

Kommissionens förordning (EG) nr 765/2002 av den 3 maj 2002 om provtagning och antagande av vissa föreskrifter för fysisk kontroll av benfria styckningsdelar av nötkött för vilka exportbidrag betalas

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR ANTAGIT DENNA FÖRORDNING

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska gemenskapen,
med beaktande av rådets förordning (EEG) nr 1254/1999 av den 17 maj 1999 om den gemensamma organisationen av marknaden för nötkött, senast ändrad genom kommissionens förordning (EG) nr 2345/2001, särskilt artikel 33.12 i denna,
med beaktande av rådets förordning (EEG) nr 386/90 av den 12 februari 1990 om kontroll i samband med export av jordbruksprodukter som berättigar till exportbidrag eller andra belopp, ändrad genom förordning (EG) nr 163/94, särskilt artikel 6 i denna, och

av följande skäl:

(1) Enligt artikel 33 i förordning (EG) nr 1254/1999 får skillnaden mellan världsmarknadspriserna och priserna inom gemenskapen på de produkter som anges i artikel 1 i den förordningen täckas av ett exportbidrag. När det gäller jordbruksprodukter fastställdes föreskrifterna för detta system genom kommissionens förordning (EG) nr 800/1999 av den 15 april 1999 om gemensamma tillämpningsföreskrifter för systemet med exportbidrag för jordbruksprodukter, senast ändrad genom förordning (EG) nr 2299/2001.

(2) I sektor 5 i bilaga 1 till kommissionens förordning (EEG) nr 3846/87 av den 17 december 1987 om upprättandet av en exportbidragsnomenklatur för jordbruksprodukter, senast ändrad genom förordning (EG) nr 488/2002, anges bland annat att bidrag beviljas för vissa benfria styckningsdelar om de innehåller en minimiandel magert nötkött och för styckningsdelar av vuxna handjur av nötkreatur om de är individuellt förpackade.

(3) I kommissionens förordning (EG) nr 2221/95, senast ändrad genom förordning (EG) nr 2655/1999, anges föreskrifter för fysisk kontroll i samband med export av jordbruksprodukter som berättigar till exportbidrag. Vissa särskilda villkor för nötkött fastställdes i kommissionens förordning (EG) nr 2457/97 av den 10 december 1997 om provtagning för fysisk kontroll av benfria styckningsdelar av nötkött för vilka exportbidrag utgår.

(4) För att öka enhetligheten bör man föreskriva en kontroll av benfria styckningsdelars ursprung i vuxna handjur av nötkreatur och en metod som skall följas vid kontrollen samt fastställa lämpliga sanktioner i de fall villkoret om ursprung inte uppfylls. Dessutom bör förordning (EG) nr 2457/97 uppdateras, med hänsyn till förändringar av den exportbidragsnomenklatur för jordbruksprodukter som anges i förordning (EEG) nr 3846/87, i dess ändrade lydelse enligt förordning (EG) nr 2556/2001.

(5) För tydlighets skull bör därför förordning (EG) nr 2457/97 upphävas och ersättas.

(6) De åtgärder som föreskrivs i denna förordning är förenliga med yttrandet från Förvaltningskommittén för nötkött.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

[2241] 1. Denna förordning skall tillämpas på fysiska kontroller av beskaffenhet och egenskaper hos produkter enligt artikel 2 a i förordning (EEG) nr 386/90 när det gäller följande:

a) Skyldigheten att individuellt förpacka varje benfri styckningsdel med följande produktkoder:

— 0201 30 00 9100

— 0201 30 00 9120

b) Kravet att befria styckningsdelar med följande produktkoder skall ha sitt ursprung i vuxna handjur av nötkreatur:

— 0201 30 00 9100

— 0201 30 00 9120

c) Kravet beträffande en genomsnittlig minimiandel magert kött för befria styckningsdelar med följande produktkoder:

— 0201 30 00 9100

— 0201 30 00 9120

— 0201 30 00 9060

— 0202 30 90 9200

2. Varubeteckningen för de produkter som avses i punkt 1 är den som återfinns i exportbidragsnomenklaturen i sektor 5 i bilaga I till förordning (EEG) nr 3846/87.

Artikel 2

[2242] 1. Provet för den fysiska kontrollen utgörs av två hela kartonger som tas på två olika ställen i partiet. Den ena kartongen är avsedd för de myndigheter som ansvarar för kontrollen, den andra förvaras som reservprov under tullmyndigheternas kontroll.

2. Som parti betraktas den kvantitet produkter för vilken en av följande deklARATIONER godtas:

a) Den deklARATION som avses i artikel 5.1 i förordning (EG) nr 800/1999.

b) Den deklARATION som avses i artikel 26.1 i förordning (EG) nr 800/1999, i sådana fall som avses i den artikeln och endast när det gäller lagring.

Artikel 3

[2243] För att kontrollera att det villkor som avses i artikel 1.1 a är uppfyllt skall tullmyndigheterna undersöka om varje styckningsdel i den första kartongen i det prov som avses i artikel 2 är individuellt förpackad och att varje förpackning endast innehåller en styckningsdel. Om så inte är fallet görs samma undersökningar av den andra kartongen.

Om det totalt i båda kartongerna finns endast en styckningsdel som inte är individuellt förpackad eller om endast en förpackning innehåller mer än en styckningsdel och om samtliga övriga bidragsvillkor uppfylls, skall partiet inte anses vara oegentligt. I annat fall konstateras att en oegentlighet föreligger.

När en oegentlighet konstateras skall bidraget för partiets vikt beräknas på en justerad vikt. Den justerade vikten erhålls genom att den deklarerade nettovikten reduceras med en procentsats motsvarande vikten av de slaktdelar som inte uppfyller bestämmelserna i förhållande till provets totala nettovikt.

Artikel 4

[2244] Vid kontroll av om det villkor om ursprung som avses i artikel 1.1 b är uppfyllt, skall analysprovet utgöras av ett eller två styckningsdelar som slumpmässigt väljs ur den första kartongen av det prov som avses i artikel 2. Om analysresultatet påvisar förekomst av kött som inte kommer från vuxna handjur av nötkreatur skall inget bidrag lämnas för partiet.

Kontrollen skall göras enligt den metod som beskrivs i bilagan [2249].

Utan att det påverkar tillämpningen av utökade kontroller, som beslutas i fall då oegentligheter misstänks, skall kontrollerna göras slumpmässigt på all export och utföras på minst en tredjedel av de partier som väljs ut för den fysiska kontrollen.

Artikel 5

[2245] För att kontrollera att det villkor som anges i artikel 1.1 c är uppfyllt skall hela innehållet i den första kartongen i det prov som avses i artikel 2 finfördelas så att en homogen blandning erhålls. Om detta prov inte uppnår den föreskrivna andelen magert kött skall innehållet i den andra kartongen undersökas på samma sätt. Om genomsnittet för de båda kartongerna inte uppnår den föreskrivna genomsnittliga andelen magert kött skall inget bidrag beviljas för partiet.

Artikel 6

[2246] I enlighet med artikel 68 i rådets förordning (EEG) nr 2913/92 (TFH III:1 [168]), och utan att det påverkar tillämpningen av artikel 78 i den förordningen (TFH III:1 [178]), skall de provtagningar och kontroller som föreskrivs i den här förordningen utföras vid kontroll av de deklARATIONER som avses i artikel 2.2 i den här förordningen och som har godtagits.

Artikel 7

[2247] Förordning (EG) nr 2457/97 skall upphöra att gälla.

Artikel 8

[2248] Denna förordning träder i kraft den 1 juli 2002.

Den skall tillämpas på transaktioner för vilka en sådan deklARATION som avses i artikel 2.2 har godtagits från och med den 1 juli 2002.

[2249] Analytisk kontroll av vissa benfria styckningsdelars ursprung i vuxna handjur av nötkreatur**Metod för könsbestämning av nötkött**

Den metod som skall användas grundas på polymeraskedjereaktion (PCR) och omfattar provtagning, DNA-extraktion, PCR och gelelektrofores.

1. Provtagning och delprov

Delprovet skall skäras ut från en central del av (inne i) det inkomna köttstycket, med hjälp av en steril* kniv (skalpell eller liknande). Detta prov skall sedan malas med hjälp av en laboratoriekvarn eller skäras i mindre bitar för att ge ett tillfredsställande extraktionsutbyte.

Proven skall beredas i ett annat arbetsutrymme än det som används för PCR. Materialet skall hanteras i en omgivning som lätt kan rengöras, helst en sterilbänk, för att undvika korskontaminering med andra prov.

Sterila* blad, skalpeller eller liknande instrument skall användas för att bereda köttprovet.

2. Extraktion och rening av DNA

Extraktion och rening av DNA skall utföras antingen med konventionella metoder¹, med färdiga satser (som fungerar enligt följande princip: köttprovet behandlas med en lyseringsbuffert innehållande ytaktiva ämnen, detergent och proteinas K; det behandlade provet appliceras på ett DNA-bindande harts; andra föreningar än DNA avlägsnas i flera tvättsteg; och slutligen elueras det renade DNA:t med vatten eller en svag saltbuffert) eller genom extraktion av DNA i natriumhydroxidlösning².

Det rekommenderas att med hjälp av gelelektrofores kontrollera att extraktionen lyckats, men detta är inte obligatoriskt.

Validering: för varje provserie som extraheras skall en parallell kontrollextraktion (dvs. utan kött) utföras för att visa att inga störningar har inträffat i processen.

3. Polymeraskedjereaktion (PCR)

Princip: Principen för PCR är en trestegsprocess (denaturering, hybridisering mellan primrar och DNA, elongering) som skall upprepas 25—40 gånger (antal cykler i metoden). Reagenserna (reaktionsbuffert, MgCl₂, deoxinukleotider, primrar, värmestabilt DNA-polymeras, sterilt vatten) blandas enligt den utvecklade metoden, vilket ger en ”mastermix”. Vid beredning av mastermixen skall särskilt avdelade pipetter användas. Mastermixen sätts därefter till DNA-templatet (extraherat DNA). Reaktionen utförs i en PCR-apparat. När reaktionen är färdig analyseras PCR-produkterna med gelelektrofores eller lagras vid 4 °C eller vid -20 °C.

Den metod som rekommenderas³ för templatet skall mångfaldiga en sekvens antingen i lokus för amelogenin (homolog gen) eller i ZFX/Y-regionen (allelspecifik PCR).

* Ej kontaminerad med DNA.

¹ Beskrivs i Sambrook, J., Fritsch, E.F. och Maniatis, T. (red.) : *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbour Laboratory Press (1989).

² Beskrivs i Elphinstone, J.G., Hennessey, J., Wilson, J.K. och Stead, D. E. (1996) *Bulletin OEPP/EPPO* 26 :663–678.

³ Andra PCR-metoder än den rekommenderade måste först godkännas av ett officiellt referenslaboratorium.

Specifika primrar för dessa båda metoder är följande:

Amelogenin ”forward”: 5’-CAGCCAAACCTCCCTCTGC-3’

Amelogenin ”reverse”: 5’-CCCGCTTGGTCTTGTCTGTTGC-3’

(Ennis, S., och Gallagher, T. F. (1994) *Anim. Genet.* 25: 425–427)

Amelogenin ”forward”: 5’-AAATTCTCTCACAGTCCAAG-3’

Amelogenin ”reverse”: 5’-CAACAGGTAATTTTCCTTTAG-3’

(Chen, C.M., Hu, C.L., Wang, C.H., Hung, C. M., Wu, H.K., Choo, K.B., och Cheng, W.T.K. (1999) *Mol. Reprod. Dev.* 54: 209–214)

ZFX (allelspecifik), ”forward”: 5’-GACAGCTGAACAAGTGTTACTG-3’

ZFX (allelspecifik), ”reverse”: 5’-AATGTCACACTTGAATCGCATC-3’

ZFY (allelspecifik), ”forward”: 5’-GAAGGCCTTCGAATGTGATAAC-3’

ZFY (allelspecifik), ”reverse”: 5’-CTGACAAAAGGTGGCGATTTCA-3’

(Kirkpatrick, B. W., och Monson, R. L. (1993) *J. Reprod. Fertil.* 98: 335–340)

ZFX ”forward”: 5’-AGCTGAACAAGGGTTACTG-3’

ZFY ”forward”: 5’-CAAGCTTACCAGCAAGTCA-3’

ZFX/Y ”reverse”: 5’-CCAGTATGGATTTCGCATGT-3’

(Zinovieva, N., Palma, G., Müller, M., och Brem G. (1995) *Theriogenology* 43: 265)

Mastermixer för PCR skall beredas i en sterilbänk som efter arbetet dekontamineras med hjälp av rengöringsmedel och UV-strålning.

— *Metodanpassning*: Eventuellt kan det krävas förändringar av de publicerade metoderna, exempelvis av mastermixens exakta sammansättning (t.ex. koncentration av MgCl₂ och primrar), den mängd templat-DNA som skall användas samt en anpassning av temperaturprogrammet (temperaturer och hålltider). Vid förekomst av icke-specifika PCR-produkter skall metoden optimeras (t.ex. när det gäller hybridiseringstemperatur samt koncentration av MgCl₂ och primrar) för att säkerställa resultatens riktighet.

— *Validering*: Den metod som används för rutinanalyser måste vara ordentligt validerad. Analys av följande kontroller skall ingå i en provserie: kontrollextraktion (utan kött), negativ PCR-kontroll samt referensprov (nötkött av handjur och hondjur samt ett prov av kött som inte kommer från nötkreatur). Dessutom skall en ny validering göras om viktiga komponenter i processen förändras, exempelvis DNA-polymeras (ny leverantör eller produkt) eller primrar (nytt parti).

— *God laboratorised* är nödvändig, såsom att noggrant rengöra och dekontaminera arbetsutrymmet och de instrument som använts, ta alikvoter av primrar och använda särskilt avdelade pipetter m.m.

4. Analys av PCR-fragment med gelelektrofores

De erhållna PCR-fragmenten skall analyseras med gelelektrofores. Antingen används agarosgeler infärgade med etidumbromid eller polyakrylamidgeler som infärgas med silver efter den elektroforetiska separationen. Vid elektroforesen skall en lämplig storleksmarkör användas för bestämning av ungefärlig molekylvikt hos de erhållna PCR-fragmenten.

5. Dokumentation

De erhållna resultaten skall dokumenteras noggrant (bild av gelen, beskrivning av resultat, notering av oväntade resultat).