

KOMMISJONSFORORDNING (EU) nr. 519/2014**2022/EØS/49/11**

av 16. mai 2014

om endring av forordning (EF) nr. 401/2006 med hensyn til metoder for prøvetaking av store partier, krydder og kosttilskudd, ytelseskriterier for T-2-toksin, HT-2-toksin og citrinin samt screeninganalysemetoder(*)

EUROPAKOMMISJONEN HAR

under henvisning til traktaten om Den europeiske unions virkemåte,

under henvisning til europaparlaments- og rådsforordning (EF) nr. 882/2004 av 29. april 2004 om offentlig kontroll for å sikre at fôr- og næringsmiddelregelverket samt bestemmelsene om dyrs helse og velferd overholdes⁽¹⁾, særlig artikkel 11 nr. 4, og

ut fra følgende betraktninger:

- 1) Ved kommisjonsforordning (EF) nr. 1881/2006⁽²⁾ er det fastsatt grenseverdier for visse mykotoksiner i visse næringsmidler.
- 2) Prøvetaking spiller en svært viktig rolle når det gjelder å bestemme det nøyaktige innholdet av mykotoksiner, som vanligvis er heterogent fordelt i et parti. Det er derfor nødvendig å fastsette kriterier som prøvetakingsmetodene må oppfylle.
- 3) Ved kommisjonsforordning (EF) nr. 401/2006⁽³⁾ er det fastsatt kriterier for prøvetaking for å kontrollere innholdet av mykotoksiner.
- 4) Reglene for prøvetaking av krydder må endres for å ta hensyn til forskjellen i partikkelstørrelse som fører til en heterogen fordeling av mykotoksinforurensning i krydder. Videre bør det fastsettes regler for prøvetaking av store partier for å sikre ensartet anvendelse i hele Unionen. Det bør også klargjøres hvilken prøvetakingsmetode som skal brukes ved prøvetaking av eplejuice.
- 5) Ytelseskriteriene for T-2- og HT-2-toksin må ajourføres for å ta hensyn til den vitenskapelige og teknologiske utviklingen. Det må det fastsettes ytelseskriterier for citrinin i betraktning av den øvre grenseverdien som er fastsatt for citrinin i kosttilskudd basert på ris gjæret med rød gjær (*Monascus purpureus*).
- 6) Ved analyse av mykotoksiner brukes det i stadig større grad screeningmetoder. Det bør fastsettes kriterier som screeningmetodene må oppfylle for å kunne brukes i reguleringsøyemed.
- 7) Tiltakene fastsatt i denne forordningen er i samsvar med uttalelse fra Den faste komité for næringsmiddelkjeden og dyrehelsen.

VEDTATT DENNE FORORDNINGEN:

Artikkel 1

I forordning (EF) nr. 401/2006 gjøres følgende endringer:

- 1) I vedlegg I gjøres følgende endringer:
 - a) I del B skal fotnote (1) lyde:

«(1) Prøvetaking av slike partier skal utføres i samsvar med reglene fastsatt i del L. En veiledning om prøvetaking av store partier finnes i et dokument som er tilgjengelig på følgende nettsted: <http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/guidance-sampling-final.pdf>

(*) Denne unionsrettsakten, kunngjort i EUT L 147 av 17.5.2014, s. 29, er omhandlet i EØS-komiteens beslutning nr. 259/2014 av 12. desember 2014 om endring av EØS-avtalens vedlegg II (Tekniske forskrifter, standarder, prøving og sertifisering), se EØS-tillegget til *Den europeiske unions tidende* nr. 71 av 26.11.2015, s. 8.

(¹) EUT L 165 av 30.4.2004, s. 1.

(²) Kommisjonsforordning (EF) nr. 1881/2006 av 19. desember 2006 om fastsettelse av grenseverdier for visse forurensende stoffer i næringsmidler (EUT L 364 av 20.12.2006, s. 5).

(³) Kommisjonsforordning (EF) nr. 401/2006 av 23. februar 2006 om fastsettelse av prøvetakings- og analysemetoder for offentlig kontroll av innholdet av mykotoksiner i næringsmidler (EUT L 70 av 9.3.2006, s. 12).

Reglene for prøvetaking fastsatt i standarden EN ISO 24333:2009 eller i GAFTAs regler for prøvetaking («GAFTA 124») som driftsansvarlige for næringsmiddelforetak anvender for å sikre at bestemmelsene i lovgivningen overholdes, tilsvarer reglene for prøvetaking i del L.

Ved prøvetaking av partier med tanke på *Fusarium*-toksiner tilsvarer reglene for prøvetaking i henhold til EN ISO 24333:2009 eller GAFTAs regler for prøvetaking («GAFTA 124») som driftsansvarlige for næringsmiddelforetak anvender for å sikre at bestemmelsene i lovgivningen overholdes, reglene for prøvetaking i del B.»

b) I del B.2 skal tabell 1 lyde:

«Tabell 1

Underoppdeling av partier i delpartier etter produkt og partiets vekt

| Vare | Partiets vekt (tonn) | Delpartiens vekt eller antall | Antall enkeltprøver | Samleprøvens vekt (kg) |
|-----------------------|----------------------|-------------------------------|---------------------|------------------------|
| Korn og kornprodukter | > 300 og < 1 500 | 3 delpartier | 100 | 10 |
| | ≥ 50 og ≤ 300 | 100 tonn | 100 | 10 |
| | < 50 | — | 3–100(*) | 1–10 |

(*) Avhengig av partiets vekt – se tabell 2.»

c) I del B.3 tilføyes følgende punktum på slutten av første strekpunkt:

«For partier > 500 tonn er antall enkeltprøver i del L.2 i vedlegg I.»

d) I del D.2 tilføyes følgende punktum etter første punktum:

«Denne prøvetakingsmetoden skal også anvendes ved offentlig kontroll av grenseverdiene fastsatt for okratoksin A, aflatoksin B1 og samlet aflatoksinninnhold i krydder med en relativt stor partikkelstørrelse (en partikkelstørrelse som den hos jordnøtter eller større, f.eks. muskatnøtt).»

e) I del E skal første punktum lyde:

«Denne prøvetakingsmetoden skal anvendes ved offentlig kontroll av de øvre grenseverdiene som er fastsatt for okratoksin A, aflatoksin B1 og samlet aflatoksinninnhold i krydder, bortsett fra krydder med en relativt stor partikkelstørrelse (heterogen fordeling av mykotoksinforurensning).»

f) I del I skal overskriften og første punktum lyde:

«I. PRØVETAKINGSMETODE FOR EPLEPRODUKTER I FAST FORM

Denne prøvetakingsmetoden skal anvendes ved offentlig kontroll av de øvre grenseverdiene som er fastsatt for patulin i epleprodukter i fast form, herunder epleprodukter i fast form for spedbarn og småbarn.»

g) I del I.1 andre ledd utgår følgende punktum:

«For flytende produkter skal partiet blandes så grundig som mulig, enten manuelt eller mekanisk, rett før prøvetaking. I så fall kan det antas at patulin er ensartet fordelt i et gitt parti. Det er derfor tilstrekkelig å ta tre enkeltprøver fra et parti som skal utgjøre samleprøven.»

h) Ny del L og M som angitt i vedlegg I til denne forordningen tilføyes.

2) Nr. 4.2 «Generelle krav», 4.3 «Særlige krav» og 4.4 «Vurdering av måleusikkerhet, gjenfinningsberegning og resultatrapportering» i vedlegg II erstattes med teksten i vedlegg II til denne forordningen.

Artikkel 2

Denne forordningen trer i kraft den 20. dagen etter at den er kunngjort i *Den europeiske unions tidende*.

Den får anvendelse fra 1. juli 2014.

Denne forordningen er bindende i alle deler og kommer direkte til anvendelse i alle medlemsstater.

Utferdiget i Brussel 16. mai 2014.

For Kommisjonen

José Manuel BARROSO

President

VEDLEGG I

«L. PRØVETAKINGSMETODE FOR SVÆRT STORE PARTIER ELLER PARTIER SOM LAGRES ELLER TRANSPORTERES PÅ EN MÅTE SOM GJØR DET UMULIG Å TA PRØVER AV HELE PARTIET

L.1. Allmenne prinsipper

Dersom transport eller lagring av et parti gjør det umulig å ta enkeltprøver av hele partiet, bør det tas prøver av slike partier når partiet er i flyt (dynamisk prøvetaking).

Når det gjelder store lagre som er beregnet på lagring av næringsmidler, bør driftsansvarlige oppfordres til å installere utstyr på lagrene som gjør det mulig å foreta (automatisk) prøvetaking i hele det lagrede partiet.

Ved anvendelse av prøvetakingsmetodene som er omhandlet i denne del L, underrettes den driftsansvarlige for næringsmiddelforetaket eller dennes representant om prøvetakingsmetoden. Dersom den driftsansvarlige for næringsmiddelforetaket eller dennes representant er i tvil om prøvetakingsprosedyren, skal den driftsansvarlige for næringsmiddelforetaket eller dennes representant gi vedkommende myndighet mulighet til å ta prøver av hele partiet for sin regning.

Prøvetaking av en del av partiet er tillatt, under forutsetning av at den delen som tas ut for prøvetaking, utgjør minst 10 % av partiet det skal tas prøver av. Dersom det er tatt prøve av en del av et parti næringsmidler i samme klasse eller med samme betegnelse, og det fastslås at den ikke oppfyller Unionens krav, skal det antas at det samme gjelder for hele partiet, med mindre en ytterligere inngående vurdering viser at det ikke er belegg for at resten av partiet ikke oppfyller kravene.

De relevante bestemmelsene om for eksempel enkeltprøvens vekt fastsatt i andre deler av dette vedlegget anvendes ved prøvetaking av svært store partier eller partier som lagres eller transporteres på en måte som gjør det umulig å ta prøver av hele partiet.

L.2. Antall enkeltprøver som skal tas dersom partiene er svært store

Dersom de delene av et parti som tas ut for prøvetaking, er store (> 500 tonn), er antall enkeltprøver som skal tas = 100 enkeltprøver + $\sqrt{\text{tonn}}$. Dersom partiet veier mindre enn 1 500 tonn og kan inndeles i delpartier i samsvar med tabell 1 i del B, og under forutsetning av at delpartiene kan atskilles fysisk, skal det imidlertid tas det antall enkeltprøver som er angitt i del B.

L.3. Store partier som transporteres med skip

L.3.1. Dynamisk prøvetaking av store partier som transporteres med skip

Prøvetaking av store partier i skip skal fortrinnsvis foretas mens produktet er i flyt (dynamisk prøvetaking).

Prøvetakingen skal foretas per lasterom (enhet som kan atskilles fysisk). Lasterommene tømmes imidlertid delvis ett etter ett, slik at den opprinnelige fysiske atskillelsen ikke lenger eksisterer etter overføringen til lagringsstedene. Prøvetaking kan derfor foretas enten på grunnlag av den opprinnelige fysiske atskillelsen eller atskillelsen etter overføringen til lagringsstedene.

Det kan ta flere dager å losse et skip. Vanligvis skal prøvetaking foretas med jevne mellomrom så lenge lossingen pågår. Det er imidlertid ikke alltid mulig eller hensiktsmessig at en offisiell inspektør er til stede for å ta prøver under hele lossingen. Det er derfor tillatt å ta prøver av en del av partiet (del som tas ut for prøvetaking). Antall enkeltprøver fastsettes ut fra størrelsen på den delen som tas ut for prøvetaking.

Selv om den offisielle prøven tas automatisk, skal en inspektør være til stede. Dersom den automatiske prøvetakingen foretas med forhåndsinnstilte parametere som ikke kan endres under prøvetakingen, og enkeltprøvene samles i en forseglede beholder som hindrer mulig svindel, kreves det at inspektøren er til stede bare når prøvetakingen starter, hver gang prøvebeholderen skal skiftes ut og når prøvetakingen avsluttes.

L.3.2. Statisk prøvetaking av partier som transporteres med skip

Dersom prøvetakingen foretas på en statisk måte, må det benyttes samme framgangsmåte som den som gjelder for lagringssteder (siloeer) som er tilgjengelige ovenfra (se L.5.1).

Prøvene skal tas (ovenfra) fra den tilgjengelige delen av partiet/lasterommet. Antall enkeltprøver fastsettes ut fra størrelsen på den delen som tas ut for prøvetaking.

L.4. Prøvetaking av store partier som oppbevares i lagre

Prøvene skal tas fra den tilgjengelige delen av partiet. Antall enkeltprøver fastsettes ut fra størrelsen på den delen som tas ut for prøvetaking.

L.5. Prøvetaking fra lagre (siloeer)**L.5.1. Prøvetaking fra siloeer som er (lett) tilgjengelige ovenfra**

Prøvene skal tas fra den tilgjengelige delen av partiet. Antall enkeltprøver fastsettes ut fra størrelsen på den delen som tas ut for prøvetaking.

L.5.2. Prøvetaking fra siloeer som ikke er tilgjengelige ovenfra (lukkede siloeer)**L.5.2.1. Siloeer som ikke er tilgjengelige ovenfra (lukkede siloeer), med en individuell størrelse på > 100 tonn**

Det kan ikke tas prøver på en statistisk måte av næringsmidler som lagres i slike siloeer. Dersom det skal tas prøver av næringsmidler i en slik silo og det ikke er mulig å flytte partiet, skal det derfor inngås avtale med den driftsansvarlige om at han/hun skal underrette inspektøren om når siloen vil bli tømt, helt eller delvis, slik at det kan tas prøver mens næringsmidlene er i flyt.

L.5.2.2. Siloeer som ikke er tilgjengelige ovenfra (lukkede siloeer), med en individuell størrelse på < 100 tonn

I motsetning til bestemmelsen i del L.1 (den delen som tas ut for prøvetaking, utgjør minst 10 %) innebærer prøvetakingsmetoden overføring til en beholder med en størrelse på 50–100 kg, som prøven tas fra. Samleprøvens størrelse skal tilsvare hele partiet, og antall enkeltprøver skal beregnes ut fra mengden i den siloen som næringsmidlene overføres til en beholder fra med sikte på prøvetaking.

L.6. Prøvetaking av uemballerte næringsmidler i store lukkede beholdere

Prøver fra slike partier kan ofte ikke tas før de losses. Det er i enkelte tilfeller ikke mulig å losse slike beholdere på innførsels- eller kontrollstedet, og prøvetakingen bør derfor utføres når beholderne losses. Den driftsansvarlige skal underrette inspektøren om stedet og tidspunktet for lossing av beholderne.

M. PRØVETAKINGSMETODE FOR KOSTTILSKUDD BASERT PÅ RIS GJÆRET MED RØD GJÆR (*MONASCUS PURPUREUS*)

Denne prøvetakingsmetoden skal brukes ved den offentlige kontrollen av den øvre grenseverdien fastsatt for citrinin i kosttilskudd basert på ris gjæret med rød gjær (*Monascus purpureus*).

Prøvetakingsmetode og prøvestørrelse

Prøvetakingsmetoden er basert på en antakelse om at kosttilskuddene basert på ris gjæret med rød gjær (*Monascus purpureus*) markedsføres i forbrukerpakninger som vanligvis inneholder 30–120 kapsler per pakning.

| Partistørrelse | Antall forbrukerpakninger det skal tas prøver av | Prøvestørrelse |
|----------------|---|---|
| 1–50 | 1 | Alle kapsler |
| 51–250 | 2 | Alle kapsler |
| 251–1 000 | 4 | Halvparten av alle kapsler i alle forbrukerpakninger det skal tas prøver av |
| > 1 000 | 4 + 1 forbrukerpakning per 1 000 forbrukerpakninger med høyst 25 forbrukerpakninger | ≤ 10 forbrukerpakninger: halvparten av kapslene i hver forbrukerpakning > 10 forbrukerpakninger: fra hver forbrukerpakning tas det et likt antall kapsler for å oppnå en prøve som tilsvarer innholdet i 5 forbrukerpakninger» |

VEDLEGG II

«4.2. **Generelle krav**

De bekreftende analysemetodene som benyttes ved kontroll av næringsmidler, skal være i samsvar med bestemmelsene i nr. 1 og 2 i vedlegg III til forordning (EF) nr. 882/2004.

4.3. **SÆRLIGE krav**4.3.1. *Særlige krav til bekreftelsesmetoder*

4.3.1.1. Ytelseskriterier

Det anbefales å bruke fullt ut validerte bekreftelsesmetoder (for eksempel metoder som er blitt validert ved undersøkelser foretatt ved flere laboratorier for de respektive matrisene) dersom dette er relevant, og dersom slike er tilgjengelige. Andre egnede validerte bekreftelsesmetoder (for eksempel metoder som er blitt validert internt for relevante matriser som tilhører den berørte varegruppen) kan også brukes, forutsatt at de oppfyller ytelseskriteriene angitt i tabellene som følger.

Om mulig skal valideringen av de internt validerte metodene omfatte sertifisert referansemateriale.

a) Ytelseskriterier for aflatoksiner

| «Kriterium | Konsentrasjonsområde | Anbefalt verdi | Høyeste tillatte verdi |
|--|----------------------|--|--|
| Blindprøver | Alle | Ubetydelig | — |
| Gjenfinning – aflatoksin M1 | 0,01–0,05 µg/kg | 60–120 % | |
| | > 0,05 µg/kg | 70–110 % | |
| Gjenfinning – aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ | < 1,0 µg/kg | 50–120 % | |
| | 1–10 µg/kg | 70–110 % | |
| | > 10 µg/kg | 80–110 % | |
| Reproduserbarhet (RSD _R) | Alle | Utregnet etter Horwitz' ligning(*)(**) | 2 × verdien utregnet etter Horwitz' ligning(*)(**) |

Repeterbarhet RSD_r kan beregnes som 0,66 ganger reproduserbarhet RSD_R ved den relevante konsentrasjonen.»

Merk:

- Verdiene gjelder både for B₁ og for summen av B₁+B₂+G₁+G₂
- Dersom summen for de enkelte aflatoksinene B₁+B₂+G₁+G₂ skal oppgis, må hvert aflatoksins respons på analysemetoden enten være kjent eller likeverdig.

b) Ytelseskriterier for okratoksin A

| Nivå µg/kg | Okrotoksin A | | |
|---------------|--------------------|--------------------|---------------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Gjenfinning % |
| < 1 | ≤ 40 | ≤ 60 | 50–120 |
| ≥ 1 | ≤ 20 | ≤ 30 | 70–110 |

c) Ytelseskriterier for patulin

| Nivå µg/kg | Patulin | | |
|---------------|--------------------|--------------------|---------------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Gjenfinning % |
| < 20 | ≤ 30 | ≤ 40 | 50–120 |
| 20–50 | ≤ 20 | ≤ 30 | 70–105 |
| > 50 | ≤ 15 | ≤ 25 | 75–105 |

d) Ytelseskriterier for deoksynivalenol

| Nivå µg/kg | Deoksynivalenol | | |
|---------------|--------------------|--------------------|---------------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Gjenfinning % |
| > 100–≤ 500 | ≤ 20 | ≤ 40 | 60–110 |
| > 500 | ≤ 20 | ≤ 40 | 70–120 |

e) Ytelseskriterier for zearalenon

| Nivå µg/kg | Zearalenon | | |
|---------------|--------------------|--------------------|---------------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Gjenfinning % |
| ≤ 50 | ≤ 40 | ≤ 50 | 60–120 |
| > 50 | ≤ 25 | ≤ 40 | 70–120 |

f) Ytelseskriterier for fumonisin B₁ og B₂ enkeltvis

| Nivå µg/kg | Fumonisin B ₁ og B ₂ enkeltvis | | |
|---------------|--|--------------------|---------------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Gjenfinning % |
| ≤ 500 | ≤ 30 | ≤ 60 | 60–120 |
| > 500 | ≤ 20 | ≤ 30 | 70–110 |

g) Ytelseskriterier for T-2- og HT-2-toksin enkeltvis

| Nivå µg/kg | T-2- og HT-2-toksin enkeltvis | | |
|---------------|-------------------------------|--------------------|---------------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Gjenfinning % |
| 15–250 | ≤ 30 | ≤ 50 | 60–130 |
| > 250 | ≤ 25 | ≤ 40 | 60–130 |

h) Ytelseskriterier for citrinin

| Nivå µg/kg | Citrinin | | | |
|---------------|-------------------------|--|--|---------------|
| | RSD _r % | Anbefalt RSD _R % | Høyeste tillatte RSD _R % | Gjenfinning % |
| Alle | 0,66 × RSD _R | Utregnet etter Horwitz' ligning(*)(**) | 2 × verdien utregnet etter Horwitz' ligning(*)(**) | 70–120 |

i) Merknader til ytelseskriteriene for mykotoksiner:

- Påvisningsgrensene i metodene som brukes, er ikke angitt, ettersom presisjonsverdiene er angitt ved de relevante konsentrasjonene.
- Presisjonsverdien er utregnet etter Horwitz' ligning, særlig den opprinnelige Horwitz' ligning (for konsentrasjoner $1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138$)(* og Horwitz' endrede ligning (for konsentrasjoner $C < 1,2 \times 10^{-7}$)(**).

(*) Horwitz' ligning for konsentrasjoner $1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138$:

$$RSD_R = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

Ref.: *W. Horwitz, L.R. Kamps, K.W. Boyer, J.Assoc.Off.Analy.Chem., 1980, 63, 1344*)

(**) Horwitz' endrede ligning(*) for konsentrasjoner $C < 1,2 \times 10^{-7}$:

$$RSD_R = 22 \%$$

Ref.: *M. Thompson, Analyst, 2000, 125, p. 385-386*)

der:

- RSD_R står for det relative standardavviket beregnet ut fra resultater oppnådd under reproduserbarhetsforhold $[(sR/) \times 100]$.
- C er konsentrasjonsforholdet (dvs. $1 = 100 \text{ g} / 100 \text{ g}$, $0,001 = 1 \text{ 000 mg/kg}$).

Dette er en generell presisjonsligning som er funnet å være uavhengig av analytt og matrise, men som bare er avhengig av konsentrasjonen for de fleste rutineanalysemetoder.

4.3.1.2. Egnethetsprinsipp

For internt validerte metoder kan det alternativt benyttes en metode for å bedømme egnethet(***) for å vurdere om metodene er egnet for offentlig kontroll. Metoder som er egnet for offentlig kontroll, må gi resultater med en standard måleusikkerhet (u) som er lavere enn høyeste standard måleusikkerhet beregnet ved hjelp av følgende formel:

$$Uf = \sqrt{(LOD / 2)^2 + (\alpha + C)^2}$$

der:

- Uf er høyeste standard måleusikkerhet ($\mu\text{g/kg}$).
- LOD er metodens påvisningsgrense ($\mu\text{g/kg}$).
- α er en konstant tallverdi som skal brukes, og avhenger av verdien av C . Verdiene som skal brukes, er angitt i tabellen nedenfor.
- C er den relevante konsentrasjonen ($\mu\text{g/kg}$).

Dersom en analysemetode gir resultater med en måleusikkerhet som er mindre enn høyeste standard usikkerhet, skal metoden anses som like godt egnet som en metode som oppfyller ytelseskriteriene i nr. 4.3.1.1.

Tabell

Tallverdier som skal brukes for α som konstant i formelen angitt i dette punkt, avhengig av den relevante konsentrasjonen

| C ($\mu\text{g/kg}$) | α |
|------------------------|----------|
| ≤ 50 | 0,2 |
| 51–500 | 0,18 |
| 501–1 000 | 0,15 |
| 1 001–10 000 | 0,12 |
| $> 10 \text{ 000}$ | 0,1 |

(***) Ref.: *M. Thompson and R. Wood, Accred. Qual. Assur., 2006, 10, s. 471-478.*

4.3.2. Særlige krav til semikvantitative screeningmetoder

4.3.2.1. Bruksområde

Bruksområdet omfatter bioanalytiske metoder basert på immungjenkjenning eller reseptorbinding (f.eks. ELISA, teststrimler, utstyr basert på lateral flow, immunsensorer) og fysisk-kjemiske metoder basert på kromatografi eller direkte påvisning ved bruk av massespektrometri (f.eks. massespektrometri (MS) under omgivelsesforhold). Andre metoder (f.eks. tynnsjiktskromatografi) er ikke utelukket, forutsatt at signalene som genereres, er direkte knyttet til de relevante mykotoksinene og gjør det mulig å bruke prinsippet beskrevet nedenfor.

De særlige kravene gjelder for de metodene der måleresultatet er en tallverdi, f.eks. en (relativ) respons fra en teststrimmelavleser, et signal fra LC-MS (væskekromatografi/massespektrometri) osv., og der normal statistikk anvendes.

Kravene gjelder ikke for de metodene som ikke genererer tallverdier (som f.eks. bare viser en synlig eller en ikke-synlig linje), som krever andre valideringsmetoder. Særlige krav til disse metodene angis i nr. 4.3.3.

Dette dokumentet beskriver framgangsmåtene for validering av screeningmetoder ved hjelp av en validering som foretas ved flere laboratorier, kontroll av ytelsen til en metode validert ved flere laboratorier og validering av en screeningmetode ved ett laboratorium.

4.3.2.2. Terminologi

Screeningmålkonsentrasjon (STC): den relevante konsentrasjonen for påvisning av mykotoksinet i en prøve. Når målet er å teste samsvar med fastsatte grenser, tilsvarer STC gjeldende øvre grenseverdi. Til andre formål eller dersom ingen øvre grenseverdi er fastsatt, forhåndsdefineres STC av laboratoriet.

Screeningmetode: en metode som brukes til utvelgelse av prøver med nivåer av mykotoksiner som overskrider screeningmålkonsentrasjonen (STC), med en gitt konfidensgrad. Ved mykotoksinscreening anses en konfidensgrad på 95 % som egnet for formålet. Resultatet av screeninganalysen er enten «negativt» eller «mistenkelig». Screeningmetodene skal sikre en kostnadseffektiv og høy analysekapasitet som øker muligheten til å oppdage nye tilfeller som innebærer høy eksponering og helsefare for forbrukerne. Metodene skal være basert på bioanalytiske metoder, LC-MS-metoder eller HPLC-metoder. Prøveresultater som overstiger grenseverdien, må kontrolleres ved å analysere den opprinnelige prøven på nytt med en bekreftelsesmetode.

Negativ prøve: en prøve med et mykotoksininnhold på $< STC$ med en konfidensgrad på 95 % (dvs. at det er 5 % mulighet for at prøven er blitt feilrapportert som negativ).

Falskt negativ prøve: en prøve med et mykotoksininnhold på $> STC$, men som er blitt identifisert som negativ.

Mistenkelig prøve (positivt resultat): en prøve som overstiger grenseverdien (se nedenfor), og som kan ha et mykotoksininnhold som er høyere enn STC. Mistenkelige prøver må analyseres på nytt med en bekreftelsesanalyse for å sikre utvetydig identifisering og mengdebestemmelse av mykotoksinet.

Falskt mistenkelig prøve: en negativ prøve som er identifisert som mistenkelig.

Bekreftelsesmetoder: metoder som gir fullstendige eller utfyllende opplysninger, for å sikre utvetydig identifisering og mengdebestemmelse av mykotoksinet.

Grenseverdi: responsen, signalet eller konsentrasjonen som oppnås med screeningmetoden. Over denne verdien klassifiseres prøven som «mistenkelig». Grenseverdien bestemmes under valideringen, og det tas hensyn til målingens variabilitet.

Negativ kontrollprøve (blindmatrise): en prøve som er påvist ikke å inneholde⁽¹⁾ mykotoksinet det screenes for, f.eks. ved forhåndsbestemmelse der det brukes en tilstrekkelig følsom bekreftelsesmetode. Dersom det ikke er mulig å framstille blindprøver, kan materialet med lavest mulig nivå brukes, forutsatt at det kan fastslås at screening-metoden er egnet for formålet.

Positiv kontrollprøve: prøve som inneholder mykotoksinet ved screeningmålkonsentrasjonen, f.eks. sertifisert referansemateriale, materiale med kjent innhold (f.eks. analysemateriale fra egnethetsprøvninger) eller som er blitt tilstrekkelig karakterisert ved hjelp av en bekreftelsesmetode. Dersom ingenting av det ovenstående foreligger, kan det brukes en blanding av prøver med forskjellige forurensningsnivåer eller en spiket prøve som er framstilt på laboratoriet, forutsatt at det kan dokumenteres at forurensningsnivået er blitt kontrollert.

4.3.2.3. Framgangsmåte for validering

Målet med valideringen er å vise at screeningmetoden er egnet for formålet. Dette gjøres ved å bestemme grenseverdien og andelen falskt negative og falskt mistenkelige prøver. I disse to parametrene inngår ytelsesegenskaper som følsomhet, selektivitet og presisjon.

Screeningmetodene kan valideres ved flere laboratorier eller ved ett laboratorium. Dersom det allerede foreligger opplysninger om en validering foretatt ved flere laboratorier for en bestemt kombinasjon av mykotoksin/matrise/STC, er det tilstrekkelig at metodens ytelse kontrolleres på et laboratorium som bruker metoden.

4.3.2.3.1. Innledende validering ved validering som foretas ved ett laboratorium

Mykotoksiner:

Det skal foretas en validering for hvert enkelt mykotoksin innenfor bruksområdet. Når det gjelder bioanalytiske metoder som gir en kombinert respons for en bestemt mykotoksingruppe (f.eks. aflatoksin B₁, B₂, G₁ og G₂, fumonisin B₁ og B₂), må det dokumenteres at disse kan brukes, og analysens begrensninger må angis i definisjonen av metodens bruksområde. Uønsket kryssreaktivitet (f.eks. DON-3-glykosid, 3- eller 15-acetyl-DON for immunbaserte metoder for DON) antas ikke å øke andelen falskt negative resultater for målmykotoksinene, men kan øke andelen falskt mistenkelige resultater. Denne uønskede økningen kan minskes ved å utføre en bekreftelsesanalyse for å sikre utvetydig identifisering og mengdebestemmelse av mykotoksinene.

Matriser:

Det bør foretas en innledende validering for hver enkelt vare eller, dersom det er vist at metoden kan brukes på flere varer, for hver varegruppe. I sistnevnte tilfelle velges en representativ og relevant vare fra den aktuelle gruppen (se tabell A).

Prøveserie:

Det minste antallet forskjellige prøver som kreves med tanke på validering, er 20 homogene negative kontrollprøver og 20 homogene positive kontrollprøver som inneholder mykotoksinet ved STC, og som er analysert under forhold med intermediær presisjon (RSD_{Ri}) spredt over fem forskjellige dager. Flere serier med 20 prøver som inneholder andre nivåer av mykotoksinet, kan legges til serien som inngår i valideringen, for å få kunnskap om i hvilken grad metoden kan skille mellom forskjellige mykotoksinkonsentrasjoner.

Konsentrasjon:

For hver STC som skal brukes rutinemessig, må det foretas en validering.

4.3.2.3.2. Innledende validering ved undersøkelser som foretas ved flere laboratorier

Validering ved undersøkelser som foretas ved flere laboratorier, skal utføres i samsvar med en internasjonalt anerkjent protokoll for dette (f.eks. ISO 5725:1994 eller IUPAC International Harmonised Protocol), der det kreves bruk av gyldige opplysninger fra minst åtte forskjellige laboratorier. Bortsett fra dette er den eneste forskjellen fra valideringer som foretas ved ett laboratorium, at de ≥ 20 prøvene per vare/nivå kan fordeles jevnt blant laboratoriene som deltar, med minst to prøver per laboratorium.

(1) Prøvene anses for ikke å inneholde analytt dersom mengden i prøven ikke overstiger 1/5 av STC. Dersom nivået kan mengdebestemmes med en bekreftelsesmetode, må det tas hensyn til dette nivået ved valideringsvurderingen.

4.3.2.4. Bestemmelse av grenseverdi og andelen falskt mistenkelige resultater av blindprøver

Den (relative) responsen fra de negative og positive kontrollprøvene brukes som grunnlag for beregning av de nødvendige parametrene.

Screeningmetoder med en respons som er proporsjonal med mykotoksinkonsentrasjonen

For screeningmetoder med en respons som er proporsjonal med mykotoksinkonsentrasjonen, gjelder følgende:

$$\text{Grenseverdi} = R_{STC} - t\text{-verdi}_{0,05} * SA_{STC}$$

R_{STC} = gjennomsnittlig respons fra de positive kontrollprøvene (ved STC)

t-verdi: ensidig t-verdi for en andel falskt negative resultater på 5 % (se tabell B)

SA_{STC} = standardavvik Screeningmetoder med en respons som er omvendt proporsjonal med mykotoksinkonsentrasjonen

For screeningmetoder med en respons som er omvendt proporsjonal med mykotoksinkonsentrasjonen, bestemmes grenseverdien på følgende måte:

$$\text{Grenseverdi} = R_{STC} + t\text{-verdi}_{0,05} * SA_{STC}$$

Ved å bruke denne særlige t-verdien for å fastsette grenseverdien fastsettes andelen falskt negative resultater som standard til 5 %.

Vurdering av egnethet for formålet

Resultatene fra de negative kontrollprøvene brukes til å anslå den tilsvarende andelen falskt mistenkelige resultater. T-verdien beregnes slik at den tilsvarer en situasjon der et resultat av en negativ kontrollprøve er høyere enn grenseverdien og dermed feilaktig klassifiseres som mistenkelig.

t-verdi = $(\text{grenseverdi} - \text{gjennomsnitt}_{\text{blindprøve}}) / SA_{\text{blindprøve}}$ for screeningmetoder med en respons som er proporsjonal med mykotoksinkonsentrasjonen

eller

t-verdi = $(\text{gjennomsnitt}_{\text{blindprøve}} - \text{grenseverdi}) / SA_{\text{blindprøve}}$ for screeningmetoder med en respons som er omvendt proporsjonal med mykotoksinkonsentrasjonen

Med utgangspunkt i den beregnede t-verdien, basert på frihetsgradene som beregnes ut fra antall eksperimenter, kan sannsynligheten for falskt mistenkelige prøver for en ensidig fordeling enten beregnes (f.eks. med regnearkfunksjonen «TDIST») eller hentes fra en tabell over t-fordeling.

Den tilsvarende verdien for den ensidige t-fordelingen angir andelen falskt mistenkelige resultater.

Dette er beskrevet nærmere med et eksempel i «Analytical and Bioanalytical Chemistry DOI 10.1007/s00216 -013-6922-1».

4.3.2.5. Utvidelse av metodens bruksområde

4.3.2.5.1. Utvidelse av bruksområde til andre mykotoksiner:

Når bruksområdet for en eksisterende screeningmetode utvides til andre mykotoksiner, kreves det en fullstendig validering for å dokumentere at metoden er egnet for formålet.

4.3.2.5.2. Utvidelse til andre varer:

Dersom det er kjent eller kan antas at screeningmetoden kan brukes på andre varer, må det kontrolleres at metoden er gyldig for andre varer. Dersom den nye varen tilhører en varegruppe (se tabell A) som det allerede er foretatt en innledende validering for, er det tilstrekkelig å foreta en begrenset tilleggsvalidering. Da skal minst 10 homogene negative kontrollprøver og 10 homogene positive kontrollprøver (ved STC) analyseres under forhold med intermedier presisjon. Alle positive kontrollprøver må være over grenseverdien. Dersom dette kriteriet ikke oppfylles, må det foretas en fullstendig validering.

4.3.2.6. Kontroll av metoder som allerede er validert, ved hjelp av undersøkelser som foretas ved flere laboratorier

Når det gjelder screeningmetoder som allerede er blitt validert ved en undersøkelse foretatt ved flere laboratorier, må metodens ytelse kontrolleres. Da skal minst 6 negative og 6 positive kontrollprøver (ved STC) analyseres. Alle positive kontrollprøver må være over grenseverdien. Dersom dette kriteriet ikke oppfylles, må laboratoriet utføre en omfattende årsaksanalyse for å fastslå hvorfor det ikke kan oppfylle spesifikasjonene oppnådd i undersøkelsen foretatt ved flere laboratorier. Først etter å ha truffet korrigerende tiltak skal laboratoriet på nytt kontrollere metodens ytelse på sitt laboratorium. Dersom laboratoriet ikke er i stand til å kontrollere resultatene fra undersøkelsen foretatt ved flere laboratorier, må det fastsette sin egen grenseverdi ved en fullstendig validering som foretas ved ett laboratorium.

4.3.2.7. Kontinuerlig kontroll / løpende validering av metode

Etter en innledende validering skal det innhentes ytterligere valideringsopplysninger ved å ta med minst to positive kontrollprøver i hvert parti av prøver som undersøkes. Den ene av de positive kontrollprøvene skal være en kjent prøve (f.eks. en prøve som brukes under den innledende valideringen), den andre skal være en annen vare fra samme varegruppe (dersom bare én vare analyseres, brukes en annen prøve av den aktuelle varen isteden). Det er frivillig å ta med en negativ kontrollprøve. Resultatene av de to positive kontrollprøvene legges til i det eksisterende valideringssettet.

Minst én gang i året må grenseverdien fastsettes og metodens gyldighet vurderes på nytt. Det er flere formål med den kontinuerlige kontrollen av metoden:

- Kvalitetskontroll av partiet av undersøkte prøver.
- Gi opplysninger om metodens robusthet ved forholdene som gjelder på laboratoriet som bruker metoden.
- Vise at metoden kan brukes på andre varer.
- Gjøre det mulig å justere grenseverdiene i tilfelle gradvise avvik over tid.

4.3.2.8. Valideringsrapport

Valideringsrapporten skal inneholde

- opplysninger om STC,
- opplysninger om den oppnådde grenseverdien.

Merk: Grenseverdien må ha samme antall signifikante tall som STC. Tallverdier som brukes til beregning av grenseverdien, må ha minst ett signifikant tall mer enn STC.

- Opplysninger om beregnet andel falskt mistenkelige prøver.
- Opplysninger om hvordan andelen falskt mistenkelige prøver ble generert.

Merk: Opplysningene om den beregnede andelen falskt mistenkelige prøver angir om metoden er egnet for formålet, ettersom de angir antall blindprøver (eller prøver med lavt forurensningsnivå) som skal kontrolleres.

Tabell A

Varegrupper for validering av screeningmetoder

| Varegrupper | Varekategorier | Representative varer i kategorien |
|------------------|---------------------------------|--|
| Høyt vanninnhold | Fruktjuicer | Eplejuice, druejuice |
| | Alkoholholdige drikker | Vin, øl, sider |
| | Rot- og knollvekster | Frisk ingefær |
| | Korn- eller fruktbaserte pureer | Pureer beregnet på spedbarn og småbarn |

| Varegrupper | Varekategorier | Representative varer i kategorien |
|---|---|--|
| Høyt oljeinnhold | Nøtter | Valnøtt, hasselnøtt, kastanje |
| | Oljeholdige frø og produkter framstilt av dette | Rapsfrø, solsikkefrø, bomullsfrø, soya-bønner, jordnøtter, sesamfrø osv. |
| | Oljeholdige frukter og produkter framstilt av dette | Oljer og masser (f.eks. peanøttsmør, tahini) |
| Høyt stivelse- og/eller proteininnhold og lavt vann- og fettinnhold | Kjerner av korn og produkter framstilt av dette | Hvete, rug, bygg, mais, ris, havre, fullkornbrød, hvitt brød, kjeks, frokostblandinger, pasta |
| | Produkter til bruk ved spesielle ernæringsmessige behov | Tørket pulver til tilberedning av mat til spedbarn og småbarn |
| Høyt syreinnhold og høyt vanninnhold(*) | Sitrusprodukter | |
| «Vanskelige eller unike varer»(**) | | Kakaobønner og produkter framstilt av dette, kopra og produkter framstilt av dette, kaffe, te, krydder, lakris |
| Høyt sukkerinnhold, lavt vanninnhold | Tørkede frukter | Fiken, rosiner, korinter, sultanarosiner |
| Melk og melkeprodukter | Melk | Melk fra ku geit og bøffel |
| | Ost | Ost fra ku og geit |
| | Melkeprodukter (f.eks. melkepulver) | Yoghurt, fløte |

(*) Dersom det brukes en buffer for å stabilisere pH-endringene i ekstraksjonsfasen, kan denne varegruppen innlemmes i varegruppen «Høyt vanninnhold».

(**) «Vanskelige og unike varer» bør bare gjennomgå en fullstendig validering dersom de analyseres ofte. Dersom de bare analyseres nå og da, kan valideringen reduseres til bare å omfatte kontroll av rapporteringsnivåene ved å bruke spikede blindekstrakter.

Tabell B

Ensidig t-verdi for en andel falskt negative resultater på 5 %

| Frihetsgrad | Antall replikater | t-verdi (5 %) |
|-------------|-------------------|---------------|
| 10 | 11 | 1 812 |
| 11 | 12 | 1 796 |
| 12 | 13 | 1 782 |
| 13 | 14 | 1 771 |
| 14 | 15 | 1 761 |
| 15 | 16 | 1 753 |
| 16 | 17 | 1 746 |
| 17 | 18 | 1,74 |
| 18 | 19 | 1 734 |

| Frihetsgrad | Antall replikater | t-verdi (5 %) |
|-------------|-------------------|---------------|
| 19 | 20 | 1 729 |
| 20 | 21 | 1 725 |
| 21 | 22 | 1 721 |
| 22 | 23 | 1 717 |
| 23 | 24 | 1 714 |
| 24 | 25 | 1 711 |
| 25 | 26 | 1 708 |
| 26 | 27 | 1 706 |
| 27 | 28 | 1 703 |
| 28 | 29 | 1 701 |
| 29 | 30 | 1 699 |
| 30 | 31 | 1 697 |
| 40 | 41 | 1 684 |
| 60 | 61 | 1 671 |
| 120 | 121 | 1 658 |
| ∞ | ∞ | 1 645 |

4.3.3. *Krav til kvalitative screeningmetoder (metoder som ikke genererer tallverdier)*

Forskjellige standardiseringsorganer (f.eks. AOAC, ISO) er i ferd med å utarbeide retningslinjer for validering av binære prøvingsmetoder. AOAC har nylig utarbeidet et utkast til retningslinjer for dette. Dette dokumentet kan anses som den nåværende tekniske status på dette området. Metoder som genererer binære resultater (f.eks. visuell kontroll av teststrimler), bør derfor valideres i henhold til disse retningslinjene.

http://www.aoac.org/imis15_prod/AOAC_Docs/ISPAM/Qual_Chem_Guideline_Final_Approved_031412.pdf

4.4. **Vurdering av måleusikkerhet, gjenfinningsberegning og resultatrapportering⁽¹⁾**

4.4.1. *Bekreftelsesmetoder*

Analyseresultatet må rapporteres som følger:

- Korrigert for gjenfinning, med angivelse av gjenfinningsgrad. Korreksjon for gjenfinning er ikke nødvendig når gjenfinningsgraden er på mellom 90 og 110 %.
- Som $x \pm U$, der x er analyseresultatet og U den utvidede måleusikkerheten, ved bruk av en dekningsfaktor på 2 som gir en konfidensgrad på ca. 95 %.

For næringsmidler av animalsk opprinnelse kan det også tas hensyn til måleusikkerheten ved å fastsette beslutningsgrensen ($CC\alpha$) i samsvar med kommisjonsvedtak 2002/657/EF⁽²⁾ (nr. 3.1.2.5. i vedlegg I – for stoffer som det er fastsatt en tillatt grense for).

Dersom analyseresultatet er vesentlig lavere (> 50 %) enn grenseverdien eller mye høyere enn grenseverdien (dvs. mer enn 5 ganger høyere enn grenseverdien), og forutsatt at hensiktsmessige kvalitetsprosedyrer er anvendt og analysen bare har som formål å kontrollere samsvar med lovbestemmelser, kan analyseresultatet likevel rapporteres uten korreksjon for gjenfinning, og rapportering av gjenfinningsgrad og måleusikkerhet kan i disse tilfellene utelates.

⁽¹⁾ Nærmere opplysninger om framgangsmåter for beregning av måleusikkerhet og for vurdering av gjenfinning er tilgjengelig i rapporten «Report on the relationship between analytical results, measurement uncertainty, recovery factors and the provisions of EU food and feed legislation» – http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/report-sampling_analysis_2004_en.pdf

⁽²⁾ Kommisjonsvedtak 2002/657/EF av 14. august 2002 om gjennomføring av rådsdirektiv 96/23/EF med hensyn til analysemetoders ytelse og tolking av resultater (EFT L 221 av 17.8.2002, s. 8).

De nåværende reglene for tolkning av analyseresultater med henblikk på godkjenning eller avvisning av partiet skal gjelde for analyseresultater av prøver som tas ved offentlig kontroll. Ved analyse for klageadgangs- og referanseformål gjelder nasjonale regler.

4.4.2. *Screeningmetoder*

Resultatet av screeningen skal oppgis som enten å være i samsvar med kravene eller som mistenkt for ikke å være i samsvar med kravene.

«Mistenkt for ikke å være i samsvar med kravene» betyr at prøven overstiger grenseverdien, og at prøvens mykotoksininnhold kan være høyere enn STC. Mistenkelige prøver må analyseres på nytt med en bekreftelsesanalyse for å sikre utvetydig identifisering og mengdebestemmelse av mykotoksinet.

«I samsvar med kravene» betyr at mykotoksininnholdet i prøven er < STC med en konfidensgrad på 95 % (dvs. at det er 5 % mulighet for at prøven feilrapporteres som negativ). Analyseresultatet rapporteres som «< STC-nivå» med en angivelse av STC-nivået.»
