

Op de voordracht van Onze Minister bevoegd voor de Volksgezondheid,

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

Artikel 1. In bijlage I van het koninklijk besluit van 30 april 1976 betreffende de keuring van en de handel in vis, gewijzigd bij het koninklijk besluit van 12 maart 2000, worden de volgende wijzigingen aangebracht :

1° in hoofdstuk IV, afdeling IV, punt 2., eerste lid, worden de woorden « vis bedoeld in bijlage II, hoofdstuk I, punt 2, van dit besluit, die niet is heruitgezet of gezuiverd » vervangen door de woorden « levende tweekleppige weekdieren die niet werden heruitgezet of gezuiverd »;

2° in hoofdstuk IV, afdeling V, punt 2, van de Nederlandse tekst, worden de woorden « op het rauwe eindproduct » vervangen door de woorden « op het rauwe product of eindproduct ».

Art. 2. In artikel 33, a), van het koninklijk besluit van 12 maart 2000 tot wijziging van het koninklijk besluit van 30 april 1976 betreffende de keuring van en de handel in vis, worden de woorden « 28 tot 30, » geschrapt.

Art. 3. Dit besluit treedt in werking de dag waarop het in het *Belgisch Staatsblad* wordt bekendgemaakt.

Art. 4. Onze Minister bevoegd voor Volksgezondheid is belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 4 juli 2004.

ALBERT

Van Koningswege :

De Minister van Sociale Zaken en Volksgezondheid,
R. DEMOTTE

Sur la proposition de Notre Ministre qui a la Santé publique dans ses attributions,

Nous avons arrêté et arrêtons :

Article 1^{er}. Dans l'annexe I de l'arrêté royal du 30 avril 1976 relatif à l'expertise et au commerce du poisson, modifié par l'arrêté royal du 12 mars 2000, sont apportées les modifications suivantes :

1° au chapitre IV, section IV, 2., alinéa 1^{er}, les mots « poisson visé à l'annexe II, chapitre I, point 2, du présent arrêté, qui n'a pas fait l'objet d'un reparcage ou qui n'a pas été purifié » sont remplacés par les mots « mollusques bivalves vivants qui n'ont pas fait l'objet d'un reparcage ou qui n'ont pas été purifiés »;

2° au chapitre IV, section V, point 2, du texte néerlandais, les mots « op het rauwe eindproduct » sont remplacés par les mots « op het rauwe product of eindproduct ».

Art. 2. Dans l'article 33, a), de l'arrêté royal du 12 mars 2000 modifiant l'arrêté royal du 30 avril 1976 relatif à l'expertise et au commerce du poisson, les mots « 28 à 30, » sont supprimés.

Art. 3. Le présent arrêté entre en vigueur le jour de sa publication au *Moniteur belge*.

Art. 4. Notre Ministre qui a la Santé publique dans ses attributions est chargé de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 4 juillet 2004.

ALBERT

Par le Roi :

Le Ministre des Affaires sociales et de la Santé publique,
R. DEMOTTE

FEDERAAL AGENTSCHAP

VOOR DE VEILIGHEID VAN DE VOEDSELKETEN

N. 2004 — 3203

[C — 2004/22641]

15 JULI 2004. — Ministerieel besluit inzake de analysemethode voor de bepaling van bestanddelen van dierlijke oorsprong in het kader van de officiële controle van diervoeders

De Minister van Sociale Zaken en Volksgezondheid,

Gelet op het koninklijk besluit van 22 februari 2001 houdende organisatie van de controles die worden verricht door het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen en tot wijziging van diverse wettelijke bepalingen, inzonderheid op artikel 3, § 5;

Gelet op het koninklijk besluit van 8 november 1998 betreffende de officiële controle op de stoffen bestemd voor dierlijke voeding, inzonderheid op artikel 18;

Gelet op de Richtlijn 2003/126/EG van de Commissie van 23 december 2003 inzake de analysemethoden voor de bepaling van bestanddelen van dierlijke oorsprong in het kader van de officiële controle van diervoeders, inzonderheid op artikel 1;

Gelet op het advies 37.277/3 van de Raad van State, gegeven op 8 juni 2004 met toepassing van artikel 84, § 1, eerste lid, 1°, van de gecoördineerde wetten op de Raad van State,

Besluit :

Artikel 1. De analyses van diervoeders in het kader van de officiële controle op de aanwezigheid en de identificatie van, en/of de schatting van het gehalte aan bestanddelen van dierlijke oorsprong krachtens het koninklijk besluit van 8 november 1998 betreffende de officiële controle op de stoffen bestemd voor dierlijke voeding worden uitgevoerd overeenkomstig de bepalingen van de bijlage van dit besluit.

Art. 2. Dit besluit heeft uitwerking met ingang van 1 juli 2004.

Brussel, 15 juli 2004.

R. DEMOTTE

AGENCE FEDERALE

POUR LA SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE

F. 2004 — 3203

[C — 2004/22641]

15 JUILLET 2004. — Arrêté ministériel relatif à la méthode d'analyse pour la détermination de constituants d'origine animale dans le cadre du contrôle officiel des aliments pour animaux

Le Ministre des Affaires sociales et de la Santé publique,

Vu l'arrêté royal du 22 février 2001 organisant les contrôles effectués par l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire et modifiant diverses dispositions légales, notamment l'article 3, § 5;

Vu l'arrêté royal du 8 novembre 1998 concernant le contrôle officiel des substances destinées à l'alimentation des animaux, notamment l'article 18;

Vu la Directive 2003/126/CE de la Commission du 23 décembre 2003 relative à la méthode d'analyse applicable en matière d'identification des constituants d'origine animale pour le contrôle des aliments pour animaux, notamment l'article 1^{er};

Vu l'avis 37.277/3 du Conseil d'Etat, donné le 8 juin 2004 en application de l'article 84, § 1^{er}, alinéa 1^{er}, 1°, des lois coordonnées sur le Conseil d'Etat,

Arrête :

Article 1^{er}. Les analyses réalisées dans le cadre du contrôle officiel, conformément à l'arrêté royal du 8 novembre 1998 concernant le contrôle officiel des substances destinées à l'alimentation des animaux, dans le but de contrôler la présence de constituants d'origine animale dans les aliments pour animaux, d'identifier ces constituants ou d'en estimer la quantité, sont effectuées conformément aux dispositions figurant à l'annexe du présent arrêté.

Art. 2. Le présent arrêté produit ses effets le 1^{er} juillet 2004.

Bruxelles, le 15 juillet 2004

R. DEMOTTE

Bijlage

Voorschriften voor de microscopische detectie en identificatie van, en de schatting van het gehalte aan bestanddelen van dierlijke oorsprong in diervoeders

1. Doel en toepassingsgebied

Deze voorschriften worden gebruikt voor het opsporen van bestanddelen van dierlijke oorsprong (gedefinieerd als producten verkregen door verwerking van karkassen en delen van karkassen van zoogdieren, pluimvee en vis) in diervoeders aan de hand van microscopisch onderzoek in het kader van het inspectieprogramma op het gebied van diervoeding krachtens het koninklijk besluit van 8 november 1998 betreffende de officiële controle op de stoffen voor dierlijke voeding. Op voorwaarde dat de methoden van deze bijlage voor alle officiële tests worden gebruikt, kan ook een tweede test worden uitgevoerd met afwijkende of alternatieve methoden, om de opsporing van bepaalde soorten dierlijke bestanddelen te verbeteren of de herkomst van de dierlijke bestanddelen nader te bepalen. Ook kan een afwijkend protocol worden gebruikt bij het onderzoek van bepaalde specifieke dierlijke bestanddelen zoals plasma of bot in talg (zie ook punt 9), mits die analyses worden uitgevoerd naast de in het kader van het genoemde koninklijk besluit van 8 november 1998.

2. Gevoeligheid

Afhankelijk van de aard van de bestanddelen van dierlijke oorsprong kunnen zeer geringe hoeveelheden (minder dan 0,1 %) in diervoeders worden aangetoond.

3. Principe

Voor de identificatie wordt een representatief monster gebruikt, dat is genomen overeenkomstig het koninklijk besluit van 8 november 1998 betreffende de officiële controle op de stoffen voor dierlijke voeding, en op adequate wijze is voorbereid. Het navolgende protocol is geschikt voor diervoeders met een laag vochtgehalte. Diervoeders met een hoger vochtgehalte dan 14 % worden vóór behandeling gedroogd (gecondenseerd). Voor bepaalde diervoeders of voedermiddelen (bv. Vetten, oliën) is een speciale behandeling nodig (zie punt 9). De bestanddelen van dierlijke oorsprong worden geïdentificeerd op basis van typische microscopisch identificeerbare kenmerken (spierweefsel en andere vleesdeeltjes, kraakbeen, beenderen, hoorn, haar, bloed, veren, eierschalen, visgraten, schubben). Identificatie vindt plaats aan de hand van zowel de zee fracties (punt 6.1) als het geconcentreerde sediment van het monster.

4. Reagentia

4.1. Inbedmedia

4.1.1. Chloraalhydraat (60 % in water, m/v)

4.1.2. Loog (NaOH 2,5 % m/v of KOH 2,5 % m/v) voor de zee fracties

4.1.3. Paraffineolie of glycerol (viscositeit 68-81) voor microscopische waarneming in het sediment

4.2. Wasvloeistoffen

4.2.1. Alcohol, 96 %

4.2.2. Aceton

4.3. Sedimentatievloeistof

4.3.1. Tetrachloorethyleen (dichtheid 1,62)

4.4. Kleurstoffen

4.4.1. Jood-kaliumjodideoplossing (los 2 g kaliumjodide op in 100 ml water en voeg onder geregeld schudden 1 g jood toe)

4.4.2. Alizarinerood (verdun 2,5 ml zoutzuur 1 M in 100 ml water en voeg hieraan 200 mg alizarinerood toe)

4.4.3. Cystinereagens (2 g loodacetaat, 10 g NaOH/100 ml H₂O)

4.4.4. Jood-kaliumjodideoplossing (opgelost in 70 % ethanol)

4.5. Bleekmiddel

4.5.1. Natriumhypochlorietoplossing, in handelskwaliteit (9,6 % actief chloor)

Annexe

Conditions applicables à la détection par examen microscopique, à l'identification et à l'estimation de la quantité de constituants d'origine animale dans les aliments pour animaux

1. Objectif et champ d'application

Les présentes conditions s'appliquent à la détection de constituants d'origine animale (définis comme produits de la transformation de carcasses ou parties de mammifères, volailles ou poissons) dans les aliments pour animaux par examen microscopique, dans le cadre du programme de contrôle dans le domaine de l'alimentation animale, conformément à l'arrêté royal du 8 novembre 1998 concernant le contrôle officiel des substances destinées à l'alimentation des animaux. Pour autant que les méthodes décrites dans la présente annexe soient utilisées dans tous les tests officiels, un deuxième test peut également être effectué selon des méthodes dérivées ou autres afin d'améliorer la détection de certains types de constituants d'origine animale ou pour déterminer avec davantage de précision l'origine de ces constituants. En outre, une variante du protocole peut être utilisée pour examiner certains constituants spécifiques d'origine animale tels que le plasma ou les os présents dans le suif (voir également point 9), à condition que ces analyses se fassent en complément des analyses prévues dans le cadre de l'arrêté royal du 8 novembre 1998 précité.

2. Sensibilité

En fonction de la nature des constituants d'origine animale, de très petites quantités (< 0,1 %) peuvent être détectées dans les aliments pour animaux.

3. Principe

Un échantillon représentatif, prélevé conformément aux dispositions fixées dans l'arrêté royal du 8 novembre 1998 concernant le contrôle officiel des substances destinées à l'alimentation des animaux, et dûment préparé, est utilisé pour l'identification. Le protocole suivant convient au traitement des aliments pour animaux à faible teneur en humidité. Les aliments pour animaux présentant une teneur en humidité supérieure à 14 % sont séchés (condensés) avant le traitement. Certains aliments pour animaux et certaines matières premières destinées à l'alimentation des animaux (par exemple, les graisses et les huiles) requièrent un traitement particulier (voir point 9). Les constituants d'origine animale sont identifiés sur la base de caractéristiques typiques, identifiables au microscope (c'est à dire fibres musculaires et autres particules de viande, cartilages, os, corne, poils, soies, sang, plumes, coquilles d'œuf, arêtes de poisson, écailles). L'identification doit porter tant sur la fraction tamisée (6.1) que sur le résidu concentré (6.2) de l'échantillon.

4. Réactifs

4.1. Agents d'enrobage

4.1.1. Hydrate de chloral (aqueux, à 60 % en poids/volume)

4.1.2. Lessive (NaOH à 2,5 % en poids/volume ou KOH à 2,5 % en poids/volume) pour les fractions tamisées

4.1.3. Huile de paraffine ou glycérol (viscosité : 68-81) pour les observations au microscope dans le résidu

4.2. Agents de rinçage

4.2.1. Alcool, 96 %

4.2.2. Acétone

4.3. Agent de concentration

4.3.1. Tétrachloréthylène (densité 1,62)

4.4. Réactifs de coloration

4.4.1. Solution iodée/d'iodure de potassium (dissoudre 2 g d'iode de potassium dans 100 ml d'eau et ajouter 1 g d'iode en agitant fréquemment)

4.4.2. Rouge d'alizarine (diluer 2,5 ml d'acide chlorhydrique 1M dans 100 ml d'eau et ajouter 200 mg de rouge d'alizarine à cette solution)

4.4.3. Réactif cystinique (2 g d'acétate de plomb, 10 g NaOH/100 ml H₂O)

4.4.4. Solution iodée/d'iodure de potassium (dissolution dans de l'éthanol à 70 %)

4.5. Réactif de blanchiment

4.5.1. Solution commerciale d'hypochlorite de sodium (9,6 % de chlore actif)

5. Uitrusting

5.1. Analytische balans (nauwkeurigheid 0,01 g, voor het geconcentreerde sediment : 0,001 g)

5.2. Verkleiningsapparatuur (maalmolen of vijzel, met name voor voeder dat bij de analyse meer dan 15 % vet bevat)

5.3. Zeefstel, voorzien van zeefgaas met vierkante mazen van maximaal 0,50 mm maaswijdte

5.4. Scheitrecther of imhoffglas

5.5. Stereomicroscop (vergroting minimaal 40 ×)

5.6. Samengestelde microscoop (vergroting minimaal 400 ×), doorvallend licht of gepolariseerd licht

5.7. Gebruikelijk laboratoriumglaswerk

Alle uitrusting moet grondig gereinigd zijn. Scheitrecthers en glaswerk moeten in een reinigingsmachine gereinigd worden. De zeven moeten met een hardharige borstel gereinigd worden.

6. Werkwijze

Voeder in pellets kan voorgezeefd worden als beide fracties afzonderlijk geanalyseerd worden.

Ga uit van ten minste 50 g monster (zo nodig na zorgvuldig malen met geschikte verkleiningsapparatuur (punt 5.2) om een juiste structuur te krijgen). Neem van het gemalen materiaal twee representatieve porties, een voor de zeeffracties (minimaal 5 g) (punt 6.1) en een voor het geconcentreerde sediment (minimaal 5 g) (punt 6.2). Met het oog op de identificatie kan gebruikgemaakt worden van kleurstoffen (punt 6.3).

Om de aard van de dierlijke eiwitten en de herkomst van de deeltjes aan te geven kan gebruikgemaakt worden van een beslissingsondersteunend systeem zoals ARIES en van referentiemonsters.

6.1. Identificatie van de bestanddelen van dierlijke oorsprong in de zeeffracties

Zeef ten minste 5 g van het monster met het zeefstel (punt 5.3) in twee fracties.

De zeeffractie(s) met de grove deeltjes (of een representatief deel daarvan) wordt/worden gebruikt als dunne laag op een geschikte drager en wordt/worden onder de stereomicroscop (punt 5.5) bij diverse vergrotingen onderzocht op bestanddelen van dierlijke oorsprong.

Met de zeeffractie(s) met de fijne deeltjes worden preparaten gemaakt die onder de samengestelde microscoop (punt 5.6) bij diverse vergrotingen worden onderzocht op bestanddelen van dierlijke oorsprong.

6.2. Identificatie van de bestanddelen van dierlijke oorsprong in het geconcentreerde sediment

Breng ten minste 5 g monster (tot op 0,01 g nauwkeurig afgewogen) in een scheitrecther of imhoffglas en voeg ten minste 50 ml tetrachloor-ethyleen (punt 4.3.1) toe. Schud of roer het mengsel een aantal malen.

— Laat bij gebruik van een gesloten scheitrecther het mengsel enige tijd (ten minste drie minuten) staan en scheid vervolgens het sediment af. Herhaal het schudden en laat het sediment daarna ten minste drie minuten staan. Scheid het sediment nogmaals af.

— Laat bij gebruik van een open imhoffglas het mengsel ten minste vijf minuten staan en scheid vervolgens het sediment af.

Het volledige sediment wordt gedroogd en vervolgens gewogen (tot op 0,001 g nauwkeurig). Wegen is alleen nodig wanneer een schatting vereist is. Wanneer het sediment veel grove deeltjes bevat, kan het met een zeefstel (punt 5.3) in twee fracties worden verdeeld. Het droge sediment wordt onder de stereomicroscop (punt 5.5) en de samengestelde microscoop (punt 5.6) onderzocht op botbestanddelen.

6.3. Gebruik van inbedmedia en kleurstoffen

De microscopische identificatie van de bestanddelen van dierlijke oorsprong kan worden vergemakkelijkt door gebruik te maken van speciale inbedmedia en kleurstoffen.

Chloraalhydraat (punt 4.1.1) : wanneer zorgvuldig wordt verhit, kunnen celstructuren duidelijk worden waargenomen omdat de zetmeelkorrels geleren en ongewenste celinhoud wordt verwijderd.

Loog (punt 4.1.2) : natriumhydroxide of kaliumhydroxide heldert het materiaal van het voeder op, waardoor het opsporen van spierweefsel, haar en andere keratinestructuren gemakkelijker wordt.

5. Appareillage et accessoires

5.1. Balance d'analyse (précision de 0,01 g, sauf pour le résidu concentré : 0,001 g)

5.2. Instrument de broyage (broyeur ou mortier, notamment pour les aliments pour animaux dont la teneur en graisse est supérieure à 15 % au moment de l'analyse)

5.3. Tamis à mailles carrées avec ouverture de maille de 0,50 mm au maximum

5.4. Ampoule à décanter ou béccher de décantation à fond conique

5.5. Microscope stéréoscopique (grossissement 40 fois au minimum)

5.6. Microscope composé (grossissement 400 fois au minimum), lumière transmise ou lumière polarisée

5.7. Verrerie courante de laboratoire

Tout l'appareillage est soigneusement nettoyé. Les ampoules à décanter et la verrerie doivent être lavées en machine. Les tamis sont nettoyés à l'aide d'une brosse à poils durs.

6. Procédure

Les aliments pour animaux en granulés peuvent être prêtamisés si les deux fractions sont analysées en tant qu'échantillons distincts.

Au moins 50 g de l'échantillon sont traités [broyés avec soin à l'aide de l'instrument de broyage adéquat (5.2) si nécessaire afin d'obtenir une structure appropriée]. Deux portions représentatives sont prélevées du matériel broyé, l'une pour la fraction tamisée (au moins 5 g) (6.1), l'autre pour le résidu concentré (au moins 5 g) (6.2). Des agents de coloration (6.3) peuvent également être utilisés à des fins d'identification.

Pour indiquer la nature des protéines animales et l'origine des particules, il peut être fait appel à un système d'aide à la décision tel qu'ARIES, ainsi qu'à des échantillons de référence.

6.1. Identification des constituants d'origine animale dans les fractions tamisées

Au moins 5 g de l'échantillon sont passés à travers le tamis (5.3) en deux fractions.

La (les) fraction(s) tamisée(s) comportant les grosses particules (ou une partie représentative de la fraction) est (sont) étendue(s) sur un support approprié de façon à former une fine couche et observée(s) systématiquement au microscope stéréoscopique (5.5) à différents grossissements pour détecter les constituants d'origine animale.

Des lames préparées avec la (les) fraction(s) tamisée(s) comportant les particules fines sont observées systématiquement au microscope composé (5.6) à différents grossissements pour détecter les constituants d'origine animale.

6.2. Identification des constituants d'origine animale dans le résidu concentré

Au moins 5 g (précision de 0,01 g) de l'échantillon sont transvasés dans une ampoule à décanter ou un béccher de décantation à fond conique et traités avec au moins 50 ml de tetrachloréthylène (4.3.1). Le mélange est agité ou remué à plusieurs reprises.

— Si une ampoule à décanter fermée est utilisée, laisser le mélange se décanter suffisamment longtemps (au moins trois minutes) et séparer le résidu. Agiter à plusieurs reprises et laisser le mélange se décanter à nouveau pendant au moins trois minutes avant de séparer une fois encore le résidu.

— Si un béccher ouvert est utilisé, laisser le mélange se décanter pendant au moins 5 minutes avant de séparer le résidu.

Le résidu total est séché et ensuite pesé (précision de 0,001 g). La pesée ne s'impose que si une évaluation est requise. Si le résidu est composé de nombreuses grosses particules, il peut être passé à travers un tamis (5.3) en deux fractions. Le résidu séché est examiné au microscope stéréoscopique (5.5) et au microscope composé (5.6) pour détecter les constituants osseux.

6.3. Utilisation d'agents d'enrobage et de réactifs de coloration

L'identification microscopique des constituants d'origine animale peut être facilitée par l'utilisation d'agents d'enrobage et de réactifs de coloration spéciaux.

Hydrate de chloral (4.1.1) : en chauffant avec précaution, les structures des cellules se voient plus clairement en raison du gonflement des grains d'amidon et de l'évacuation des cellules indésirables.

Lessive (4.1.2) : l'hydroxyde de sodium ou l'hydroxyde de potassium nettoie la matière de l'aliment pour animaux, facilitant ainsi la détection des fibres musculaires, des poils et d'autres structures kératiniques.

Paraffineolie en glycerol (punt 4.1.3): botbestanddelen worden gemakkelijk geïdentificeerd in dit inbedmedium aangezien de meeste holten met lucht gevuld blijven en worden gezien als zwarte gaten van 5 à 15 µm.

Jood-kaliumjodideoplossing (punt 4.4.1): wordt gebruikt voor het aantonen van zetmeel (blauwpaarse kleur) en eiwit (geeloranje kleur). De oplossingen kunnen zo nodig worden verdund.

Alizarineroodoplossing (punt 4.4.2): rode/roze kleuring van been-deren, graten en schubben. Voordat het sediment wordt gedroogd (punt 6.2) wordt het volledige sediment overgebracht in een glazen reageerbuis en tweemaal met ongeveer 5 ml alcohol (punt 4.2.1) gespoeld (beide keren vortexen, ongeveer een minuut laten bezinken en het oplosmiddel afschenken). Vóór gebruik van de kleurstof wordt het sediment gebleekt door toevoeging van ten minste 1 ml natriumhypochlorietoplossing (punt 4.5.1). Laat gedurende tien minuten reageren. Vul de reageerbuis met water, laat het sediment twee à drie minuten bezinken en schenk het water en de gesuspendeerde deeltjes af. Spoel het sediment vervolgens tweemaal met ongeveer 10 ml water (beide keren vortexen, laten bezinken en het water afschenken). Voeg twee tot tien druppels alizarineroodoplossing toe, afhankelijk van de hoeveelheid residu. Schud het mengsel en laat enkele seconden reageren. Spoel het gekleurde sediment vervolgens tweemaal met ongeveer 5 ml alcohol (punt 4.2.1) en daarna eenmaal met aceton (punt 4.2.2) (telkens vortexen, ongeveer een minuut laten bezinken en het oplosmiddel afschenken). Hierna kan het sediment worden gedroogd.

Cystinereagens (punt 4.4.3): wanneer zorgvuldig wordt verhit, worden de cystinebevattende bestanddelen (haar, veren, enz.) zwart-bruin.

6.4. Onderzoek van diervoeders die vismeel kunnen bevatten

Ten minste één preparaat van de fijne zee fractie en van de fijne fractie van het sediment wordt onder de samengestelde microscoop onderzocht (punten 6.1 en 6.2).

Wanneer vismeel volgens het etiket een van de ingrediënten is of in het eerste onderzoek wordt vermoed of geconstateerd dat vismeel aanwezig is, worden ten minste nog twee preparaten van de fijne zee fractie van het oorspronkelijke monster alsmede de volledige sedimentfractie onderzocht.

7. Berekening en evaluatie

De in dit punt beschreven procedures worden gevolgd wanneer een officiële analyse wordt uitgevoerd met het oog op de schatting van het gehalte aan (en niet slechts de aanwezigheid van) dierlijke bestanddelen.

De berekening kan alleen worden gemaakt indien de bestanddelen van dierlijke oorsprong botfragmenten bevatten.

Botfragmenten van warmbloedige landdieren (d.w.z. zoogdieren en vogels) kunnen van de verschillende soorten visgraten in het microscopisch preparaat worden onderscheiden aan de hand van de typische lacunen. Het gehalte aan bestanddelen van dierlijke oorsprong in het monster wordt geschat met inachtneming van:

— het geschatte aandeel (gewichtsperscentage) botfragmenten in het geconcentreerde sediment, en

— het aandeel (gewichtsperscentage) bot in de bestanddelen van dierlijke oorsprong.

De schatting moet gebaseerd zijn op ten minste drie preparaten (indien mogelijk) en ten minste vijf velden per preparaat. Bij mengvoeders bevat het geconcentreerde sediment normaliter niet alleen botfragmenten van landdieren en visgraatfragmenten, maar ook andere deeltjes met een hoog soortelijk gewicht, bijvoorbeeld mineralen, zand, verhoutte plantendeeltjes en dergelijke.

7.1. Geschatte waarde van het percentage botfragmenten

% botfragmenten van landdieren = $(S \times c) / W$

% fragmenten van visgraten en schubben = $(S \times d) / W$

(S = gewicht van het sediment (mg), c = correctiefactor (%) voor het geschatte aandeel botbestanddelen van landdieren in het sediment, d = correctiefactor (%) voor het geschatte aandeel fragmenten van visgraten en schubben in het sediment, W = gewicht van het voor de sedimentatie gebruikte monstermateriaal (mg)).

Huile de paraffine et glycérol (4.1.3): les constituants osseux peuvent être bien identifiés dans cet agent d'enrobage parce que la plupart des lacunes restent remplies d'air et apparaissent sous la forme de trous noirs de 5-15 µm environ.

Solution iodée/d'iodure de potassium (4.4.1): est utilisée pour la détection de l'amidon (coloration bleu violet) et des protéines (coloration jaune orange). Dilution possible si nécessaire.

Solution de rouge d'alizarine (4.4.2): coloration rouge-rose des os, arêtes de poisson et écailles. Avant de le sécher (voir section 6.2), transférer le résidu total dans une éprouvette en verre et le rincer à deux reprises avec environ 5 ml d'alcool (4.2.1) (agiter chaque fois au vortex, laisser se décanter pendant environ une minute et éliminer le solvant). Avant d'utiliser ce réactif de coloration, le résidu est blanchi en ajoutant au moins 1 ml de solution d'hypochlorite de sodium (4.5.1). Laisser réagir pendant dix minutes. Remplir le tube d'eau, laisser le mélange se décanter pendant deux à trois minutes et éliminer l'eau et les particules en suspension. Rincer le résidu à deux reprises avec environ 10 ml d'eau (agiter au vortex, laisser se décanter et éliminer l'eau chaque fois). Ajouter de deux à dix gouttes ou plus de solution de rouge d'alizarine (en fonction de la quantité de résidu). Agiter le mélange et laisser réagir quelques secondes. Rincer le résidu coloré deux fois avec environ 5 ml d'alcool (4.2.1), puis une autre fois avec de l'acétone (4.2.2) (agiter chaque fois au vortex, laisser le mélange se décanter pendant une minute environ et éliminer le solvant). Le résidu est maintenant prêt à être séché.

Réactif cystinique (4.4.3): en chauffant avec précaution, les constituants contenant de la cystine (poils, plumes, etc.) virent au noir-brun.

6.4. Examen des aliments pour animaux susceptibles de contenir des farines de poisson

Au moins une lame préparée à partir de la fraction tamisée fine et de la fraction fine du résidu est observée au microscope composé (voir sections 6.1 et 6.2).

Si l'étiquette indique la présence de farines de poisson parmi les ingrédients ou si l'on soupçonne ou détecte la présence de farines de poisson lors de l'examen initial, au moins deux lames supplémentaires préparées à partir de la fraction tamisée fine de l'échantillon original et la fraction du résidu total sont observées.

7. Calcul et évaluation

Les procédures décrites ci-après sont suivies pour toute analyse officielle visant à évaluer la quantité (et non simplement la présence) de constituants d'origine animale.

Le calcul ne peut être fait que si les constituants d'origine animale contiennent des fragments d'os.

Les fragments d'os d'espèces terrestres à sang chaud (c'est à dire les mammifères et les oiseaux) peuvent être distingués des différents types d'arêtes de poisson sur la lame microscopique grâce aux lacunes typiques. La proportion de constituants d'origine animale dans l'échantillon est évaluée en tenant compte:

— de la proportion estimée (% poids) de fragments d'os dans le résidu concentré, et

— de la proportion (% poids) d'os dans les constituants d'origine animale.

L'estimation doit reposer sur l'observation de trois lames au moins (si possible) et de cinq champs par lame au moins. Dans les aliments composés pour animaux, le résidu concentré ne contient pas seulement des fragments d'os d'animaux terrestres et d'arêtes de poisson, mais aussi d'autres particules ayant un poids spécifique élevé, par exemple des minéraux, du sable, des fragments de végétaux lignifiés, etc.

7.1. Valeur estimée du pourcentage de fragments d'os

Pourcentage de fragments d'os terrestres = $(S \times c) / W$

Pourcentage de fragments d'arêtes et d'écailles = $(S \times d) / W$

[S = poids du résidu (mg), c = facteur de correction (%) pour la portion estimée d'os d'animaux terrestres dans le résidu, d = facteur de correction (%) pour la portion estimée de fragments d'arêtes et d'écailles dans le résidu, W = poids de l'échantillon pour la production du résidu (mg)].

7.2. Geschatte waarde van de bestanddelen van dierlijke oorsprong

Het aandeel bot in dierlijke producten kan aanzienlijk variëren. (Het percentage bot in beendermeel ligt in de orde van 50-60 %, in vleesmeel in de orde van 20-30 %; in vismeel varieert het gehalte aan graten en schubben naar gelang van de soort en de oorsprong van het vismeel, maar normaal ligt het in de orde van 10-20 %).

Indien de aard van het in het monster aanwezige diersmeel bekend is, kan het gehalte worden geschat :

Geschat gehalte aan bestanddelen afkomstig van landdieren (%) = $(S \times c) / (W \times f) \times 100$

Geschat gehalte aan bestanddelen afkomstig van vis (%) = $(S \times d) / (W \times f) \times 100$

(S = gewicht van het sediment (mg), c = correctiefactor (%) voor het geschatte aandeel botbestanddelen van landdieren in het sediment, d = correctiefactor (%) voor het geschatte aandeel fragmenten van visgraten en schubben in het sediment, f = correctiefactor voor het aandeel bot in de bestanddelen van dierlijke oorsprong in het onderzochte monster, W = gewicht van het voor de sedimentatie gebruikte monstermateriaal (mg)).

8. Weergave van het resultaat van het onderzoek

Er moet ten minste informatie worden verstrekt over de aanwezigheid van bestanddelen afkomstig van landdieren en van vismeel. De verschillende gevallen worden als volgt gerapporteerd :

8.1. Wat betreft de aanwezigheid van bestanddelen afkomstig van landdieren :

— Voor zover microscopisch kan worden waargenomen, bevat het onderzochte monster geen bestanddelen afkomstig van landdieren, of :

— Voor zover microscopisch kan worden waargenomen, bevat het onderzochte monster bestanddelen afkomstig van landdieren.

8.2. Wat betreft de aanwezigheid van vismeel :

Voor zover microscopisch kan worden waargenomen, bevat het onderzochte monster geen bestanddelen afkomstig van vissen, of :

Voor zover microscopisch kan worden waargenomen, bevat het onderzochte monster bestanddelen afkomstig van vissen.

Wanneer bestanddelen afkomstig van vissen of landdieren worden aangetroffen, kan bij de uitslag van het onderzoek zo nodig ook een schatting worden gegeven van de hoeveelheid aangetroffen bestanddelen (x %, < 0,1 %, 0,1-0,5 %, 0,5-5 % of > 5 %) en kunnen het soort landdier, zo mogelijk, en de geïdentificeerde dierlijke bestanddelen (spierweefsel, kraakbeen, beenderen, hoorn, haar, bloed, veren, eierschalen, visgraten, schubben) worden vermeld.

Ingeval een schatting van de hoeveelheid dierlijke ingrediënten wordt gegeven, moet de gehanteerde correctiefactor f worden vermeld.

Indien botbestanddelen van landdieren worden geïdentificeerd, bevat het rapport bovendien de volgende zin :

« De mogelijkheid dat de bovengenoemde bestanddelen afkomstig zijn van zoogdieren kan niet worden uitgesloten. »

Deze zin is niet vereist indien voor de botfragmenten van landdieren is aangegeven of zij van pluimvee of van zoogdieren afkomstig zijn.

9. Facultatief protocol voor de analyse van vetten en oliën

Het volgende protocol kan voor de analyse van vetten en oliën worden gebruikt :

— verwarm vast vet, bijvoorbeeld in een microgolfoven, tot het gesmolten is;

— pipetteer 40 ml vet van het onderste gedeelte van het monster in een centrifugebuis;

— centrifugeer gedurende tien minuten bij 4 000 omwentelingen per minuut;

— als het vet na het centrifugeren gestold is, verwarm het dan nogmaals in een oven tot het gesmolten is;

— centrifugeer nogmaals gedurende vijf minuten bij 4 000 omwentelingen per minuut;

— breng de helft van de gedecanteerde onzuiverheden met een lepel of spatel over in een petrischaaltje of op een objectglasje voor microscopische identificatie van eventuele dierlijke bestanddelen (vleesdeeltjes, veren, botfragmenten, enz.). Als inbedmedium voor microscopie wordt paraffineolie of glycerol aanbevolen;

— de resterende onzuiverheden worden gebruikt voor sedimentatie zoals beschreven in punt 6.2.

Gezien om gevoegd te worden bij het ministerieel besluit van 15 juli 2004 inzake de analysemethode voor de bepaling van bestanddelen van dierlijke oorsprong in het kader van de officiële controle van diervoeders.

R. DEMOTTE

7.2. Valeur estimée des constituants d'origine animale

La proportion d'os dans les produits d'origine animale peut varier considérablement. (Le pourcentage d'os est de l'ordre de 50 à 60 % pour les farines d'os et de l'ordre de 20 à 30 % pour les farines de viande; dans le cas des farines de poisson, les teneurs en arêtes et en écailles varient en fonction de la catégorie et de l'origine de la farine de poisson, mais elles sont normalement de l'ordre de 10 à 20 %.)

Si le type de farine contenu dans l'échantillon est connu, il est possible de procéder à des estimations :

Proportion estimée de constituants dérivés de produits à base d'animaux terrestres (%) = $(S \times c) / (W \times f) \times 100$

Proportion estimée de constituants dérivés de produits à base de poisson (%) = $(S \times d) / (W \times f) \times 100$

[S = poids du résidu (mg), c = facteur de correction (%) pour la portion estimée d'os d'animaux terrestres dans le résidu, d = facteur de correction (%) pour la portion estimée de fragments d'arêtes et d'écailles dans le résidu, f = facteur de correction pour la proportion d'os dans les constituants d'origine animale dans l'échantillon examiné, W = poids de l'échantillon pour la production du résidu (mg)].

8. Expression du résultat de l'examen

Le rapport contient au minimum des informations concernant la présence de constituants dérivés d'animaux terrestres et de farines de poisson. Les différents cas sont présentés de la façon suivante :

8.1. En ce qui concerne la présence de constituants dérivés d'animaux terrestres :

— Pour autant que perceptible au microscope, aucun constituant dérivé d'animaux terrestres n'a été trouvé dans l'échantillon soumis, ou :

— Pour autant que perceptibles au microscope, des constituants dérivés d'animaux terrestres ont été trouvés dans l'échantillon soumis.

8.2. En ce qui concerne la présence de farines de poisson :

— Pour autant que perceptible au microscope, aucun constituant dérivé de poissons n'a été trouvé dans l'échantillon soumis, ou :

— Pour autant que perceptibles au microscope, des constituants dérivés de poissons ont été trouvés dans l'échantillon soumis.

Si des constituants dérivés de poissons ou d'animaux terrestres sont trouvés, le rapport d'examen peut, si nécessaire, donner une estimation de la quantité de constituants détectés (x %, < 0,1 %, entre 0,1 et 0,5 %, entre 0,5 et 5 % ou > 5 %) et préciser le type d'animaux terrestres (si possible) et les constituants d'origine animale identifiés (fibres musculaires, cartilage, os, corne, poils, soies, sang, plumes, coquilles d'œuf, arêtes de poisson, écailles).

Si une estimation de la quantité d'ingrédients d'origine animale est fournie, le facteur de correction f utilisé est également mentionné.

Lorsque des os d'animaux terrestres sont détectés, la clause additionnelle suivante est insérée dans le rapport :

« La possibilité que les constituants ci-dessus proviennent de mammifères ne peut être exclue. »

Cette clause supplémentaire n'est pas requise si les fragments d'os d'animaux terrestres ont été identifiés en tant que fragments d'os de volaille ou de mammifère.

9. Protocole facultatif concernant l'analyse de graisses ou d'huiles

Le protocole suivant peut être utilisé pour l'analyse de graisses ou d'huiles :

— s'il s'agit de graisse solide, chauffer celle-ci jusqu'à ce qu'elle devienne liquide, par exemple dans un four à micro-ondes;

— pipeter 40 ml de graisse du fond de l'échantillon dans un tube de centrifugation;

— centrifuger pendant 10 minutes à 4 000 tours/minute;

— si la graisse s'est solidifiée pendant la centrifugation, la réchauffer au four jusqu'à ce qu'elle redevienne liquide;

— centrifuger une nouvelle fois pendant 5 minutes à 4 000 tours/minute;

— à l'aide d'une petite cuillère ou d'une spatule, transférer une moitié des impuretés obtenues dans une petite boîte de Petri ou sur une lame microscopique en vue de détecter au microscope la présence éventuelle de constituants d'origine animale (fibres de viande, plumes, fragments d'os, etc.). Il est recommandé d'utiliser de l'huile de paraffine ou du glycérol comme agent d'enrobage pour l'examen au microscope;

— les impuretés restantes sont utilisées pour la production du résidu, comme décrit au point 6.2.

Vu pour être annexé à l'arrêté ministériel du 15 juillet 2004 relatif à la méthode d'analyse pour la détermination de constituants d'origine animale dans le cadre du contrôle officiel des aliments pour animaux.

R. DEMOTTE