

REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2022/893 DE LA COMISIÓN**de 7 de junio de 2022****por el que se modifica el anexo VI del Reglamento (CE) n.º 152/2009 en lo relativo a los métodos de análisis para la detección de componentes procedentes de invertebrados terrestres con fines de control oficial de los piensos****(Texto pertinente a efectos del EEE)**

LA COMISIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea,

Visto el Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017, relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios, y por el que se modifican los Reglamentos (CE) n.º 999/2001, (CE) n.º 396/2005, (CE) n.º 1069/2009, (CE) n.º 1107/2009, (UE) n.º 1151/2012, (UE) n.º 652/2014, (UE) 2016/429 y (UE) 2016/2031 del Parlamento Europeo y del Consejo, los Reglamentos (CE) n.º 1/2005 y (CE) n.º 1099/2009 del Consejo, y las Directivas 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE y 2008/120/CE del Consejo, y por el que se derogan los Reglamentos (CE) n.º 854/2004 y (CE) n.º 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE y 97/78/CE del Consejo y la Decisión 92/438/CEE del Consejo (Reglamento sobre controles oficiales) ⁽¹⁾, y en particular su artículo 34, apartado 6, párrafo primero, letra a),

Considerando lo siguiente:

- (1) El Reglamento (CE) n.º 152/2009 de la Comisión ⁽²⁾ establece los métodos de análisis utilizados en apoyo de los controles oficiales para hacer cumplir la prohibición del uso de proteína animal elaborada en piensos para animales destinados a la producción de alimentos. Entre ellos se incluyen los métodos de los análisis para la determinación de componentes de origen animal con fines de control oficial de los piensos, que se describen en el anexo VI de dicho Reglamento y que se realizan por microscopía óptica o por reacción en cadena de la polimerasa (RCP).
- (2) El uso de proteína animal transformada derivada de insectos de granja ha sido autorizado en los piensos para animales de acuicultura por el Reglamento (UE) 2017/893 de la Comisión ⁽³⁾ y en los piensos para porcinos y aves de corral por el Reglamento (UE) 2021/1372 de la Comisión ⁽⁴⁾, pero sigue estando prohibido en virtud del Reglamento (CE) n.º 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo ⁽⁵⁾ en determinados piensos, en particular en los piensos para rumiantes.
- (3) El laboratorio de referencia de la Unión Europea para las proteínas animales en los piensos ha desarrollado y validado un protocolo especial, que incluye una fase de sedimentación doble, que garantiza la detección de partículas de invertebrados terrestres, incluidos los insectos, si están presentes en los materiales para piensos, los piensos compuestos y las premezclas sometidos a ensayo en laboratorio. Con esta fase adicional, dicho protocolo debe utilizarse en el marco de los controles oficiales para verificar el correcto cumplimiento de la prohibición del uso de proteína animal transformada de insectos en determinados piensos para animales destinados a la producción de alimentos.

⁽¹⁾ DO L 95 de 7.4.2017, p. 1.

⁽²⁾ Reglamento (CE) n.º 152/2009 de la Comisión, de 27 de enero de 2009, por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los piensos (DO L 54 de 26.2.2009, p. 1).

⁽³⁾ Reglamento (UE) 2017/893 de la Comisión, de 24 de mayo de 2017, que modifica los anexos I y IV del Reglamento (CE) n.º 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo y los anexos X, XIV y XV del Reglamento (UE) n.º 142/2011 de la Comisión por lo que se refiere a las disposiciones sobre proteína animal transformada (DO L 138 de 25.5.2017, p. 92).

⁽⁴⁾ Reglamento (UE) 2021/1372 de la Comisión, de 17 de agosto de 2021, por el que se modifica el anexo IV del Reglamento (CE) n.º 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a la prohibición de alimentar a animales de granja no rumiantes, distintos de los animales de peletería, con proteínas derivadas de animales (DO L 295 de 18.8.2021, p. 1).

⁽⁵⁾ Reglamento (CE) n.º 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de mayo de 2001, por el que se establecen disposiciones para la prevención, el control y la erradicación de determinadas encefalopatías espongiiformes transmisibles (DO L 147 de 31.5.2001, p. 1).

- (4) Por consiguiente, la descripción del método de microscopía óptica que figura en el anexo VI del Reglamento (CE) n.º 152/2009 debe ajustarse para incluir una fase de sedimentación doble en el protocolo de preparación de las muestras que deben someterse a ensayo para detectar componentes procedentes de invertebrados terrestres.
- (5) Procede, por tanto, modificar el anexo VI del Reglamento (CE) n.º 152/2009 en consecuencia.
- (6) Las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité Permanente de Vegetales, Animales, Alimentos y Piensos.

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

Artículo 1

El anexo VI del Reglamento (CE) n.º 152/2009 se modifica de conformidad con el anexo del presente Reglamento.

Artículo 2

El presente Reglamento entrará en vigor a los veinte días de su publicación en el *Diario Oficial de la Unión Europea*.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 7 de junio de 2022.

Por la Comisión
La Presidenta
Ursula VON DER LEYEN

ANEXO

El anexo VI del Reglamento (CE) n.º 152/2009 se modifica como sigue:

1) El punto 1 se sustituye por el texto siguiente:

«1. Objeto y ámbito de aplicación

Los componentes de origen animal presentes en los piensos se determinarán por microscopía óptica o por reacción en cadena de la polimerasa (RCP) de conformidad con las disposiciones establecidas en el presente anexo.

Estos dos métodos permiten detectar la presencia de componentes de origen animal en las premezclas, los materiales para piensos y los piensos compuestos. Sin embargo, no permiten calcular la cantidad de dichos componentes en los materiales para las premezclas, los piensos y los piensos compuestos. Ambos métodos presentan un límite de detección inferior al 0,1 % (p/p).

El método RCP permite identificar los grupos taxonómicos de los componentes de origen animal presentes en las premezclas, los materiales para piensos y los piensos compuestos.

Estos métodos se aplicarán al control de la aplicación de las prohibiciones establecidas en el artículo 7, apartado 1, del Reglamento (CE) n.º 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo (*) y en el anexo IV de dicho Reglamento, así como en el artículo 11, apartado 1, del Reglamento (CE) n.º 1069/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo (**).

Dependiendo del tipo de piensos que se esté analizando, podrán utilizarse estos métodos, dentro de un único protocolo de actuación, ya sea solos o combinados de conformidad con los procedimientos normalizados de trabajo (PNT) establecidos por el laboratorio de referencia de la UE para las proteínas animales en los piensos (EURL-AP) y publicados en su sitio web (***).

(*) Reglamento (CE) n.º 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de mayo de 2001, por el que se establecen disposiciones para la prevención, el control y la erradicación de determinadas encefalopatías espongiformes transmisibles (DO L 147 de 31.5.2001, p. 1).

(**) Reglamento (CE) n.º 1069/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de octubre de 2009, por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales y los productos derivados no destinados al consumo humano y por el que se deroga el Reglamento (CE) n.º 1774/2002 (Reglamento sobre subproductos animales) (DO L 300 de 14.11.2009, p. 1).

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

2) El punto 2.1 se sustituye por el texto siguiente:

«2.1. **Microscopía óptica**

2.1.1. *Principio*

Los componentes de origen animal que pudieran estar presentes en las premezclas, los materiales para piensos y los piensos compuestos enviados para su análisis se identifican sobre la base de unas características típicas microscópicamente identificables, como fibras musculares y otras partículas de carne, cartílago, huesos, cuerno, pelo, cerdas, fragmentos cuticulares de invertebrados, estructuras traqueales de insectos, sustancias sanguíneas, glóbulos lácteos, cristales de lactosa, plumas, cáscaras de huevo, espinas y escamas de pescado.

Los exámenes microscópicos se realizarán tras la preparación de las muestras por sedimentación.

Las muestras se someterán a una fase de sedimentación como sigue:

- a) para la detección de componentes de origen animal distintos de los procedentes de invertebrados terrestres, una fase de sedimentación única en tetracloroetileno (TCE), tal como se detalla en el punto 2.1.3.4.3;
- b) para la detección de componentes procedentes de invertebrados terrestres, una fase de doble sedimentación de éter de petróleo/tetracloroetileno (PE/TCE), tal como se detalla en el punto 2.1.3.4.4.

2.1.2. *Reactivos y equipo*

2.1.2.1. Reactivos

2.1.2.1.1. Agente de concentración

- Tetracloroetileno (densidad relativa 1,62).
- Éter de petróleo (PE), punto de ebullición 40-60 °C (densidad específica 0,65).

2.1.2.1.2. Reactivo de tinción

- Solución de rojo de alizarina (diluir 2,5 ml de ácido clorhídrico 1M en 100 ml de agua y añadir a esta solución 200 mg de rojo de alizarina).

2.1.2.1.3. Medios de montaje

- Lejía (NaOH al 2,5 % p/v o KOH al 2,5 % p/v).
- Glicerol (sin diluir, viscosidad: 1 490 cP) o un medio de montaje con propiedades equivalentes para la preparación no permanente de los portaobjetos.
- Norland® Optical Adhesive 65 (viscosidad: 1 200 cP) o una resina con propiedades equivalentes para la preparación permanente de los portaobjetos.

2.1.2.1.4. Medios de montaje con propiedades de tinción

- Solución de Lugol (disolver 2 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua y añadir 1 g de yodo, agitando con frecuencia).
- Reactivo de cistina (2 g de acetato de plomo, 10 g de NaOH/100 ml de agua).
- Reactivo de Fehling [preparado antes de utilizarse a partir de partes iguales (1/1) de dos soluciones madre A y B; solución A: disolver 6,9 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado en 100 ml de agua; solución B: disolver 34,6 g de tartrato sódico-potásico tetrahidratado y 12 g de NaOH en 100 ml de agua].
- Tetrametilbencidina/peróxido de hidrógeno [disolver 1 g de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) en 100 ml de ácido acético glacial y 150 ml de agua; antes de utilizarlo, mezclar 4 partes de esta solución de TMB con 1 parte de peróxido de hidrógeno al 3 %].

2.1.2.1.5. Agentes de lavado

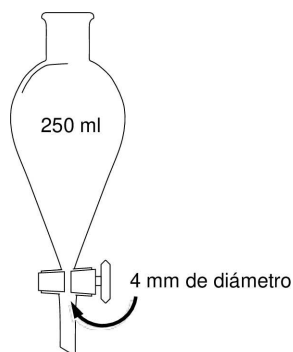
- Etanol \geq 96 % (calidad técnica).
- Acetona (calidad técnica).

2.1.2.1.6. Reactivo decolorante

- Solución comercial de hipoclorito de sodio (9-14 % de cloro activo).

2.1.2.2. Equipo

- Balanza analítica con una exactitud de 0,001 g.
- Material de trituración: molino de cuchillas o rotatorio. Si se utiliza un molino rotatorio, se prohibirán los tamices \leq 0,5 mm.
- Tamices de malla cuadrada con luces de 0,25 mm y de 1 mm. Exceptuando el tamizado previo de la muestra, el diámetro de los tamices no deberá superar los 10 cm para impedir la pérdida de materiales. No se exige el calibrado de los tamices.
- Embudo de decantación cónico de vidrio con un contenido de 250 ml provisto de un grifo de cierre de teflón o esmerilado en la base del cono. El diámetro de la apertura del grifo será \geq 4 mm. De forma alternativa, solamente para la sedimentación única de TCE, podrá utilizarse un vaso de precipitados de fondo cónico siempre que el laboratorio haya demostrado que los niveles de detección son equivalentes a los obtenidos mediante el embudo de decantación cónico de vidrio.



Embudo de decantación

- Estereomicroscopio con un intervalo de 6,5 a 40 aumentos finales como mínimo.
- Microscopio compuesto con un intervalo de 100 a 400 aumentos finales como mínimo con luz transmitida a campo claro. De forma complementaria pueden utilizarse la luz polarizada y el contraste diferencial interferencial.
- Material de vidrio habitual de laboratorio.
- Equipo para la preparación de portaobjetos: portaobjetos clásicos para microscopio, portaobjetos excavados, cubreobjetos (20 × 20 mm), pinzas, espátula fina.
- Horno de laboratorio.
- Centrífuga.
- Papel de filtro: filtro cualitativo de celulosa (tamaño de poro 4-11 µm).

2.1.3. Muestreo y preparación de las muestras

2.1.3.1. Muestreo

Se utilizará una muestra representativa tomada de conformidad con el anexo I.

2.1.3.1.1. Secado de la muestra

Las muestras con un contenido de humedad > 14 % se secarán antes de manipularlas de conformidad con el anexo III.

2.1.3.1.2. Tamizado previo de la muestra

Con el fin de reunir información sobre la posible contaminación ambiental de los piensos, se recomienda tamizar previamente a 1 mm los piensos granulados y los granos y, seguidamente, preparar y analizar las dos fracciones resultantes, que deben considerarse como muestras distintas, e informar sobre ellas por separado.

2.1.3.2. Precauciones que deben tomarse

Con el fin de evitar la contaminación cruzada en el laboratorio, todos los equipos reutilizables deberán limpiarse cuidadosamente antes de su utilización. Las piezas del embudo de decantación se desmontarán antes de la limpieza. Las piezas del embudo de decantación y el material de vidrio deberán someterse a un lavado manual previo y, seguidamente, lavarse en una máquina lavadora. Los tamices deberán limpiarse con un cepillo de cerdas sintéticas rígidas. Después de tamizar materiales grasos, como la harina de pescado, se recomienda efectuar una limpieza final de los tamices con acetona y aire comprimido.

2.1.3.3. Preparación de muestras consistentes en grasa o aceite

En el análisis de muestras consistentes en grasas podrá utilizarse el siguiente protocolo:

- si la grasa es sólida, se calentará en un horno hasta su licuefacción;
- a continuación, se pipetearán 40 ml de grasa del fondo de la muestra a un tubo de centrifugación;
- se centrifugará la muestra durante 10 min a 4 000 revoluciones por minuto;
- si, tras la centrifugación, la grasa se hubiera solidificado, se calentará en un horno hasta su licuefacción;
- se repetirá la centrifugación durante 5 min a 4 000 revoluciones por minuto;
- por medio de una cucharilla o una espátula, se transferirá la mitad de las impurezas decantadas a portaobjetos de microscopía para su examen; se recomienda el glicerol como medio de montaje;
- las impurezas restantes se utilizarán para preparar el sedimento como se describe en el punto 2.1.3.4.3, primer guion.

Se aplicará el mismo protocolo, con excepción de los guiones primero y cuarto, para la preparación de muestras consistentes en aceite.

2.1.3.4. Preparación de muestras distintas de grasa o aceite

2.1.3.4.1. Submuestras y trituración: un mínimo de 50 g de la muestra se dividirá en submuestras para análisis, que posteriormente se molerán.

2.1.3.4.2. Preparación de la materia prima: se preparará una porción de un mínimo de 5 g de la submuestra molida; se pasará por un tamiz de 0,25 mm y se examinarán las dos fracciones resultantes.

2.1.3.4.3. Sedimentación única de TCE para la detección de componentes de origen animal distintos de los procedentes de invertebrados terrestres.

— Extracción y preparación del sedimento:

Transferir una porción de 10 g (con una exactitud de 0,01 g) de la submuestra molida al embudo de decantación o vaso de precipitados de fondo cónico y añadir 50 ml de TCE. La porción transferida al embudo se limitará a 3 g si se trata de harina de pescado u otros productos de origen animal puros, de ingredientes minerales o de premezclas que generan más de un 10 % de sedimento. Se agitará enérgicamente la mezcla durante al menos 30 s y se añadirán cuidadosamente 50 ml más de TCE, al tiempo que se lava la superficie interior del embudo para eliminar cualquier partícula que hubiera adherido. La mezcla resultante se dejará reposar durante al menos 5 min antes de separar el sedimento abriendo el grifo de cierre.

Si se utiliza un vaso de precipitados de fondo cónico se removerá enérgicamente la mezcla durante al menos 15 s y se lavará cuidadosamente el vaso de precipitados con al menos 10 ml de TCE limpio para arrastrar cualquier partícula que se hubiera adherido a las paredes. Se dejará reposar la mezcla durante 3 min y, seguidamente, volverá a removerse durante 15 s y se lavará cuidadosamente el vaso de precipitados con al menos 10 ml de TCE limpio para arrastrar cualquier partícula que se hubiera adherido a las paredes. La mezcla resultante se dejará reposar durante al menos 5 min y a continuación se retirará la fracción líquida mediante una cuidadosa decantación, velando por no perder ninguno de los sedimentos; la fracción líquida se desechará.

El sedimento se recogerá sobre un papel de filtro colocado en un embudo para permitir la separación del TCE restante, evitando al mismo tiempo depositar grasa en el sedimento. El sedimento se secará. Se recomienda pesar el sedimento posteriormente (con una exactitud de 0,001 g) para controlar la fase de sedimentación. Por último, el sedimento se pasará por un tamiz de 0,25 mm y se examinarán las dos fracciones resultantes, salvo que no se considere necesario el tamizado.

— Extracción y preparación del sobrenadante:

Tras recuperar el sedimento con el método descrito anteriormente, quedarán dos fases en el embudo de decantación: una líquida consistente en TCE y una sólida consistente en material flotante. La fase sólida es el sobrenadante y se recuperará decantando completamente el TCE del embudo abriendo el grifo de cierre. Invertiendo el embudo de decantación, el sobrenadante se transferirá a una gran placa de Petri y se secará al aire en una campana extractora. Se pasará por un tamiz de 0,25 mm y se examinarán las dos fracciones resultantes.

— Utilización de reactivos de tinción:

A fin de facilitar la correcta identificación de los componentes de origen animal, el analista podrá utilizar reactivos de tinción durante la preparación de la muestra, de conformidad con las directrices emitidas por el EURL-AP y publicadas en su sitio web.

En caso de que se utilice una solución de rojo de alizarina para teñir el sedimento, se aplicará el siguiente protocolo:

- el sedimento seco se transferirá a un tubo de ensayo de vidrio y se lavará dos veces con unos 5 ml de etanol (en ambas ocasiones deberá utilizarse un vórtex durante 30 s y deberá dejarse reposar el disolvente alrededor de 1 minuto 30 s antes de decantarlo);
- el sedimento se decolorará añadiendo al menos 1 ml de solución de hipoclorito de sodio; se dejará que la reacción continúe durante 10 min; el tubo se llenará de agua y se dejará sedimentar durante 2 a 3 min, tras lo cual se decantarán suavemente el agua y las partículas suspendidas;
- el sedimento se lavará dos veces más con unos 10 ml de agua (utilizar un vórtex durante 30 s, dejar reposar y decantar el agua cada vez);
- se añadirán de 2 a 10 gotas de la solución de rojo de alizarina y la mezcla se agitará con un vórtex; se dejará reaccionar 30 s y el sedimento coloreado se lavará dos veces con aproximadamente 5 ml de etanol y seguidamente una vez con acetona (en cada ocasión deberá utilizarse un vórtex durante 30 s y deberá dejarse reposar el disolvente alrededor de 1 minuto antes de decantarlo);
- por último, se secará el sedimento coloreado.

2.1.3.4.4. Sedimentación doble de PE/TCE para la detección de constituyentes procedentes de invertebrados terrestres.

Todas las fases se realizarán en un embudo de decantación cónico de vidrio de 250 ml, tal como se describe en el punto 2.1.2.2, cuarto guion.

- Una porción de 10 g (con una exactitud de 0,01 g) de la submuestra molida se transferirá al embudo de decantación y se someterá primero a una sedimentación única de TCE, tal como se describe en el punto 2.1.3.4.3, incluida la recuperación del sedimento en un papel de filtro colocado en un embudo. Este sedimento puede utilizarse como el obtenido del punto 2.1.3.4.3.
- El pequeño volumen de TCE escurrido junto con el sedimento se transferirá a un tubo graduado. Al abrir el grifo de cierre del embudo de decantación, el tubo graduado debe llenarse aún más hasta obtener 30 ml de TCE. Una vez alcanzado este volumen, se cerrará el grifo de cierre.
- Este volumen recogido de TCE se sustituirá añadiendo un volumen de 30 ml de éter de petróleo con un punto de ebullición de 40-60 °C al embudo de decantación. El contenido del embudo de decantación deberá mezclarse a conciencia para obtener una mezcla de 30 % PE/70 % TCE (con una densidad aproximada de 1,26 g.cm⁻³). Se dejará que el material se sedimente durante 10 min. Dos nuevas fracciones se segregarán: un segundo sedimento y un sobrenadante final (< 1,26 g.cm⁻³). El segundo sedimento debe recuperarse en una placa de Petri (o en un papel de filtro colocado en un embudo) abriendo el grifo de cierre hasta que solo queden en el embudo de decantación un poco de la mezcla disolvente y el sobrenadante final. El líquido restante y el sobrenadante final se recogerán por separado en un papel de filtro colocado en un embudo. La pared del embudo de decantación deberá enjuagarse con un chorro de PE para recoger todo el material del sobrenadante final. Se dejará secar el sobrenadante final. Por último, el sobrenadante final se pasará por un tamiz de 0,25 mm y se examinarán las dos fracciones resultantes para detectar componentes procedentes de invertebrados terrestres, salvo que no se considere necesario el tamizado.

2.1.4. Examen al microscopio

2.1.4.1. Preparación de los portaobjetos

Los portaobjetos de microscopía deberán prepararse a partir del sedimento y, en función de la elección del analista, bien a partir del sobrenadante o de la materia prima. Cuando proceda, para detectar solamente los componentes procedentes de invertebrados terrestres, también se prepararán portaobjetos a partir del sobrenadante final obtenido como se describe en el punto 2.1.3.4.4. Se prepararán las dos fracciones resultantes (la fina y la gruesa). Las porciones de las fracciones destinadas al análisis esparcidas en los portaobjetos deberán ser representativas de la totalidad de la fracción.

Se preparará un número suficiente de portaobjetos con el fin de garantizar que se lleva a cabo un protocolo completo de examen como el establecido en el punto 2.1.4.2.

Los portaobjetos de microscopía se montarán con el medio de montaje adecuado, de conformidad con los PNT establecidos por el EURL-AP y publicados en su sitio web. Los portaobjetos se cubrirán con cubreobjetos.

2.1.4.2. Diagrama de flujo de observación para la detección de partículas de origen animal en piensos compuestos, material para piensos y premezclas.

Los portaobjetos para microscopía preparados se observarán de conformidad con los diagramas de flujo de observación establecidos en los diagramas 1 y 2.

Para las observaciones microscópicas, se observarán con un microscopio compuesto el sedimento y, en función de la elección del analista, bien el sobrenadante o la materia prima. Además, para detectar los componentes procedentes de invertebrados terrestres, también se realizarán observaciones a partir del sobrenadante final obtenido como se describe en el punto 2.1.3.4.4 de conformidad con el diagrama 3. En el caso de las fracciones gruesas podrá utilizarse el estereomicroscopio además del microscopio compuesto. Cada portaobjetos se observará en su totalidad a diversos aumentos. Un PNT establecido por el EURL-AP y publicado en su sitio web precisará en detalle cómo utilizar los diagramas de flujo.

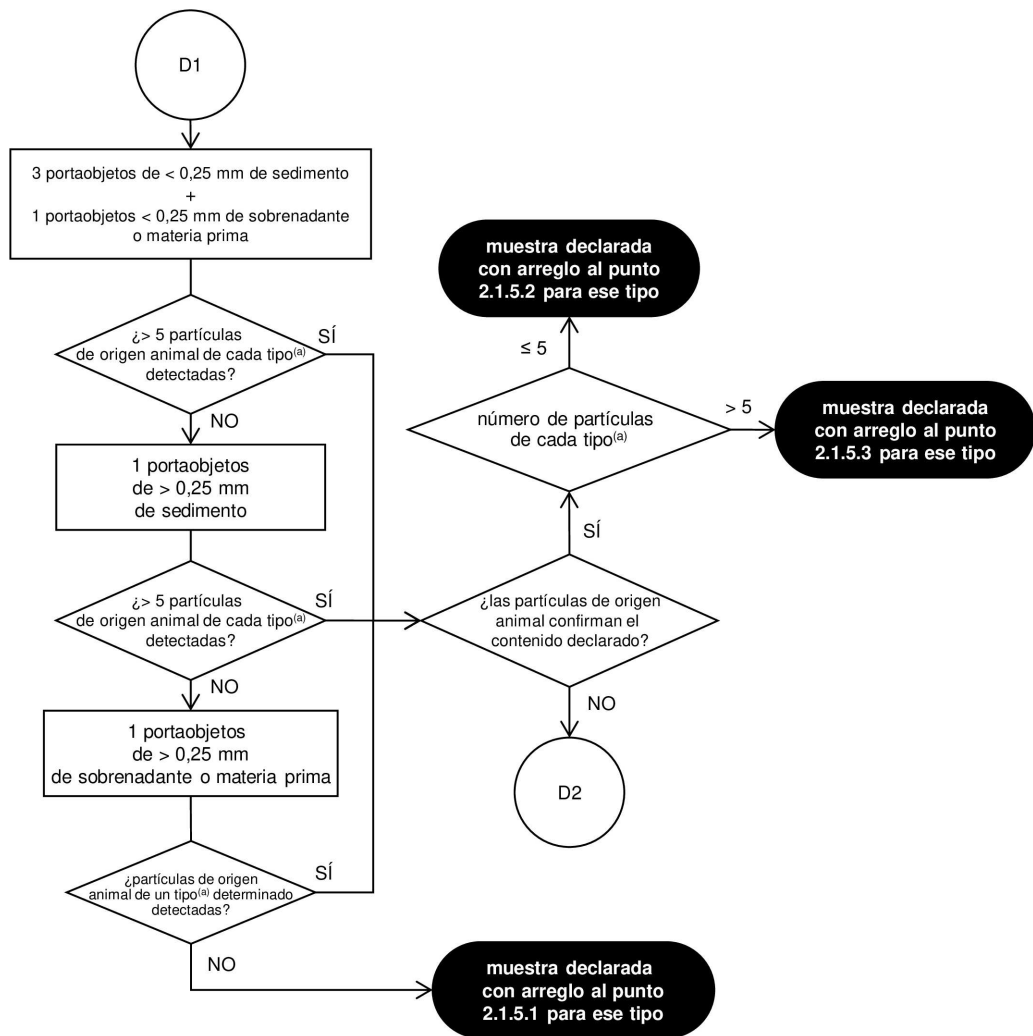
Se respetará estrictamente el número mínimo de portaobjetos que se observarán en cada fase de los diagramas de flujo de observación, salvo en caso de que la totalidad del material de la fracción no permita alcanzar el número de portaobjetos establecido, por ejemplo cuando no se obtenga sedimento. Por cada determinación no se utilizarán más de 6 portaobjetos para registrar el número de partículas.

Cuando se preparen portaobjetos adicionales en el sobrenadante o en la materia prima utilizando un medio de montaje con propiedades de tinción más específico, tal como se describe en el punto 2.1.2.1.4, para caracterizar en mayor medida las estructuras (por ejemplo, plumas, pelos, músculos o partículas sanguíneas) que se hayan detectado en portaobjetos preparados con otros medios de montaje, tal como se describe en el punto 2.1.2.1.3, el número de partículas se calculará sobre la base de un número de portaobjetos por determinación no superior a 6, incluidos los portaobjetos adicionales con un medio de montaje más específico. Los portaobjetos adicionales preparados a partir del sobrenadante final obtenido, tal como se describe en el punto 2.1.3.4.4, para la detección de componentes procedentes de invertebrados terrestres no se tendrán en cuenta para la identificación de otros tipos (vertebrados terrestres y pescado).

Con el fin de facilitar la identificación del tipo y el origen de las partículas, el analista podrá utilizar herramientas de apoyo, como los sistemas de apoyo a la toma de decisiones, los bancos de imágenes y las muestras de referencia.

Diagrama 1

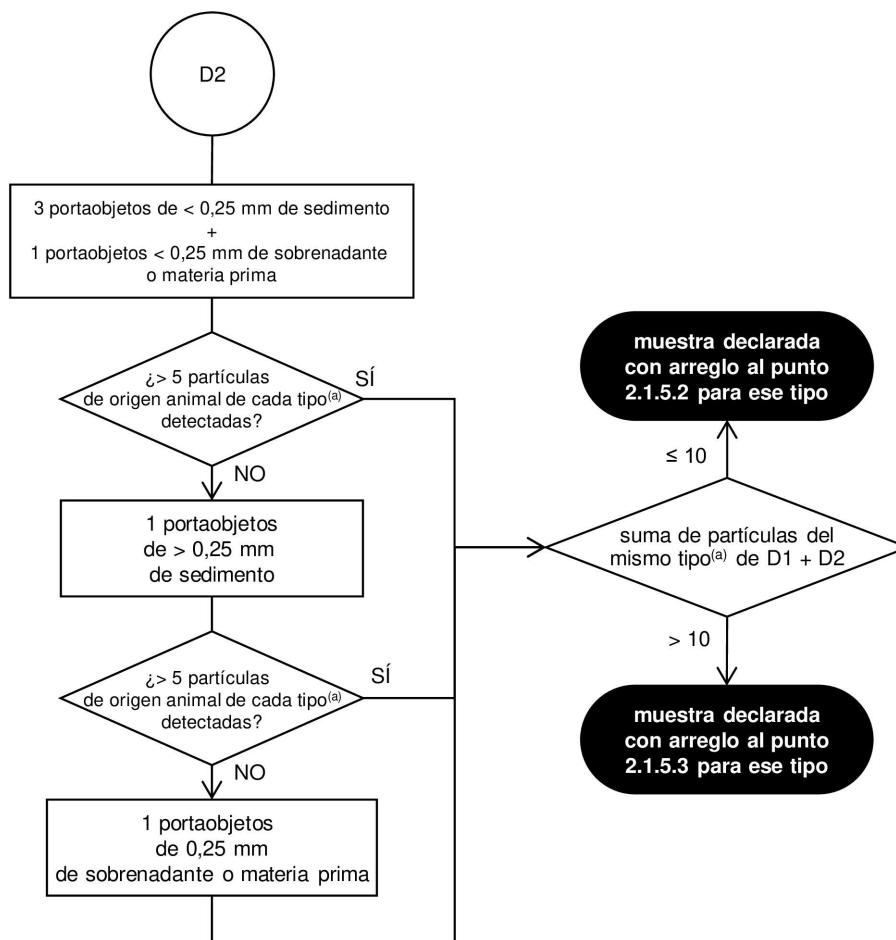
Diagrama de flujo de observación tras la sedimentación única de TCE para la detección de partículas animales distintas de las procedentes de invertebrados terrestres en piensos compuestos, materiales para piensos y premezclas para la primera determinación



(«D1» y «D2» hacen referencia a la primera y segunda determinaciones; (a): vertebrados terrestres, pescado)

Diagrama 2

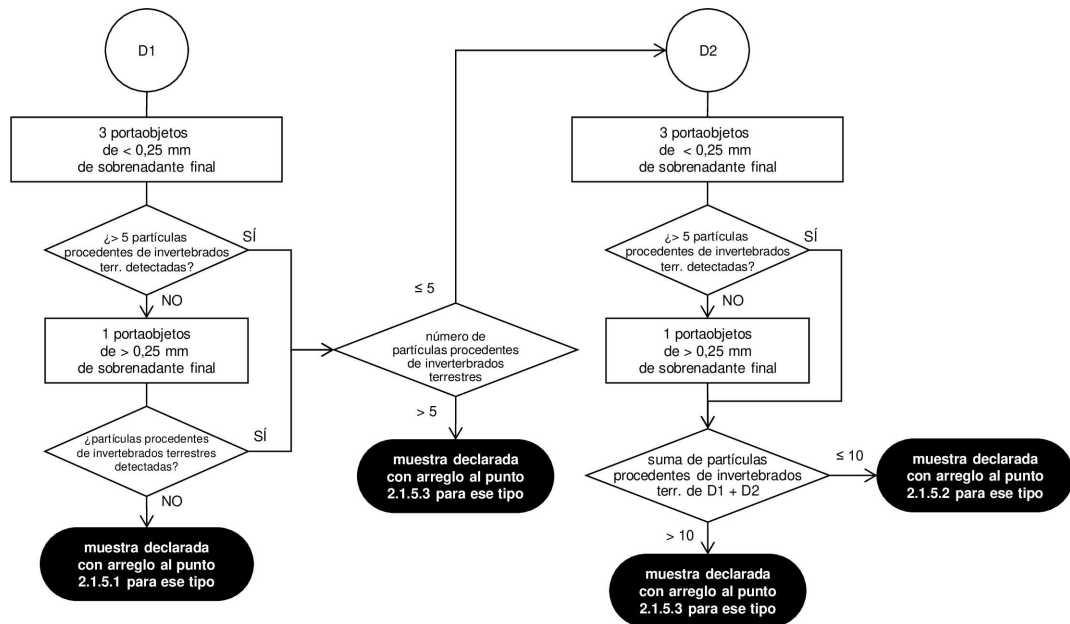
Diagrama de flujo de observación tras la sedimentación única de TCE para la detección de partículas animales distintas de las procedentes de invertebrados terrestres en piensos compuestos, materiales para piensos y premezclas para la segunda determinación



(«D1» y «D2» hacen referencia a la primera y segunda determinaciones; (a): vertebrados terrestres, pescado)

Diagrama 3

Diagrama de flujo de observación tras la sedimentación doble de PE/TCE para la detección de componentes procedentes de invertebrados terrestres en piensos compuestos, materiales para piensos y premezclas



(«D1» y «D2» hacen referencia a la primera y segunda determinaciones)

2.1.4.3. Número de determinaciones

Las determinaciones se llevarán a cabo en diferentes submuestras de 50 g cada una.

Si tras la primera determinación llevada a cabo de conformidad con el diagrama de flujo de observación establecido en el diagrama 1, o, cuando proceda, el diagrama 3, no se detecta ninguna partícula de origen animal, no será necesaria ninguna determinación complementaria y se notificará el resultado del análisis utilizando la formulación establecida en el punto 2.1.5.1.

Si tras la primera determinación llevada a cabo de conformidad con el diagrama de flujo de observación establecido en el diagrama 1 se detectan una o más partículas animales de un tipo determinado (es decir, de vertebrados terrestres o de pescado) y el tipo de las partículas halladas confirma el contenido declarado de la muestra, no será necesaria una segunda determinación. Si el número de partículas de origen animal de un tipo determinado detectadas fuera superior a 5, se notificará el resultado del análisis por cada tipo de animal utilizando la formulación establecida en el punto 2.1.5.3. En cualquier otro caso, se notificará el resultado del análisis por cada tipo de animal utilizando la formulación establecida en el punto 2.1.5.2.

Si tras la primera determinación llevada a cabo de conformidad con el diagrama de flujo de observación establecido en el diagrama 3 se detectan más de 5 partículas de invertebrados terrestres, no será necesaria ninguna segunda determinación y se notificará el resultado del análisis utilizando la formulación establecida en el punto 2.1.5.3 para este tipo.

En todos los demás casos, incluso cuando no se haya facilitado al laboratorio ninguna declaración de contenido, se efectuará una segunda determinación a partir de una nueva submuestra. Si tras la segunda determinación llevada a cabo de conformidad con el diagrama de flujo de observación establecido en el diagrama 2, o, cuando proceda, del diagrama 3, la suma de las partículas de origen animal de un tipo determinado detectadas en las dos determinaciones fuera superior a 10, se notificará el resultado del análisis por cada tipo de animal utilizando la formulación establecida en el punto 2.1.5.3. En cualquier otro caso, se notificará el resultado del análisis por cada tipo de animal utilizando la formulación establecida en el punto 2.1.5.2.

2.1.5. *Expresión de los resultados*

Al comunicar los resultados, el laboratorio indicará en qué tipo de material se ha realizado el análisis (sedimento, sobrenadante, sobrenadante final o materia prima). El informe del laboratorio indicará claramente cuántas determinaciones se han llevado a cabo y si no se ha efectuado el tamizado de las fracciones antes de la preparación de los portaobjetos, de conformidad con el punto 2.1.3.4.3, primer guion, párrafo tercero, o el punto 2.1.3.4.4, tercer guion.

Dicho informe contendrá, como mínimo, información sobre la presencia de componentes derivados de vertebrados terrestres y de pescado.

Las diversas situaciones se comunicarán de la forma que se expone a continuación.

2.1.5.1. Si no se ha detectado ninguna partícula de origen animal de ningún tipo determinado:

- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, no se ha detectado en la muestra presentada ninguna partícula derivada de vertebrados terrestres”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, no se ha detectado en la muestra presentada ninguna partícula derivada de pescado”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, no se ha detectado en la muestra presentada ninguna partícula derivada de invertebrados terrestres”.

2.1.5.2. Si se han detectado entre 1 y 5 partículas de origen animal de un tipo determinado en caso de haberse efectuado solo una determinación, o entre 1 y 10 partículas de un tipo determinado en caso de dos determinaciones (el número de partículas detectadas es inferior al límite de decisión establecido en los PNT del EURL-AP, publicado en su sitio web):

Si solo se ha efectuado una determinación:

- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, no se han detectado en la muestra presentada más de 5 partículas derivadas de vertebrados terrestres. Las partículas se han identificado como... [hueso, cartílago, músculo, pelo, cuerno, otras partículas (especifíquese según proceda)]. Este número tan reducido de partículas es inferior al límite de decisión establecido para este método microscópico”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, no se han detectado en la muestra presentada más de 5 partículas derivadas de pescado. Las partículas se han identificado como... [espinas, escamas, cartílago, músculo, otolitos, branquias, otras partículas (especifíquese según proceda)]. Este número tan reducido de partículas es inferior al límite de decisión establecido para este método microscópico”.

Si se han efectuado dos determinaciones:

- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, no se han detectado en la muestra presentada más de diez partículas derivadas de vertebrados terrestres en las dos determinaciones. Las partículas se han identificado como... [hueso, cartílago, músculo, pelo, cuerno, otras partículas (especifíquese según proceda)]. Este número tan reducido de partículas es inferior al límite de decisión establecido para este método microscópico”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, no se han detectado en la muestra presentada más de diez partículas derivadas de pescado en las dos determinaciones. Las partículas se han identificado como... [espinas, escamas, cartílago, músculo, otolitos, branquias, otras partículas (especifíquese según proceda)]. Este número tan reducido de partículas es inferior al límite de decisión establecido para este método microscópico”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, no se han detectado en la muestra presentada más de diez partículas derivadas de vertebrados terrestres en las dos determinaciones. Las partículas se han identificado como... [fragmentos cuticulares, piezas bucales, músculos, estructuras traqueales, otras partículas (especifíquese según proceda)]. Este número tan reducido de partículas es inferior al límite de decisión establecido para este método microscópico”.

Además:

- En caso de tamizado previo de la muestra, el informe del laboratorio mencionará en qué fracción (fracción tamizada, fracción granulada o granos) se han detectado las partículas de origen animal, en la medida en que la detección de las partículas de origen animal únicamente en la fracción tamizada puede ser un indicio de contaminación ambiental.

- Cuando solo se detecten partículas de origen animal que no puedan categorizarse como vertebrados terrestres o pescado (por ejemplo, fibras musculares), el informe mencionará que solo se han detectado dichas partículas de origen animal y que no puede excluirse que procedan de vertebrados terrestres.

2.1.5.3. Si se han detectado más de cinco partículas de origen animal de un tipo determinado en caso de haberse efectuado solo una determinación, o más de diez partículas de un tipo determinado en caso de dos determinaciones:

Si solo se ha efectuado una determinación:

- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, se han detectado en la muestra presentada más de 5 partículas derivadas de vertebrados terrestres. Las partículas se han identificado como... [hueso, cartílago, músculo, pelo, cuerno, otras partículas (especifíquese según proceda)]”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, se han detectado en la muestra presentada más de cinco partículas derivadas de pescado. Las partículas se han identificado como... [espinas, escamas, cartílago, músculo, otolitos, branquias, otras partículas (especifíquese según proceda)]”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, se han detectado en la muestra presentada más de 5 partículas derivadas de invertebrados terrestres. Las partículas se han identificado como... [fragmentos cuticulares, piezas bucales, músculos, estructuras traqueales, otras partículas (especifíquese según proceda)]”.

Si se han efectuado dos determinaciones:

- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, se han detectado en la muestra presentada más de 10 partículas derivadas de vertebrados terrestres en las dos determinaciones. Las partículas se han identificado como... [hueso, cartílago, músculo, pelo, cuerno, otras partículas (especifíquese según proceda)]”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, se han detectado en la muestra presentada más de 10 partículas derivadas de pescado en las dos determinaciones. Las partículas se han identificado como... [espinas, escamas, cartílago, músculo, otolitos, branquias, otras partículas (especifíquese según proceda)]”.
- “Dentro de los límites del examen con microscopio óptico, se han detectado en la muestra presentada más de 10 partículas derivadas de invertebrados terrestres en las dos determinaciones. Las partículas se han identificado como... [fragmentos cuticulares, piezas bucales, músculos, estructuras traqueales, otras partículas (especifíquese según proceda)]”.

Además:

- En caso de tamizado previo de la muestra, el informe del laboratorio mencionará en qué fracción (fracción tamizada, fracción granulada o granos) se han detectado las partículas de origen animal, en la medida en que la detección de las partículas de origen animal únicamente en la fracción tamizada puede ser un indicio de contaminación ambiental.
 - Cuando solo se detecten partículas de origen animal que no puedan categorizarse como vertebrados terrestres o pescado (por ejemplo, fibras musculares), el informe mencionará que solo se han detectado dichas partículas de origen animal y que no puede excluirse que procedan de vertebrados terrestres.».
-