertebrati terrestri e pesci).

Per facilitare l'identificazione della natura e dell'origine delle particelle, l'operatore può utilizzare ausili quali sistemi di aiuto alle decisioni, gallerie di immagini e campioni di riferimento.

Diagramma 1

Diagramma di flusso per l'osservazione dopo la sedimentazione singola in TCE ai fini dell'individuazione di particelle animali diverse dagli invertebrati terrestri nei mangimi composti, nelle materie prime per mangimi e nelle premisce per la prima determinazione

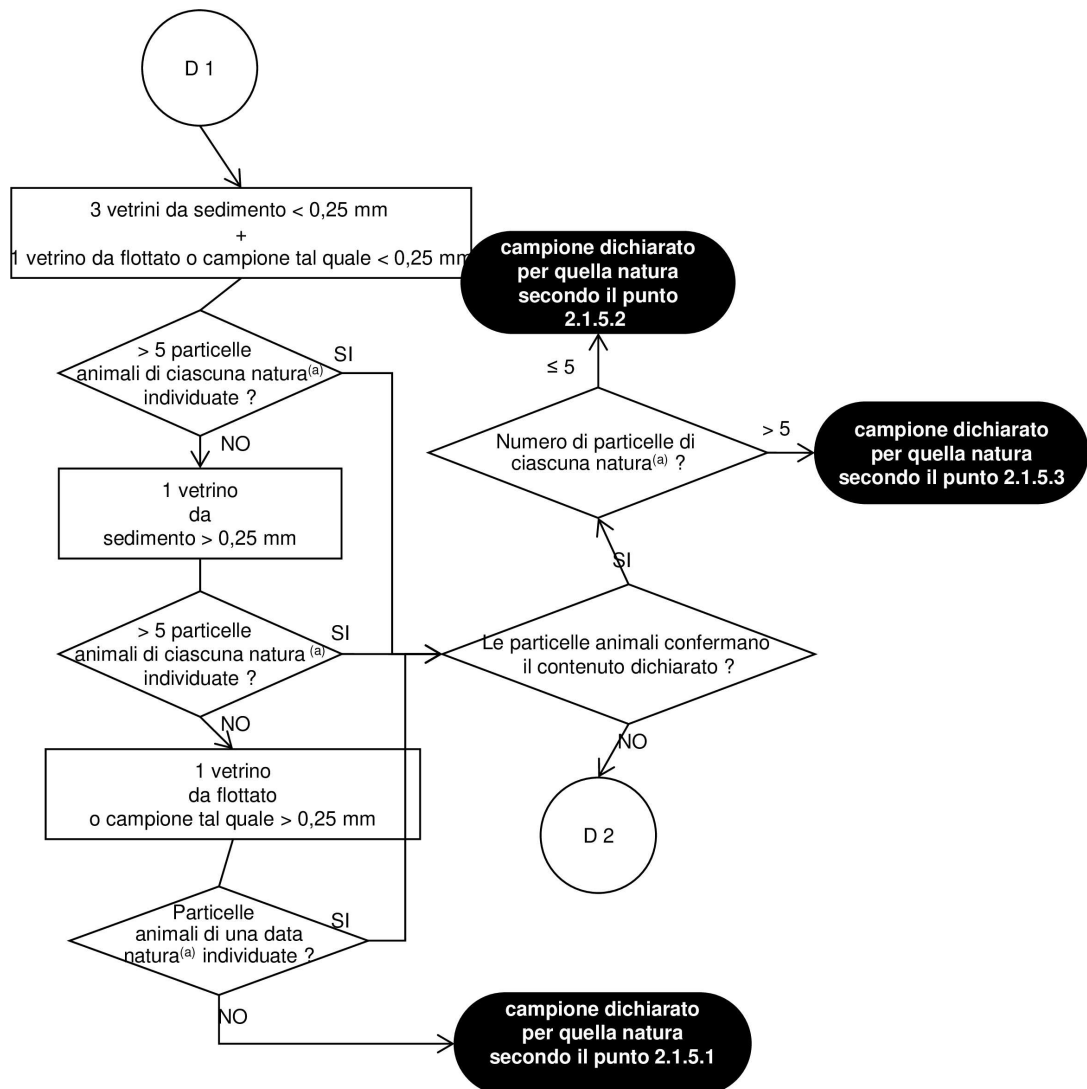


Diagramma 2

Diagramma di flusso per l'osservazione dopo la sedimentazione singola in TCE ai fini dell'individuazione di particelle animali diverse dagli invertebrati terrestri nei mangimi composti, nelle materie prime per mangimi e nelle premiscele per la seconda determinazione

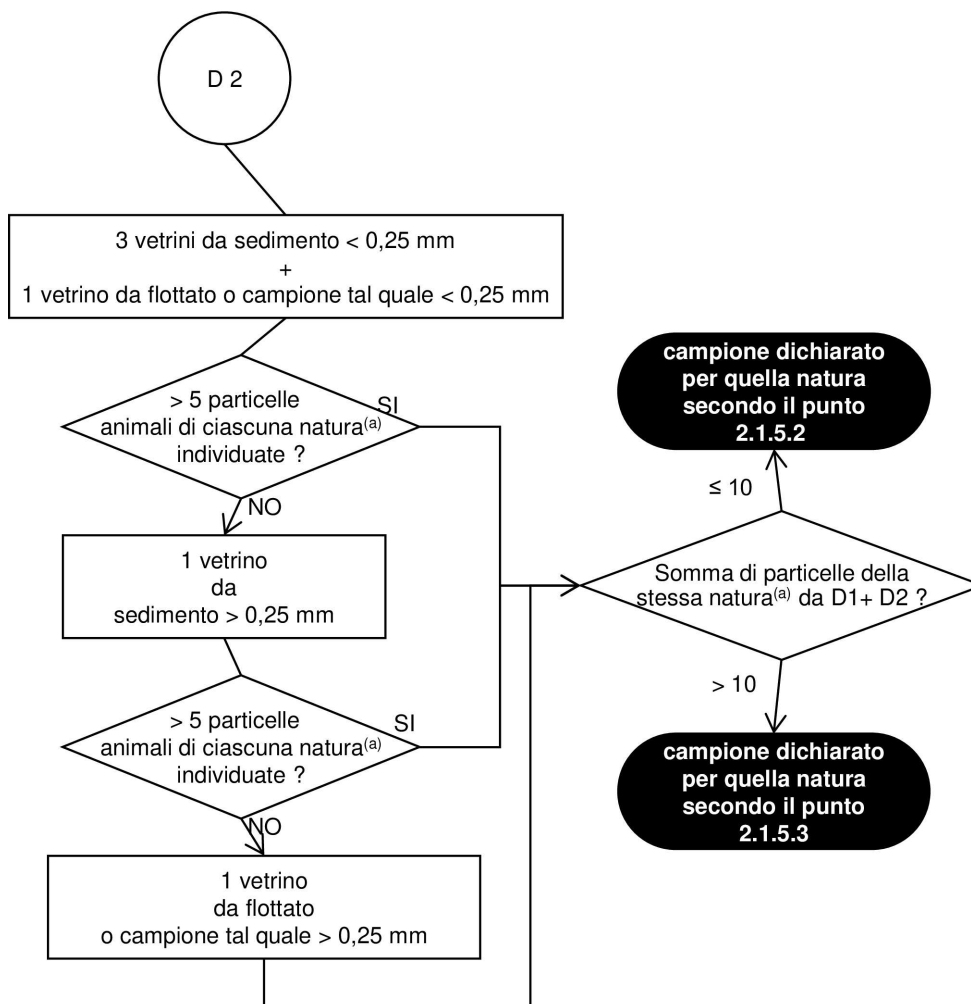
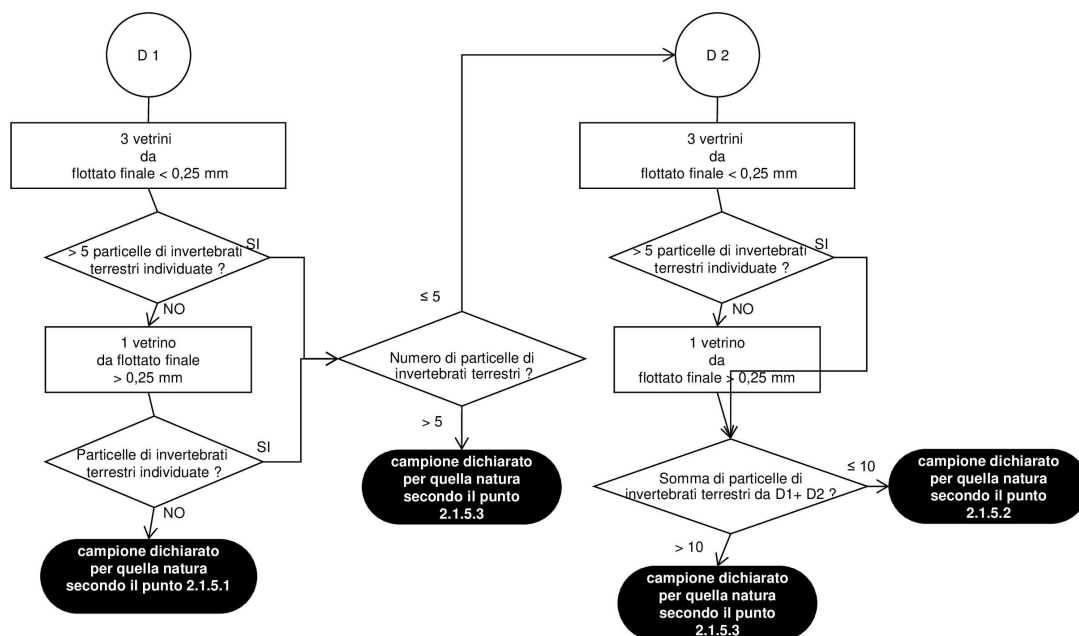


Diagramma 3

Diagramma di flusso per l'osservazione dopo la sedimentazione doppia in PE/TCE ai fini dell'individuazione dei costituenti di invertebrati terrestri nei mangimi composti, nelle materie prime per mangimi e nelle premiscele



2.1.4.3. Numero di determinazioni

Le determinazioni devono essere effettuate su sottocampioni diversi, ognuno di 50 g.

Se, a seguito della prima determinazione effettuata secondo il diagramma di flusso per l'osservazione figurante nel diagramma 1, o se del caso nel diagramma 3, non sono individuate particelle animali, non è necessaria una determinazione aggiuntiva e il risultato dell'analisi è espresso utilizzando la frase di cui al punto 2.1.5.1.

Se, a seguito della prima determinazione effettuata secondo il diagramma di flusso per l'osservazione figurante nel diagramma 1, sono individuate una o più particelle animali di una data natura (ossia vertebrati terrestri o pesci) e la natura delle particelle individuate conferma il contenuto dichiarato del campione, non è necessaria una seconda determinazione. Se il numero delle particelle animali di una data natura individuate durante tale prima determinazione è superiore a 5, il risultato dell'analisi deve essere espresso in base alla natura animale utilizzando la frase di cui al punto 2.1.5.3. In caso contrario, il risultato dell'analisi deve essere espresso in base alla natura animale utilizzando la frase di cui al punto 2.1.5.2.

Se, a seguito della prima determinazione effettuata secondo il diagramma di flusso per l'osservazione figurante nel diagramma 3, sono individuate più di 5 particelle di invertebrati terrestri, non è necessaria una seconda determinazione e il risultato dell'analisi deve essere espresso utilizzando la frase di cui al punto 2.1.5.3 per tale natura.

In tutti gli altri casi, compreso il caso in cui non è stata fornita al laboratorio alcuna dichiarazione del contenuto, effettuare una seconda determinazione a partire da un nuovo sottocampione. Se, a seguito della seconda determinazione effettuata secondo il diagramma di flusso per l'osservazione figurante nel diagramma 2, o se del caso nel diagramma 3, la somma delle particelle animali di una data natura individuate nelle due determinazioni è superiore a 10, il risultato dell'analisi deve essere espresso in base alla natura animale utilizzando la frase di cui al punto 2.1.5.3. In caso contrario, il risultato dell'analisi deve essere espresso in base alla natura animale utilizzando la frase di cui al punto 2.1.5.2.

2.1.5. *Espressione dei risultati*

Quando comunica i risultati, il laboratorio deve indicare il tipo di materiale su cui è stata effettuata l'analisi (sedimento, flottato, flottato finale o campione tal quale). Il rapporto deve indicare chiaramente quante determinazioni sono state effettuate e se non è stata eseguita la setacciatura delle frazioni prima della preparazione dei vetrini, in conformità al punto 2.1.3.4.3, primo trattino, terzo capoverso, o al punto 2.1.3.4.4, terzo trattino.

Il rapporto del laboratorio deve contenere almeno informazioni sulla presenza di costituenti derivati da vertebrati terrestri e da pesci.

Le diverse situazioni devono essere riportate nei modi sottoindicati.

2.1.5.1. Non sono state individuate particelle animali di una data natura:

- «Nel campione esaminato al microscopio ottico non sono state individuate particelle derivate da vertebrati terrestri.»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico non sono state individuate particelle derivate da pesci.»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico non sono state individuate particelle derivate da invertebrati terrestri.»

2.1.5.2. Se sono individuate tra 1 e 5 particelle animali di una data natura, nel caso in cui sia stata effettuata una sola determinazione, oppure se sono state individuate tra 1 e 10 particelle di una data natura, nel caso in cui siano state effettuate due determinazioni (il numero di particelle individuate è inferiore al limite di decisione stabilito nelle POS dell'EURL-AP e pubblicate sul suo sito web):

se è stata effettuata una sola determinazione:

- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate non più di 5 particelle derivate da vertebrati terrestri. Le particelle sono state identificate come ... [ossa, cartilagine, muscolo, peli, corna, altro (specificare a seconda del caso)]. Questo basso numero di particelle è inferiore al limite di decisione stabilito per questo metodo microscopico.»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate non più di 5 particelle derivate da pesci. Le particelle sono state identificate come ... [liscia, scaglia, cartilagine, muscolo, otolite, branchia, altro (specificare a seconda del caso)]. Questo basso numero di particelle è inferiore al limite di decisione stabilito per questo metodo microscopico.»

Se sono state effettuate due determinazioni:

- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate non più di 10 particelle derivate da vertebrati terrestri nelle due determinazioni. Le particelle sono state identificate come ... [ossa, cartilagine, muscolo, peli, corna, altro (specificare a seconda del caso)]. Questo basso numero di particelle è inferiore al limite di decisione stabilito per questo metodo microscopico.»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate non più di 10 particelle derivate da pesci nel corso delle due determinazioni. Le particelle sono state identificate come ... [liscia, scaglia, cartilagine, muscolo, otolite, branchia, altro (specificare a seconda del caso)]. Questo basso numero di particelle è inferiore al limite di decisione stabilito per questo metodo microscopico.»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate non più di 10 particelle derivate da invertebrati terrestri nel corso delle due determinazioni. Le particelle sono state identificate come ... [frammenti di cuticole, parti di bocca, muscoli, strutture tracheali, altro (specificare se del caso)]. Questo basso numero di particelle è inferiore al limite di decisione stabilito per questo metodo microscopico.»

Inoltre:

- se il campione è stato sottoposto a presetacciatura, il rapporto del laboratorio deve indicare in quale frazione (frazione setacciata, frazione pellettata o granuli) sono state individuate le particelle animali, in quanto l'individuazione di particelle animali soltanto nella frazione setacciata può essere il segno di una contaminazione ambientale.

- Se sono individuate solo particelle animali che non possono essere classificate come vertebrati terrestri o pesci (ad esempio fibre muscolari), il rapporto deve indicare che sono state individuate solo tali particelle animali e che non si può escludere la loro provenienza da vertebrati terrestri.

2.1.5.3. Se sono individuate più di 5 particelle animali di una data natura, nel caso in cui sia stata effettuata una sola determinazione, o più di 10 particelle di una data natura, nel caso di due determinazioni:

se è stata effettuata una sola determinazione:

- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate più di 5 particelle derivate da vertebrati terrestri. Le particelle sono state identificate come ... [ossa, cartilagine, muscolo, peli, corna, altro (specificare a seconda del caso)].»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate più di 5 particelle derivate da pesci. Le particelle sono state identificate come ... [liscia, scaglia, cartilagine, muscolo, otolite, branchia, altro (specificare a seconda del caso)].»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate più di 5 particelle derivate da invertebrati terrestri. Le particelle sono state identificate come ... [frammenti di cuticole, parti di bocca, muscoli, strutture tracheali, altro (specificare a seconda del caso)].»

Se sono state effettuate due determinazioni:

- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate più di 10 particelle derivate da vertebrati terrestri nel corso delle due determinazioni. Le particelle sono state identificate come ... [ossa, cartilagine, muscolo, peli, corna, altro (specificare a seconda del caso)].»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate più di 10 particelle derivate da pesci nel corso delle due determinazioni. Le particelle sono state identificate come ... [liscia, scaglia, cartilagine, muscolo, otolite, branchia, altro (specificare a seconda del caso)].»
- «Nel campione esaminato al microscopio ottico sono state individuate più di 10 particelle derivate da invertebrati terrestri nel corso delle due determinazioni. Le particelle sono state identificate come ... [frammenti di cuticole, parti di bocca, muscoli, strutture tracheali, altro (specificare a seconda del caso)].»

Inoltre:

- se il campione è stato sottoposto a presetacciatura, il rapporto del laboratorio deve indicare in quale frazione (frazione setacciata, frazione pellettata o granuli) sono state individuate le particelle animali, in quanto l'individuazione di particelle animali soltanto nella frazione setacciata può essere il segno di una contaminazione ambientale.
 - Se sono individuate solo particelle animali che non possono essere classificate come vertebrati terrestri o pesci (ad esempio fibre muscolari), il rapporto deve indicare che sono state individuate solo tali particelle animali e che non si può escludere la loro provenienza da vertebrati terrestri.»
-