

РЕГЛАМЕНТ (ЕО) № 765/2002 НА КОМИСИЯТА

от 3 май 2002 година

относно вземането на проби и приемането на подробни правила във връзка с физическите прегледи на говежди разфасовки без кости, които подлежат на експортни субсидии

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ,

като взе предвид Договора за създаване на Европейската общност,

като взе предвид Регламент (ЕО) № 1254/1999 на Съвета от 17 май 1999 г. относно общата организация на пазара на телешко и говеждо месо¹, последно изменен от Регламент (ЕИО) на Комисията № 2345/2001², и по-специално член 33 параграф 12 от него,

като взе предвид Регламент (ЕИО) на Съвета № 386/90 от 12 февруари 1990 г., относно контрола провеждан по време на износа на земеделски продукти, за които се получават експортни субсидии или други средства³, последно изменен от Регламент (ЕИО) № 163/94⁴, и в частност член 6 от него,

Като има предвид, че:

(1) Съобразно член 33 от Регламент (ЕО) № 1254/1999 на Съвета разликата между цените за продуктите изброени в член 1 на този регламент на световния пазар и в рамките на Общността може да се покрива от експортна субсидия. За земеделските продукти, разпоредбите управляващи системата са заложили в Регламент (ЕО) № 800/1999 от 15 април 1999г. на Комисията, постановяващ общи и детайлни правила за прилагане на системата за експортни субсидии за земеделските продукти⁵, последно изменен и допълнен от Регламент (ЕО) № 2299/2001⁶.

(2) Сектор 5 на първото приложение на Регламент (ЕИО) № 3846/87 на Комисията от 17 декември 1987г. относно установяване на номенклатура за земеделските продукти подлежащи на възстановяване при износ⁷, последно изменен и допълнен от Регламент (ЕО) № 488/2002⁸, постановява *inter alia*, че субсидии ще се отпускат само за точно определени разфасовки без кости при

¹ ОВ L 160, 26.6.1999 г., стр. 1.

² ОВ L 315, 1.12.2001 г., стр. 29.

³ ОВ L 42, 16.2.1990 г., стр. 6.

⁴ ОВ L 24, 29.1.1994 г., стр. 2.

⁵ ОВ L 102, 17.4.1999 г., стр. 11.

⁶ ОВ L 308, 27.11.2001 г., стр. 19.

⁷ ОВ L 366, 24.12.1987 г., стр. 1.

⁸ ОВ L 76, 19.3.2002 г., стр. 11.

условие, че те съдържат едно минимално количество месо без тлъстини от животни от рода на ЕРД и, в случаите когато разфасовките са с произход възрастни мъжки животни от рода на ЕРД, да са опаковани поотделно.

(3) Регламент (ЕО) № 2221/95⁹ на Комисията, последно изменен с Регламент (ЕО) № 2655/1999¹⁰, определя подробни правила по отношение физическите прегледи провеждани по време на износа на земеделски продукти, за които се получават експортни субсидии. Специални условия по отношение на говеждото месо са заложи в Регламент (ЕО) № 2457/97 на Комисията от 10 декември 1997 г. относно събирането на проби във връзка с физическите прегледи на говежди разфасовки без кости, които подлежат на експортни субсидии¹¹.

(4) Следва да се предвидят условия за извършването на проверки на произхода на разфасовки без кости от възрастни мъжки животни от рода на ЕРД, и методологията която ще се прилага при тези проверки, с оглед на стандартизацията, и да се установят съответни глоби в случай на отказ за съобразяване с условието за произход. Регламент (ЕО) № 2457/97 следва, освен това, да бъде осъвременен, за да може да отрази промените в номенклатурата, използвана при отпускането на експортни субсидии за земеделски продукти, залегнала в Регламент (ЕИО) № 3846/87, последно изменен от Регламент (ЕО) № 2556/2001¹².

(5) С оглед на по-голямата яснота, Регламент (ЕО) № 2457/97 трябва да бъде отменен и замени с друг.

(6) Мерките, предвидени от в настоящия регламент не противоречат на становището на Управителен комитет по телешко и говеждо месо,

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

1. Настоящият регламент се прилага в случаите на физически проверки на природата и характеристиките на продуктите, по смисъла на член 2, буква а) на Регламент (ЕИО) № 386/90 относно:

а) изискването за опаковане поотделно на разфасовки без кости, които попадат в следните кодове на продукти:

- 0201 30 00 91/00,
- 0201 30 00 91/20;

⁹ ОВ L 224, 21.9.1995 г., стр.13.

¹⁰ ОВ L 325, 17.12.1999 г., стр.12.

¹¹ ОВ L 340, 11.12.1997 г., стр.29.

¹² ОВ L 348, 31.12.2001 г., стр.1.

б) произхода на разфасовки без кости от възрастни мъжки животни от рода на ЕРД, които попадат в следните кодове на продукти:

- 0201 30 00 91/00,
- 0201 30 00 91/20;

в) минималното количество обезкостено месо без тлъстини в разфасовките, които попадат в следните кодове на продукти:

- 0201 30 00 91/00,
- 0201 30 00 91/20,
- 0201 30 00 90/60,
- 0202 30 90 92/00;

2. Описанието на продуктите упоменати в първия параграф ще бъде това, което се съдържа в номенклатурата за земеделските продукти подлежащи на получаване на експортни субсидии, установена в сектор 5 на приложение I на Регламент (ЕИО) № 3846/87 на Комисията.

Член 2

1. За целите на физическите проверки, пробите ще включват два цели кашона, взети от различни части на партидата. Първият кашон ще е за властите отговорни за проверките, докато вторият ще бъде пазен като резерва под надзора на митническите власти.

2. Цялото количество продукти, за които се отнасят една от следните декларации ще се смята, че съставляват една партида:

а) декларация, посочена в член 5 параграф 1 на Регламент (ЕО) № 800/1999;

б) декларация, посочена в член 26 параграф 1 на Регламент (ЕО) № 800/1999, в ситуацията посочена в този параграф, единствено в случай на складиране.

Член 3

За целите на проверките относно спазване условията упоменати в член 1, параграф 1, буква а), митническите власти ще проверяват дали всяка разфасовка в първия кашон от пробата, посочена в член 2, е опакована поотделно, и че никой от пакетите не съдържа повече от един вид разфасовки. Ако това не е така, на същата проверка ще бъде подложен и втория кашон.

Когато, при съпоставяне на двата кашона, не повече от една разфасовка се окаже опакована не поотделно или само един от пакетите съдържа повече от един вид разфасовки, а всички други условия за предоставяне на експортна субсидия са спазени, партидата няма да бъде сметната за невалидна. Ако не са спазени тези условия, се отбелязва нарушение.

Когато се установи нарушение, субсидията, която следва да бъде изплатена за тази партида ще бъде изчислена на базата на коригираното тегло. Коригираното тегло ще се получава като от декларираното нетно тегло се извади определен процент, отговарящ на теглото на разфасовките, които не отговарят на изискванията по отношение на общото нетно тегло на пробата.

Член 4

За целите на проверките на условието за произход, посочено в член 1, параграф 1, буква б), пробата за анализ ще включва една или две разфасовки подбрани произволно от първия кашон от пробата, упомената в член 2. Когато анализът покаже, че в пробата е налично месо различно от месо говеждо с произход възрастни мъжки животни от рода на ЕРД, няма да бъде отпускана никаква субсидия.

Проверките ще се извършват в съответствие с методологията описана в приложението към настоящия регламент.

Без да се нарушават по-нататъшни проверки в случаите когато има подозрения за нарушение, проверките ще се извършват произволно, покривайки всички експортни операции на не по-малко от една трета от операциите, избрани за извършване на физическата проверка.

Член 5

За целите на проверките относно спазване на условието, посочено в член 1, параграф 1, буква в), цялото съдържание на първия кашон от пробата, посочена в член 2 ще бъде накълцано докато се получи хомогенна смес. Когато съдържанието на месо без тлъстини е под минималното определено количество, съдържанието на втория кашон ще бъде изследвано по същия начин. Когато средната стойност за двата кашона е под средното съдържание на месо без тлъстини, няма да бъде отпускана никаква субсидия.

Член 6

В съответствие с член 68 и без да се нарушава член 78 от Регламент (ЕИО) № 2913/92¹³ на Съвета, пробите ще се събират и проверяват по начина упоменат в

¹³ ОВ L 302, 19.10.1992 г., стр. 1.

настоящия регламент, веднага след като декларациите упоменати в член 2 параграф 2 са приети и проверени.

Член 7

Регламент (ЕО) № 2457/97 се отменя.

Член 8

Настоящият регламент влиза в сила на 1 юли 2002 г.

Той ще се прилага за операции, за които се прилага декларация, посочена в член 2 параграф 2, като такава декларация се прилага след 1 юли 2002 г.

Настоящият регламент е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави-членки.

Съставено в Брюксел на 3 май 2002 година.

За Комисията
Franz FISCHLER
Член на Комисията

ПРИЛОЖЕНИЕ

Анализ на произхода на някои говежди разфасовки без кости с произход възрастни мъжки животни от рода на ЕРД

Методология, която следва да бъде прилагана при определяне пола на животното, от което е месото

Методология, която следва да бъде прилагана се базира на полимеразна верижна реакция (ПВР) и включва избиране на проба, екстрахиране на ДНК, полимеразна верижна реакция и електрофореза на гел.

1. Избиране на проба и част от пробата

Частта от пробата следва да бъде разрязана от вътрешната част на предоставеното парче месо, като се използва стерилен¹⁴ нож (скалпел или подобен нож). Същата проба след това следва да бъде смляна използвайки мелачка за ситно мелене на месо или разрязана на по-малки парченца, за да се осигури разумна ефикасност на екстрахирането.

Пробите трябва да се приготвят на различно работно място от това, което се използва за провеждане на полимеразната верижна реакция. Боравенето с материала трябва да се извършва в среда, която може да се почиства лесно, по възможност на чиста работна маса, за да се осигури това, че няма да се получи взаимно замърсяване с други проби.

За приготвянето на месната проба следва да се използват стерилни¹⁵ остриета, скалпели или подобни инструменти.

2. Екстрахиране и пречистване на ДНК

Екстрахиране и пречистване на ДНК трябва да бъде постигнато или като се използват общоприети процедури¹⁶, предварително подготвени и готови за употреба комплекти от инструменти (базирани на следния принцип: разтваряне на месната проба в лизисен буфер, който съдържа сурфактанти, детергенти и протеиназа К, прилагане на разтворената проба към фиксираща смола за ДНК, отстраняване на субстанции с произход различен от ДНК чрез неколккратно измиване, и накрая прехвърляне на пречистената ДНК във вода или буферен разтвор с ниско съдържание на соли), или екстрахирането на ДНК на стане чрез потапянето ѝ в разтвор от натриев хидроксид¹⁷.

¹⁴ Незамърсени с ДНК.

¹⁵ Незамърсени с ДНК.

¹⁶ Така както това е описано в: Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (eds) in: Molecular Cloning, Cold Spring Harbour Laboratory Press (1989).

¹⁷ Така както това е описано в: Elphinstone, J.G., Hennessey, J., Wilson, J.K., and Stead, D.E. (1996) Bulletin OIE/EPPO 26, 663-678.

Препоръчва се контрол на ефикасността на екстрахиране чрез електрофореза на гел, но това не е задължително.

Валидация: за всяка група проби, от които ще се изтегля/екстрахира ДНК, паралелно ще се провежда една контролна екстракция (т.е. ще се изтегля от проба, която не съдържа месо), с цел да се докаже верността на приложената процедура.

3. Полимеразна верижна реакция (ПВР)

Принцип: принципът на полимеразната верижна реакция е процедура от три етапа (денатурация, хибридиране на праймери, елонгация), която следва да се повтори от 25 до 40 пъти (брой на “циклите” в метода). Реагентите (буферен разтвор за реакцията, MgCl₂, дезоксинуклеотиди, праймери, устойчива на топлина ДНК-полимераза, стерилна вода) се смесват съгласно разработения метод, като така се получава реакционна смес. Специално отделени пипети следва да бъдат използвани за приготвянето на тази реакционна смес. Реакционната смес след това се прибавя към ДНК-шаблона (екстрахираната ДНК). Реакцията се провежда в термоцикличен уред. След края на полимеразната верижна реакция, нейните продукти се анализират чрез електрофореза на гел или се съхраняват при температури 4° С или при - 20 °С.

Препоръчителният¹⁸ метод, който следва да се прилага, по отношение на шаблона, трябва да допълни или ред от локус от амелогенин (когато се касае за хомологов ген) или ред от региона ZFX/Y (полимеразна верижна реакция, специфична за всеки алел).

Специфични матрици за тези два метода са следните:

Amelogenin forward: 5'-CAGCCAAACCTCCCTCTGC-3'
Amelogenin reverse: 5'-CCCGCTTGGTCTTGTCTGTTGC-3'
(Ennis, S. and Gallagher, T.F. (1984) *Anim. Genet.* 25: 425-427)

Amelogenin forward: 5'-AAATTCTCTCACAGTCCAAG-3'
Amelogenin reverse: 5'-CAACAGGTAATTTCCSTTTAG-3'
(Chen, C.M., Hu, C.I., Wang, C.H., Hung, C.M., Wu, H.K., Choo, K.B. and Chong, W.T.K. (1999) *Mol. Reprod. Dev.* 54: 209-214)

ZFX (алел-специфична полимеразна верижна реакция), forward:
5'-GACAGCTGAACAAGTCTTACTG-3'

ZFX (алел-специфична полимеразна верижна реакция), reverse:
5'-AATGTCACACTTGAATCGCATC-3'

ZFY (алел-специфична полимеразна верижна реакция), forward:
5'-GAAGGCCTTCGAATGTGATAAC-3'

¹⁸ Методи на полимеразна верижна реакция освен препоръчителния, подлежат на одобрение от официално посочена референтна лаборатория.

ZFY (алел-специфична полимеразна верижна реакция), reverse:
5'-CTGACAAAAGGTGGCGATTTCA-3'
(Kirkpatrick, B.W. and Monson, R.I. (1993) *J. Reprod.Fertil.* 98: 335-340)

ZFX forward: 5'-AGCTGAACAAGGGTTACGT-3'
ZFY forward: 5'-CAAGCTTACCAGCAAGTCA-3'
ZFX/Y forward: 5'-CCAGTATGGATTTCGCATGT-3'
(Zinovieva, N., Palma, G., Miller, M. and Brem, G. (1995) *Theriogenology* 43: 265)

Т.нар. реакционни смеси на полимеразната верижна реакция трябва да се приготвят на чиста работна маса, която предварително е почистена от замърсители след предишна работа, използвайки детергенти и ултравиолетови лъчи.

Развиване на методи: може да се наложат възможни промени в така публикуваните методи, например в точното съдържание на реакционната смес (например концентрацията на магнезиевия хлорид (MgCl₂), концентрацията на матриците), количеството използвана ДНК, и адаптирана температурна програма (температури и време на престой). Появата на неспецифични продукти за допълване ще довежда до оптимизиране (например температура на хибридиране, концентрация на магнезиевия хлорид, концентрация на матриците, и така нататък) за да се гарантира точността на резултатите.

Валидация: методът, който следва да се използва в рутинните анализи трябва да се оцени по подходящ начин. Анализ на следните контролни проби трябва да бъде включен в комплекта проби: екстрахиране на ДНК от контролна проба (в която няма месо), отрицателна проба на полимеразна верижна реакция, и контролни проби (говеждо месо от мъжко и женско животно, както и една проба от месо, различно от говеждо). Нещо повече, повторна валидация ще се прилага ако ключовите компоненти в процедурата са сменени, например ДНК-полимеразата (различен доставчик на продукта) или матриците (нова партида).

Добрите лабораторни практики ще се смятат за задължителни, например правилно почистване и отстраняване на замърсявания от работното място и използваните инструменти, разпределяне на матриците на равни части, използване на специално пригодени пипети и така нататък.

4. Анализ на ампликони чрез електрофореза върху гел

Фрагментите, получени в резултат от полимеразната верижна реакция (ампликони) следва да бъдат анализирани чрез електрофореза на гел. След завършване на електрофорезното отделяне могат да се използват или агарни гелове, оцветени с етидиев бромид или полиакриламидни гелове, примесени със сребро. За да се определи приблизителния размер на получените ампликони върху гела трябва да се използва подходящ маркер на молекулярното тегло.

5. Документация

Получените резултати трябва да се документират по подходящ начин (изображение чрез гел, описание на резултатите, обръщане внимание на каквито и да било неочаквани резултати).