

KOMMISSIONENS FORORDNING (EU) Nr. 519/2014**af 16. maj 2014****om ændring af forordning (EF) nr. 401/2006 for så vidt angår udtagning af prøver fra store partier, krydderier og kosttilskud, kriterier for pålideligheden af metoden for T-2-toksin, HT-2-toksin og citrinin samt screeningsanalysemetoder****(EØS-relevant tekst)**

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

under henvisning til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 882/2004 af 29. april 2004 om offentlig kontrol med henblik på verifikation af, at foderstof- og fødevarerlovgivningen samt dyresundheds- og dyrevelfærdsbestemmelserne overholdes ⁽¹⁾, særlig artikel 11, stk. 4, og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) Ved Kommissionens forordning (EF) nr. 1881/2006 ⁽²⁾ fastsættes der grænseværdier for visse mykotoksiner i visse fødevarer.
- (2) Prøveudtagning er afgørende for at kunne præcisere bestemmelsen af mykotoksinindholdet, som er uensartet fordelt i et parti. Det er derfor nødvendigt at fastsætte kriterier, som prøveudtagningsmetoderne skal opfylde.
- (3) Ved Kommissionens forordning (EF) nr. 401/2006 ⁽³⁾ fastsættes kriterierne for prøveudtagning til kontrol af indholdet af mykotoksiner.
- (4) Det er nødvendigt at ændre reglerne vedrørende udtagning af prøver fra krydderier for at tage hensyn til forskellene i partikelstørrelse, der fører til en uensartet fordeling af mykotoksinkontaminering i krydderier. Endvidere bør der fastsættes regler for udtagning af prøver fra store partier for at sikre en ensartet håndhævelse i hele Unionen. Ligeledes bør det præciseres, hvilken prøveudtagningsmetode der skal anvendes i forbindelse med udtagning af prøver af æblesaft.
- (5) Det er nødvendigt at ajourføre kriterierne for pålideligheden for metoden for T-2-toksin og HT-2-toksin for at tage højde for de videnskabelige og teknologiske fremskridt. Kriterierne for pålideligheden for metoden for citrinin bør fastsættes henset til grænseværdierne for citrinin i kosttilskud, der er baseret på ris fermenteret med rød gær *Monascus purpureus*.
- (6) I forbindelse med analysen af mykotoksiner anvendes i stigende grad screeningsmetoder. Der bør fastsættes kriterier, som skal overholdes i forbindelse med de screeningsmetoder, der anvendes i reguleringsøjemed.
- (7) Foranstaltningerne i denne forordning er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Komité for Fødevarer, Dyresundhed og Dyresundhed —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

Artikel 1

I forordning (EF) nr. 401/2006 foretages følgende ændringer:

1) I bilag I foretages følgende ændringer:

a) I del B affattes fodnote 1 således:

- »(1) Udtagning af prøver fra sådanne partier skal udføres i overensstemmelse med reglerne i del L. Vejledning om udtagning af prøver fra store partier fremgår af et dokument, der kan findes på følgende webadresse: <http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/guidance-sampling-final.pdf>

⁽¹⁾ EUT L 165 af 30.4.2004, s. 1.

⁽²⁾ Kommissionens forordning (EF) nr. 1881/2006 af 19. december 2006 om fastsættelse af grænseværdier for bestemte forurenende stoffer i fødevarer (EUT L 364 af 20.12.2006, s. 5).

⁽³⁾ Kommissionens forordning (EF) nr. 401/2006 af 23. februar 2006 om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af indholdet af mykotoksiner i fødevarer (EUT L 70 af 9.3.2006, s. 12).

Anvendelsen af reglerne for prøveudtagning i henhold til EN ISO 24333:2009 eller GAFTA's regler for prøveudtagning 124, som fødevarerivsomsledere anvender for at sikre, at bestemmelserne i lovgivningen overholdes, stemmer overens med reglerne for prøveudtagning i del L.

For så vidt angår udtagning af prøver fra partier af fusariumtoksiner stemmer anvendelsen af reglerne for prøveudtagning i henhold til EN ISO 24333:2009 eller GAFTA's regler for prøveudtagning 124, som fødevarerivsomsledere anvender for at sikre, at bestemmelserne i lovgivningen overholdes, overens med reglerne for prøveudtagning i del B.«

b) I del B.2 affattes tabel 1 således:

»Tabel 1

Opdeling af partier i delpartier afhængigt af produkt og partiets vægt

Produkt	Partiets vægt (ton)	Delpartiernes vægt eller antal	Antal enkeltprøver	Den samlede prøves vægt (kg)
Korn og kornprodukter	> 300 og < 1 500	3 delpartier	100	10
	≥ 50 og ≤ 300	100 ton	100	10
	< 50	—	3-100 (*)	1-10

(*) Afhængigt af partiets vægt — jf. tabel 2.«

c) I del B.3 indsættes følgende punktum i slutningen af første led:

»For så vidt angår partier > 500 ton er antallet af enkeltprøver anført i bilag I, del L.2.«

d) I del D.2 indsættes følgende punktum efter første punktum:

»Denne prøveudtagningsmetode anvendes også ved offentlig kontrol af de fastsatte grænseværdier for ochratoksin A, aflatoksin B1 og samlet aflatoksinindhold i krydderier med en relativ stor partikelstørrelse (partikelstørrelse som jordnødder eller større f.eks. muskatnød).«

e) I del E affattes første punktum således:

»Denne prøveudtagningsmetode anvendes ved offentlig kontrol af de fastsatte grænseværdier for ochratoksin A, aflatoksin B1 og samlet aflatoksinindhold i krydderier, bortset fra krydderier med en relativ stor partikelstørrelse (uensartet fordeling af mykotoksinkontaminering).«

f) I del I affattes overskriften og første punktum således:

I. METODE TIL UDTAGNING AF PRØVER AF ÆBLEPRODUKTER INDEHOLDENDE FRUGTKØD

Denne prøveudtagningsmetode anvendes ved offentlig kontrol af de fastsatte grænseværdier for patulin i æbleprodukter indeholdende frugtkød, herunder æbleprodukter indeholdende frugtkød bestemt til spædbørn og småbørn.«

g) I del I.1, stk. 2, udgår følgende punkttommer:

»For så vidt angår flydende produkter blandes partiet så grundigt som muligt, enten manuelt eller mekanisk, umiddelbart inden prøveudtagningen. I så fald kan det antages, at patulinet er fordelt ensartet i et givet parti, og det er derfor tilstrækkeligt at udtage tre enkeltprøver fra et parti, som tilsammen udgør den samlede prøve.«

h) De nye dele L og M, jf. bilag I til denne forordning, indsættes.

2) Bilag II, punkt 4.2 »Generelle krav«, punkt 4.3 »Særlige krav« og punkt 4.4 »Estimering af analyseusikkerhed, genfindingsberegning og indberetning af resultater« erstattes af teksten i bilag II til nærværende forordning.

Artikel 2

Denne forordning træder i kraft på tyvendedagen efter offentliggørelsen i *Den Europæiske Unions Tidende*.

Den anvendes fra den 1. juli 2014.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 16. maj 2014.

På Kommissionens vegne

José Manuel BARROSO

Formand

BILAG I

»L. PRØVEUDTAGNINGSMETODE FOR MEGET STORE PARTIER ELLER PARTIER, SOM OPBEVARES ELLER TRANSPORTERES PÅ EN MÅDE, SÅ PRØVEUDTAGNING I HELE PARTIET IKKE ER MULIG

L.1. **Generelle principper**

Hvis transporten eller opbevaringen af et parti forhindrer, at der kan udtages enkeltprøver i hele partiet, bør prøveudtagning af sådanne partier foretages, når partiet er i flow (dynamisk prøveudtagning).

I tilfælde af store lagerbygninger, der er bestemt til oplagring af fødevarer, opfordres virksomhedslederne til at installere udstyr i lagerbygningerne, der (automatisk) foretager prøveudtagning i hele det oplagrede parti.

Fødevarer virksomhedslederen eller dennes repræsentant informeres om prøveudtagningsproceduren, når der anvendes prøveudtagningsprocedurer, som fastsat i denne del L. Hvis fødevarer virksomhedslederen eller dennes repræsentant anfægter denne prøveudtagningsprocedure, skal fødevarer virksomhedslederen eller dennes repræsentant give den kompetente myndighed mulighed for at udtage prøver af hele det pågældende parti for vedkommendes egen regning.

Prøveudtagning fra en del af partiet er tilladt på den betingelse, at mængden af den del, der udtages prøver fra, udgør mindst 10 % af det parti, der skal udtages prøver fra. Hvis der er blevet udtaget en prøve fra en del af et fødevarerparti af samme klasse eller betegnelse, og det konstateres, at denne del ikke opfylder EU-kravene, antages det, at det samme gør sig gældende for hele partiet, medmindre en yderligere indgående undersøgelse viser, at der ikke er beviser for, at resten af partiet ikke opfylder kravene.

De relevante bestemmelser, som enkeltprøvens vægt, er anført i andre dele i dette bilag og anvendes til udtagning af prøver fra meget store partier eller partier, som opbevares eller transporteres på en sådan måde, at det ikke er muligt at udtage prøver af hele partiet.

L.2. **Antal enkeltprøver, der skal udtages i tilfælde af meget store partier**

I tilfælde af store partier, hvoraf der udtages prøver (> 500 ton), er antallet af enkeltprøver, der skal udtages = 100 enkeltprøver + kvadratroden af antal ton. Hvis partiet er mindre end 1 500 ton, og det kan opdeles i delpartier i henhold til tabel 1 i del B, og hvis delpartierne kan adskilles fysisk, skal der dog udtages det antal enkeltprøver, som er anført i del B.

L.3. **Store partier, som transporteres med skib**

L.3.1. *Dynamisk prøveudtagning af store partier, som transporteres med skib*

Prøveudtagning af store partier i skibe foretages bedst, mens produktet er i flow (dynamisk prøveudtagning).

Prøveudtagningen skal foretages pr. lastrum (enhed, der fysisk kan adskilles). Lastrummene tømmes dog delvis det ene efter det andet, hvorfor den oprindelige fysiske adskillelse ikke længere eksisterer, når overførslen til lagerfaciliteterne har fundet sted. Derfor kan prøveudtagningen foretages på baggrund af den oprindelige fysiske adskillelse eller på baggrund af adskillelsen efter overførslen til lagerfaciliteterne.

Losningen af et skib kan vare flere dage. Normalt gennemføres prøveudtagningen med regelmæssige mellemrum under hele losningens varighed. Det er dog ikke altid muligt eller hensigtsmæssigt, at en officiel inspektør er til stede under hele lossearbejdet, når der udtages prøver. Af den grund er det tilladt at foretage prøveudtagningen fra en del af partiet (parti, der er udtaget prøver af). Antallet af enkeltprøver bestemmes ud fra størrelsen på det parti, der er udtaget prøver af.

Selv om den officielle prøve udtages automatisk, skal der være en inspektør til stede. Såfremt den automatiske prøveudtagning gennemføres med forudindstillede parametre, som ikke kan ændres under prøveudtagningen, og enkeltprøverne indsamles i en plomberet beholder, som forhindrer eventuelt svig, er inspektørens tilstedeværelse kun nødvendig ved påbegyndelsen af prøveudtagningen, hver gang prøvebeholderen skal udskiftes og ved prøveudtagningens afslutning.

L.3.2. *Prøveudtagning af partier, som transporteres med skib ved statisk prøveudtagning*

Hvis prøveudtagningen udføres statisk, anvendes den samme fremgangsmåde som den, der gælder for lagerfaciliteter (siloe), som er tilgængelige ovenfra (jf. punkt L.5.1.).

Prøveudtagningen gennemføres på den tilgængelige del (ovenfra) af partiet/lastrummet. Antallet af enkeltprøver bestemmes ud fra størrelsen på det parti, der er udtaget prøver af.

L.4. Prøveudtagning af store partier, der er oplagret i lagerbygninger

Prøveudtagningen gennemføres på den tilgængelige del af partiet. Antallet af enkeltprøver bestemmes ud fra størrelsen på det parti, der er udtaget prøver af.

L.5. Prøveudtagning fra lagerfaciliteter (siloeer)**L.5.1. Prøveudtagning fra siloeer, som er (let) tilgængelige ovenfra**

Prøveudtagningen gennemføres på den tilgængelige del af partiet. Antallet af enkeltprøver bestemmes ud fra størrelsen på det parti, der er udtaget prøver af.

L.5.2. Prøveudtagning fra siloeer, som ikke er tilgængelige ovenfra (lukkede siloeer)**L.5.2.1. Siloeer, som ikke er tilgængelige ovenfra (lukkede siloeer) med en individuel størrelse på > 100 ton**

Der kan ikke udtages statiske prøver af fødevarer, der er oplagret i sådanne siloeer. Hvis der skal udtages prøver af fødevarer i en sådan silo, og det ikke er muligt at flytte partiet, træffes der aftale med virksomhedslederen om, at vedkommende informerer inspektøren, hvornår den pågældende silo helt eller delvis vil blive tømt, så der kan udtages prøver, mens fødevarerne er i flow.

L.5.2.2. Siloeer, som ikke er tilgængelige ovenfra (lukkede siloeer) med en individuel størrelse på < 100 ton

Modsat bestemmelsen i punkt L.1 (del, der udtages prøver fra, udgør mindst 10 %) indebærer prøveudtagningsproceduren, at fødevarerne overføres til en beholder med en størrelse på 50 til 100 kg, hvorfra prøven udtages. Størrelsen på den samlede prøve skal svare til hele partiet, og antallet af enkeltprøver skal beregnes ud fra mængden af fødevarer, som overføres fra siloen til beholderen med henblik på prøveudtagning.

L.6. Udtagning af prøver af ueballerede fødevarer i store lukkede beholdere

Der kan som regel kun udtages prøver af sådanne partier, når beholderne aflæsses. I visse tilfælde er det ikke muligt at aflæse beholderne på import- eller kontrolstedet, og prøveudtagningen bør derfor gennemføres, når disse beholdere aflæsses. Virksomhedslederen skal informere kontrolløren om det sted og tidspunkt, hvor beholderne aflæsses.

M. PRØVEUDTAGNINGSMETODE FOR KOSTTILSKUD, DER ER BASERET PÅ RIS FERMENTERET MED RØD GÆR *MONASCUS PURPUREUS*

Denne prøveudtagningsmetode anvendes ved offentlig kontrol af de fastsatte grænseværdier for citrinin i kosttilskud, der er baseret på ris fermenteret med rød gær *Monascus purpureus*.

Prøveudtagningsprocedure og prøvestørrelse

Prøveudtagningsproceduren anvendes ud fra den antagelse, at kosttilskud, der er baseret på ris fermenteret med rød gær *Monascus purpureus*, markedsføres i detailsalgspakninger, der normalt indeholder 30 til 120 kapsler pr. detailsalgspakning.

Partistørrelse (antal detailsalgspakninger)	Antal detailsalgspakninger, der skal udtages prøver fra	Prøvestørrelse
1-50	1	Alle kapsler
51-250	2	Alle kapsler
251-1 000	4	En halv kapsel fra hver detailsalgspakning, som der udtages prøve fra
> 1 000	4 + 1 detailsalgspakning pr. 1 000 detailsalgspakninger med maks. 25 detailsalgspakninger	≤ 10 detailsalgspakninger: En halv kapsel fra hver detailsalgspakning. > 10 detailsalgspakninger: Der udtages et lige antal kapsler fra hver detailsalgspakning, for at prøven kan sidestilles med 5 detailsalgspakningers indhold«

BILAG II

»4.2. **Generelle krav**

De verifikationsanalysemetoder, der anvendes ved fødevarerkontrol, skal opfylde kriterierne i punkt 1 og 2 i bilag III til forordning (EF) nr. 882/2004.

4.3. **Særlige krav**4.3.1. *Særlige krav til verifikationsmetoder*

4.3.1.1. Kriterier for pålideligheden af metoden

Det anbefales, at der anvendes fuldt validerede verifikationsmetoder (dvs. metoder valideret ved fællesafprøvnin g for relevante matrixer), hvis det er relevant, og hvis sådanne foreligger. Andre passende validerede verifi kationsmetoder (dvs. metoder, der er valideret internt på baggrund af relevante matrixer, der tilhører den rele vante varegruppe) kan også anvendes, såfremt de opfylder de kriterier for pålideligheden af metoden, der er anført i de følgende tabeller.

Ved valideringen af internt validerede metoder inddrages der om muligt certificeret referencemateriale.

a) Kriterier for pålideligheden af metoden for aflatoksiner

Kriterium	Koncentrationsinterval	Anbefalet værdi	Højest tilladte værdi
Blindprøver	Alle	Ubetydelig	—
Genfinding — aflatoksin M1	0,01-0,05 mg/kg	60 til 120 %	
	> 0,05 mg/kg	70 til 110 %	
Genfinding — aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	< 1,0 mg/kg	50 til 120 %	
	1-10 mg/kg	70 til 110 %	
	> 10 mg/kg	80 til 110 %	
Reproducerbarhed (RSD _R)	Alle	Som afledt af Horwitz-ligningen (*) (**)	2 × den værdi, der er afledt af Horwitz-ligningen (*) (**)

Repetierbarhed RSD_r kan beregnes som 0,66 gange reproducerbarhed RSD_R ved den relevante koncentration.

Bemærkning:

- Værdier skal gælde for både B₁ og summen af B₁ + B₂ + G₁ + G₂
- Hvis summen af de enkelte aflatoksiner B₁ + B₂ + G₁ + G₂ skal oplyses, skal hvert enkelt aflatoksins respons på analysemetoden være enten kendt eller ækvivalent.

b) Kriterier for pålideligheden for metoden for ochratoksin A

Indhold µg/kg	Ochratoksin A		
	RSD _r %	RSD _R %	Genfinding %
< 1	≤ 40	≤ 60	50 til 120
≥ 1	≤ 20	≤ 30	70 til 110

c) Kriterier for pålideligheden for metoden for patulin

Indhold µg/kg	Patulin		
	RSD _r %	RSD _R %	Genfinding %
< 20	≤ 30	≤ 40	50 til 120
20-50	≤ 20	≤ 30	70 til 105
> 50	≤ 15	≤ 25	75 til 105

d) Kriterier for pålideligheden for metoden for deoxynivalenol

Indhold µg/kg	Deoxynivalenol		
	RSD _r %	RSD _R %	Genfinding %
> 100-≤ 500	≤ 20	≤ 40	60 til 110
> 500	≤ 20	≤ 40	70 til 120

e) Kriterier for pålideligheden for metoden for zearalenon

Indhold µg/kg	Zearalenon		
	RSD _r %	RSD _R %	Genfinding %
≤ 50	≤ 40	≤ 50	60 til 120
> 50	≤ 25	≤ 40	70 til 120

f) Kriterier for pålideligheden for metoden for fumonisin B₁ og B₂ enkeltvis

Indhold µg/kg	Fumonisin B ₁ og B ₂ enkeltvis		
	RSD _r %	RSD _R %	Genfinding %
≤ 500	≤ 30	≤ 60	60 til 120
> 500	≤ 20	≤ 30	70 til 110

g) Kriterier for pålideligheden for metoden for T-2- og HT-2-toksin

Indhold µg/kg	T-2- og HT-2-toksin enkeltvis		
	RSD _r %	RSD _R %	Genfinding %
15-250	≤ 30	≤ 50	60 til 130
> 250	≤ 25	≤ 40	60 til 130

h) Kriterier for pålideligheden for metoden for citrinin

Indhold µg/kg	Citrinin			
	RSD _r %	Anbefalet RSD _R %	Maksimal tilladte RSD _R %	Genfinding %
Alle	0,66 × RSD _R	Som afledt af Horwitz-ligningen (*) (**)	2 × den værdi, der er afledt af Horwitz-ligningen (*) (**)	70 til 120

i) Bemærkninger til kriterierne for pålidelighed for metoden for mykotoksiner

- De anvendte metoders detektionsgrænser er ikke angivet, da præcisionsværdierne er oplyst ved de relevante koncentrationer.
- Præcisionsværdierne beregnes efter Horwitz-ligningen, særligt den oprindelige Horwitz-ligning (for koncentrationer $1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138$) (*) og den ændrede Horwitz-ligning (for koncentrationer $C < 1,2 \times 10^{-7}$) (**).

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

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

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

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

$$RSD_R = 22 \%$$

(ref.: M. Thompson, *Analyst*, 2000, 125, s. 385-386)

hvor:

— RSD_R er den relative standardafvigelse beregnet ud fra resultater, der er fremkommet under reproducerbarhedsforhold $[(sR)/C] \times 100$

— C er koncentrationsforholdet (dvs. 1 = 100 g/100 g, 0,001 = 1 000 mg/kg).

Dette er en generaliseret præcisionsligning, hvorom det er konstateret, at den er uafhængig af analyt og matrix og udelukkende afhænger af koncentrationen for de fleste rutineanalysemetoders vedkommende.

4.3.1.2. Egnethedsprincip

For internt validerede metoder kan der alternativt anvendes et egnethedsprincip (***) til at vurdere, om metoderne er egnede til offentlig kontrol. For at være egnede til offentlig kontrol skal en metode give resultater med en standardmåleusikkerhed (u), der er mindre end den maksimale standardmåleusikkerhed, som beregnes ved hjælp af følgende formel:

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

hvor:

- Uf er den maksimale standardmåleusikkerhed ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
- LOD er metodens detektionsgrænse ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
- α er en konstant numerisk faktor, der anvendes afhængigt af værdien af C. Det fremgår af tabellen nedenfor, hvilke værdier der skal anvendes
- C er den relevante koncentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

Hvis analysemetoden giver resultater med en analyseusikkerhed, der er mindre end den maksimale standardusikkerhed, antages metoden at svare til andre metoder, der opfylder de under punkt 4.3.1.1 anførte kriterier for pålideligheden af metoden.

Tabel

Numeriske værdier, der skal anvendes for α som konstant værdi i den under dette punkt anførte formel, afhængigt af den relevante koncentration

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

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

4.3.2. Særlige krav til semikvantitative screeningsmetoder

4.3.2.1. Anvendelsesområde

Anvendelsesområdet vedrører biolanalytiske metoder, der er baseret på immungenkendelse eller receptorbinding (som ELISA, teststrimler, analyseanordning baseret på lateral strømning, immunsensorer) og fysisk-kemiske metoder, der er baseret på kromatografi eller direkte påvisning ved massespektrometri (dvs. »ambient MS«). Andre metoder (dvs. tyndtlagskromatografi) er ikke udelukket, såfremt de frembragte signaler har direkte forbindelse med de gældende mykotoksiner og tillader, at det nedenfor beskrevne princip anvendes.

De specifikke krav gælder for metoder, hvor målingernes resultat er en numerisk værdi, f.eks. en (relativ) respons fra en aflæser af en teststrimmel, et signal fra LC-MS osv., og hvor normale statistikker anvendes.

Kravene gælder ikke for metoder, hvis resultater ikke er numeriske værdier (dvs. kun en synlig eller ikke synlig linje), og som kræver anden validering. Der er fastsat særlige krav for disse metoder i punkt 4.3.3.

I dette dokument beskrives valideringsprocedurerne for screeningsmetoder gennem en validering med deltagelse af flere laboratorier, kontrol af en metodes pålidelighed, der valideres ved deltagelse af flere laboratorier, og validering af en screeningsmetode på ét laboratorium.

4.3.2.2. Terminologi

Screeningens målkonzentration (STC): Den relevante koncentration for påvisning af mykotoksinet i en prøve. Når målet er at teste overensstemmelsen med forskrevne grænseværdier, svarer STC til den gældende grænseværdi. Til andre formål, eller såfremt der ikke er fastsat nogen grænseværdi, prædefinerer laboratoriet STC.

Screeningsmetode: Metode, der anvendes ved udvælgelse af prøver med et mykotoksinindhold, der med et vist konfidensniveau overstiger screeningens målkonzentration (STC). For så vidt angår mykotoksinscreening anses et konfidensniveau på 95 % for at være egnet. Resultatet af screeningsanalysen er enten »negativ« eller »mistænkt«. Screeningsmetoder giver mulighed for omkostningseffektivitet og høj produktivitet med hensyn til antallet af screenede prøver, hvilket forbedrer mulighederne for at opdage nye hændelser med høj eksponering og sundhedsrisici for forbrugerne. Disse metoder baseres på bioanalytiske metoder, LC-MS- eller HPLC-metoder. Resultater fra prøver, der overstiger afskæringsværdien, skal verificeres ved en fuldstændig fornyet analyse fra den originale prøve ved hjælp af en verifikationsmetode.

»Negativ prøve« betyder, at mykotoksinindholdet i prøven er $< \text{STC}$ med et konfidensniveau på 95 % (dvs. der er 5 % risiko for, at prøven fejlagtigt indberettes som negativ).

»Falsk negativ prøve« betyder, at mykotoksinindholdet i prøven er $> \text{STC}$, men at prøven er blevet identificeret som negativ.

»Mistænkt prøve« (positiv screening) betyder, at prøven overstiger afskæringsværdien (se nedenfor), og at mykotoksinniveauet kan være højere end STC. Ethvert mistænkt resultat udløser en verifikationsanalyse til utvetydig identifikation og kvantificering af mykotoksinet.

»Falsk mistænkt prøve« er en negativ prøve, der er blevet identificeret som mistænkt.

Ved »verifikationsmetoder« forstås metoder, der giver fuldstændige eller supplerende oplysninger, så mykotoksinet kan identificeres og kvantificeres entydigt på det relevante niveau.

Afskæringsværdi: Den respons, det signal eller den koncentration, som opnås ved screeningsmetoden, over hvilke prøven klassificeres som »mistænkt«. Afskæringen bestemmes ved valideringen og tager hensyn til målingens variabilitet.

Negativ kontrolprøve (blind-matrix): En prøve, som vides at være fri ⁽¹⁾ for det mykotoksin, som der screenes for, dvs. på baggrund af tidligere konstatering ved brug af en verifikationsmetode, der er tilstrækkelig følsom. Hvis der ikke kan indsamles nogen blindprøver, kan der muligvis anvendes materiale med det lavest tilgængelige niveau, så længe det på baggrund af niveauet er muligt at komme frem til den konklusion, at screeningsmetoden er egnet.

Positiv kontrolprøve: Prøve, der indeholder mykotoksinet på samme niveau som screeningens målkonzentration, f.eks. et certificeret referencemateriale, materiale med kendt indhold (f.eks. testmateriale fra præstationsprøvninger) eller på anden måde tilstrækkelig defineret af en verifikationsmetode. Hvis der ikke foreligger nogen af ovenstående, kan man anvende en blanding af prøver med forskellige kontaminationsniveauer eller en spiket prøve, der er fremstillet i et laboratorium, og som er tilstrækkelig defineret, såfremt det kan bevises, at kontaminationsniveauet er blevet verificeret.

4.3.2.3. Valideringsprocedure

Målet med valideringen er at vise screeningsmetodens egnethed. Dette sker ved at fastsætte afskæringsværdien og andelen af falsk negativ og falsk mistænkt. I disse to parametre indgår kvalitetskrav som følsomhed, selektivitet og præcision.

Screeningsmetoder kan valideres af flere laboratorier eller ét enkelt laboratorium. Hvis der allerede foreligger valideringsdata fra flere laboratorier for en vis kombination af mykotoksin/matrix/STC, er det tilstrækkeligt, at metodens pålidelighed kontrolleres i et laboratorium, der anvender metoden.

4.3.2.3.1. Første validering ved validering af ét enkelt laboratorium

Mykotoksiner:

Der skal udføres validering for hvert enkelt mykotoksin inden for anvendelsesområdet. I forbindelse med bioanalytiske metoder, der giver en kombineret respons for en vis mykotoksingruppe (dvs. aflatoksin B₁, B₂, G₁ & G₂, fumonisins B₁ & B₂), skal anvendeligheden bevises, og testens begrænsninger skal nævnes inden for metodens anvendelsesområde. Uønsket krydsreaktivitet (f.eks. DON-3-glycoside, 3- eller 15-acetyl-DON for immunbaserede metoder for DON) forventes ikke at øge andelen af falsk negativ for så vidt angår målmykotoksinerne men kan muligvis øge andelen af falsk mistænkt. Denne uønskede forøgelse mindskes ved verifikationsanalyse til utvetydig identifikation eller kvantificering af mykotoksinerne.

Matrixer:

Der bør gennemføres en indledende validering for hver enkel vare eller for hver varegruppe, hvis metoden vides at kunne anvendes på flere varer. I dette tilfælde udvælges der en repræsentativ og en relevant vare fra den gruppe (se tabel A).

Prøvesæt:

Det mindste antal af forskellige prøver, der kræves med henblik på validering, er 20 homogene negative kontrolprøver og 20 homogene positive kontrolprøver, der indeholder mykotoksinet i den STC, der er analyseret under intermediære præcisionsbetingelser (RSD_{Ri}) fordelt på 5 forskellige dage. Til valideringssættet kan der eventuelt tilføjes yderligere sæt bestående af 20 prøver, der indeholder mykotoksinet på andre niveauer, med henblik på at få kendskab til, i hvilket omfang metoden kan skelne mellem forskellige mykotoksinkonzentrationer.

Konzentration:

For hver STC, der anvendes i en rutinemæssig undersøgelse, skal der gennemføres en validering.

4.3.2.3.2. Indledende validering ved fællesafprøvning

Validering ved fællesafprøvning skal udføres i henhold til en international anerkendt protokol om fællesafprøvninger (f.eks. ISO 5725:1994 eller IUPAC International Harmonised Protocol), som forudsætter, at der inddrages gyldige data fra mindst otte forskellige laboratorier. Derudover er den eneste forskel sammenlignet med validering i ét enkelt laboratorium, at de ≥ 20 prøver pr. vare/indhold kan fordeles ligeligt mellem de deltagende laboratorier med mindst to prøver pr. laboratorium.

⁽¹⁾ Prøver anses for at være fri for analyt, hvis den samlede mængde i prøven ikke overstiger 1/5 af STC. Hvis niveauet kan bestemmes kvantitativt ved hjælp af en verifikationsmetode, skal niveauet tages i betragtning, når vurderingen valideres.

4.3.2.4. Fastlæggelse af afskæringsværdi og andelen af falsk mistænkte resultater i blindprøver

De (relative) responser fra de negative og positive kontrolprøver anvendes som grundlag for beregningen af de påkrævede parametre.

Screeningsmetoder med en respons proportional med mykotoksinkoncentrationen

For så vidt angår screeningsmetoder med en respons proportional med mykotoksinkoncentrationen gælder følgende:

$$\text{Afskæring} = R_{\text{STC}} - t\text{-værdi}_{0,05} * SD_{\text{STC}}$$

R_{STC} = respons fra de positive kontrolprøver (på STC-niveau)

t-værdi = ensidet t-værdi for en andel af falsk negative resultater på 5 % (se tabel B)

SD_{STC} = standardafvigelse Screeningsmetoder med en respons omvendt proportional med mykotoksinkoncentrationen

Lignende for screeningsmetoder med en respons omvendt proportional med mykotoksinkoncentrationen fastlægges afskæringen som:

$$\text{Afskæring} = R_{\text{STC}} + t\text{-værdi}_{0,05} * SD_{\text{STC}}$$

Ved at anvende denne specifikke t-værdi til at fastlægge afskæringsværdien er andelen af falsk negative resultater automatisk fastsat til 5 %.

Vurdering af egnethed

Resultater fra negative kontrolprøver anvendes til at skønne den tilsvarende andel af falsk mistænkte resultater. T-værdien beregnes svarende til det tilfælde, hvor et resultat af en negativ kontrolprøve ligger over afskæringsværdien, og således fejlagtigt klassificeret som mistænkt.

t-værdi = $(\text{afskæring} - \text{middelværdi}_{\text{blindprøve}}) / SD_{\text{blindprøve}}$ ved screeningsmetoder med en respons proportional med mykotoksinkoncentrationen

eller

t-værdi = $(\text{middelværdi}_{\text{blindprøve}} - \text{afskæring}) / SD_{\text{blindprøve}}$ ved screeningsmetoder med en respons omvendt proportional med mykotoksinkoncentrationen.

Fra den fremkomne t-værdi, baseret på frihedsgrader beregnet ud fra antal forsøg, kan sandsynligheden for falsk mistænkte prøver for så vidt angår ensidet fordeling enten beregnes (dvs. i form af regneark »TDIST«) eller tages fra en tabel over t-fordeling.

Den tilsvarende værdi for den ensidede t-fordeling specificerer andelen af falsk mistænkte resultater.

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

4.3.2.5. Udvidelse af metodens anvendelsesområde

4.3.2.5.1. Udvidelse af anvendelsesområdet til andre mykotoksiner

Når der tilføjes nye mykotoksiner til en eksisterende screeningsmetodes anvendelsesområde, er en fuldstændig validering påkrævet for at bevise metodens egnethed.

4.3.2.5.2. Udvidelse til andre varer

Hvis screeningsmetoden vides eller forventes at blive anvendt til andre varer, skal disse andre varers validitet verificeres. Så længe den nye vare tilhører en varegruppe (se tabel A), for hvilken der allerede er gennemført en indledende validering, er en begrænset supplerende validering tilstrækkelig. Hertil skal mindst 10 homogene negative og 10 homogene positive kontrolprøver (på STC-niveau) analyseres under intermediære præcisionsbetingelser. De positive kontrolprøver skal ligge over afskæringsværdien. Hvis dette kriterium ikke opfyldes, er en fuldstændig validering påkrævet.

4.3.2.6. Kontrol af metoder, der allerede er valideret ved fællesafprøvninger

For så vidt angår screeningsmetoder, der allerede er blevet valideret ved en fællesafprøvning i et laboratorium, skal pålideligheden valideres. Hertil skal mindst 6 negative og 6 positive kontrolprøver (på STC-niveau) analyseres. De positive kontrolprøver skal ligge over afskæringsværdien. Hvis dette kriterium ikke opfyldes, skal laboratoriet analysere de grundlæggende årsager med henblik på at fastslå, hvorfor det ikke kan opfylde de krav, der blev fastlagt i fællesafprøvningen. Kun når laboratoriet har truffet korrigerende foranstaltninger skal det igen verificere metodens pålidelighed i sit laboratorium. Hvis laboratoriet ikke kan verificere resultaterne fra fællesafprøvningen, skal det fastlægge sin egen afskæring ved en fuldstændig validering i ét enkelt laboratorium.

4.3.2.7. Kontinuerlig metodekontrol/løbende metodevalidering

Efter den indledende validering er yderligere valideringsdata nødvendige, idet der medtages mindst to positive kontrolprøver i hvert parti af screenede prøver. Den ene positive kontrolprøve er en kendt prøve (dvs. en, der er anvendt i den indledende validering), den anden omfatter en anden vare fra samme varegruppe (hvis kun én vare analyseres, anvendes en anden prøve af denne vare i stedet for). Det er valgfrit, om der medtages negative kontrolprøver. Resultaterne fra de to positive kontrolprøver føjes til det eksisterende valideringssæt.

Mindst én gang årligt fastlægges afskæringsværdien på ny, og metodens gyldighed revurderes. Den kontinuerlige metodekontrol tjener flere formål:

- kvalitetskontrol af partiet af screenede prøver
- formidling af oplysninger om metodens robusthed i henhold til det laboratories betingelser, der anvender metoden
- begrundelse for at anvende metoden på andre varer
- mulighed for at justere afskæringsværdier i tilfælde af gradvise afvigelse i tidens løb.

4.3.2.8. Valideringsrapport

Valideringsrapporten skal indeholde:

- Angivelse af STC
- Angivelse af den fastlagte afskæring

Bemærk: Afskæringen skal have samme antal betydende cifre som STC. Numeriske værdier, der anvendes til at beregne afskæringen, skal have mindst ét betydende ciffer mere end STC.

- Angivelse af den beregnede andel af falsk mistænkt
- Angivelse af, hvordan andelen af falsk mistænkt er fremkommet.

Bemærk: Angivelsen af den beregnede andel af falsk mistænkt indikerer, om metoden er egnet, da den indikerer antallet af blinde (eller ringe kontaminerede) prøver, som verificeres.

Skema A

Varegruppe til valideringen af screeningsmetoder

Varegrupper	Varekategorier	Typiske repræsentative varer i kategorien
Højt vandindhold	Frugtsaft	Æblesaft, druesaft
	Alkoholholdige drikkevarer	Vin, øl, cider
	Rod- og knoldgrøntsager	Frisk ingefær
	Puré baseret på korn eller frugt	Puré til spædbørn eller småbørn

Varegrupper	Varekategorier	Typiske repræsentative varer i kategorien
Højt olieindhold	Trænødder	Valnød, hasselnød, kastanje
	Olieholdige frø og produkter heraf	Rapsfrø, solsikkefrø, bomuldsfrø, sojabønner, jordnødder, sesam osv.
	Olieholdige frugter og produkter heraf	Olier og pasta (dvs. jordnøddesmør, tahin)
Højt indhold af stivelse og/eller proteiner og lavt indhold af vand og fedt	Kerner af korn og produkter heraf	Hvede, rug, byg, majs, ris, havre Fuldkornsbrød, hvedebrød, kiks, morgenmadscerealier, pasta
	Diætetiske produkter	Pulver til forberedelse af mad til spædbørn eller småbørn
Højt syreindhold og højt vandindhold (*)	Citrusprodukter	
»Vanskelige eller unikke varer« (**)		Kakaobønner og produkter heraf, kopra og produkter heraf kaffe, te Krydderier, lakrids
Højt sukkerindhold, lavt vandindhold	Tørrede frugter	Figner, rosiner, korender, sultanas
Mælk og mejeriprodukter	Mælk	Ko-, gede- og bøffelmealk
	Ost	Ko-, gedeost
	Mejeriprodukter (f.eks. mælkepulver)	Yoghurt, fløde

(*) Hvis der anvendes en buffer til at stabilisere pH-værdien i forbindelse med ekstraktion, kan denne varegruppe lægges sammen med én varegruppe »Højt vandindhold«.

(**) »Vanskelige eller unikke varer« bør kun valideres fuldstændigt, hvis de analyseres jævnlige. Hvis de kun analyseres lejlighedsvis, kan valideringen indskrænkes til kun at undersøge indberetningsniveauet ved at anvende spikede blindmatrixer.

Tabel B

Ensidet t-værdi for en falsk negativ andel på 5 %

Frihedsgrad	Antal replikater	t-værdi (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

Frihedsgrad	Antal replikater	t-værdi (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 for kvalitative screeningsmetoder (metoder, hvis resultater ikke er numeriske værdier)*

Udviklingen af valideringsretningslinjerne for binære testmetoder er på nuværende tidspunkt underlagt forskellige standardiseringsorganer (dvs. AOAC, ISO). AOAC har for nylig udfærdiget et udkast til retningslinjer i denne sag. Dette dokument kan betragtes som værende den seneste udvikling inden for dets område. Af den grund bør metoder med binære resultater (dvs. visuel inspektion af teststrimler) valideres i henhold til denne retningslinje.

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

4.4. **Estimering af måleusikkerhed, genfindingsberegning og indberetning af resultater ⁽¹⁾**

4.4.1. *Verifikationsmetoder*

Analyseresultatet skal indberettes som følger:

- Ved korrigeret genfinding angives genfindingsprocenten. Ved en genfindingsprocent på 90-110 % er korrigeret genfinding ikke påkrævet
- Som »x +/- U«, hvor x er analyseresultatet og U er den ekspanderede måleusikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %.

For animalske fødevarer kan der tages hensyn til måleusikkerheden ved at fastlægge beslutningsgrænsen (CCa) i overensstemmelse med Kommissionens beslutning 2002/657/EF ⁽²⁾ (punkt 3.1.2.5 i bilag I — for stoffer, for hvilke der er fastsat et tilladt niveau).

Hvis resultatet af analysen dog er væsentligt (> 50 %) lavere end grænseværdien eller meget højere end grænseværdien (dvs. mere end 5 gange større end grænseværdien), og på den betingelse at der anvendes tilfredsstillende kvalitetsprocedurer, og hvis analysen udelukkende har til formål at kontrollere, at gældende lovgivning er overholdt, kan analyseresultatet indberettes ikke korrigeret for genfinding, ligesom det i sådanne tilfælde kan undlades at indberette genfindingsprocent og måleusikkerhed.

⁽¹⁾ En nærmere beskrivelse af metoder til estimering af måleusikkerhed og procedurer for vurdering af genfinding findes 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⁾ Kommissionens beslutning 2002/657/EF af 14. august 2002 om gennemførelsesbestemmelser til Rådets direktiv 96/23/EF for så vidt angår analysemetoders ydeevne og fortolkning af resultater (EFT L 221 af 17.8.2002, s. 8).

Disse fortolkningsregler gælder for analyseresultater af prøver udtaget ved offentlig kontrol med henblik på godkendelse eller afvisning af et parti. For analyser til beskyttelse eller til referenceformål anvendes nationale regler.

4.4.2. *Screeningsmetoder*

Resultatet af screeningen udtrykkes som værende overensstemmende eller som mistænkt for at være ikke-overensstemmende.

»Mistænkt for at være ikke-overensstemmende« betyder, at prøven overstiger afskæringsværdien og kan indeholde et højere mykotoksinniveau end STC. Et hvert mistænkt resultat udløser en verifikationsanalyse til utvetydig identifikation og kvantificering af mykotoksin.

»Overensstemmende« betyder, at mykotoksinindholdet i prøven er < STC med et konfidensniveau på 95 % (dvs. der er 5 % risiko for, at prøven fejlagtigt indberettes som negativ). Analyseresultatet indberettes som »< STC-niveau« med angivelse af STC-niveauet.«
