

VERORDENING (EU) Nr. 519/2014 VAN DE COMMISSIE

van 16 mei 2014

tot wijziging van Verordening (EG) nr. 401/2006 wat betreft de bemonsteringswijzen voor grote partijen, specerijen en voedingssupplementen, prestatiecriteria voor T-2- en HT-2-toxine en citrinine, en screeningsmethoden

(Voor de EER relevante tekst)

DE EUROPESE COMMISSIE,

Gezien het Verdrag betreffende de werking van de Europese Unie,

Gezien Verordening (EG) nr. 882/2004 van het Europees Parlement en de Raad van 29 april 2004 inzake officiële controles op de naleving van de wetgeving inzake diervoeders en levensmiddelen en de voorschriften inzake diergezondheid en dierenwelzijn ⁽¹⁾, en met name artikel 11, lid 4,

Overwegende hetgeen volgt:

- (1) Bij Verordening (EG) nr. 1881/2006 van de Commissie ⁽²⁾ zijn maximumgehalten aan bepaalde mycotoxinen in levensmiddelen vastgesteld.
- (2) Bemonstering is zeer belangrijk om de gehalten aan mycotoxinen, die ongelijkmatig over de partij verdeeld zijn, op betrouwbare wijze te kunnen bepalen. Daarom moeten voor de bemonsteringswijzen algemene criteria worden vastgesteld.
- (3) Bij Verordening (EG) nr. 401/2006 van de Commissie ⁽³⁾ zijn de criteria voor de bemonstering voor de controle op de mycotoxinegehalten vastgesteld.
- (4) De regels voor de bemonstering van specerijen moeten worden gewijzigd om rekening te houden met de verschillen in deeltjesgrootte, die leiden tot ongelijkmatige verdeling van de verontreiniging met mycotoxinen in specerijen. Verder is het passend regels vast te stellen voor de bemonstering van grote partijen met het oog op een uniforme handhaving in de hele Unie. Ook is het passend te verduidelijken welke bemonsteringswijze moet worden gebruikt voor appelsap.
- (5) De prestatiecriteria voor T-2- en HT-2-toxine moeten worden bijgewerkt in verband met de wetenschappelijke en technologische vooruitgang. Er moeten prestatiecriteria voor citrinine worden vastgesteld in het licht van het vastgestelde maximumgehalte aan citrinine in voedingssupplementen op basis van met rode gist *Monascus purpureus* gefermenteerde rijst.
- (6) Voor de analyse van mycotoxinen worden steeds vaker screeningsmethoden gebruikt. Het is passend vast te stellen aan welke criteria de screeningsmethoden moeten voldoen om voor regelgevende doeleinden te worden gebruikt.
- (7) De in de deze verordening vervatte maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Permanent Comité voor de voedselketen en de diergezondheid,

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

Artikel 1

Verordening (EG) nr. 401/2006 wordt als volgt gewijzigd:

1) Bijlage I wordt als volgt gewijzigd:

a) in punt B wordt voetnoot 1 vervangen door:

„(1) De bemonstering van dergelijke partijen gebeurt volgens de regels in punt L. Voor de bemonstering van grote partijen is een leidraad beschikbaar op <http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/guidance-sampling-final.pdf>

⁽¹⁾ PB L 165 van 30.4.2004, blz. 1.

⁽²⁾ Verordening (EG) nr. 1881/2006 van de Commissie van 19 december 2006 tot vaststelling van de maximumgehalten aan bepaalde verontreinigingen in levensmiddelen (PB L 364 van 20.12.2006, blz. 5).

⁽³⁾ Verordening (EG) nr. 401/2006 van de Commissie van 23 februari 2006 tot vaststelling van bemonsteringswijzen en analysemethoden voor de officiële controle op het mycotoxinegehalte in levensmiddelen (PB L 70 van 9.3.2006, blz. 12).

Door exploitanten van levensmiddelenbedrijven met het oog op naleving van wettelijke bepalingen toegepaste bemonsteringsregels die overeenstemmen met EN ISO 24333:2009 of met de Gafta-bemonsteringsregels (Gafta nr. 124), zijn gelijkwaardig aan de bemonsteringsregels in punt L.

Voor de controle op *Fusarium*-toxinen zijn door exploitanten van levensmiddelenbedrijven met het oog op naleving van wettelijke bepalingen toegepaste bemonsteringsregels die overeenstemmen met EN ISO 24333:2009 of met de Gafta-bemonsteringsregels (Gafta nr. 124), gelijkwaardig aan de bemonsteringsregels in punt B.”;

- b) in punt B.2 wordt tabel 1 vervangen door de volgende tabel:

„Tabel 1

Verdeling van partijen in subpartijen naargelang van het product en het gewicht van de partij

Product	Gewicht van de partij (ton)	Gewicht van de subpartijen of aantal subpartijen	Aantal basisonsters	Gewicht verzamelmonster (kg)
Granen en graanproducten	> 300 en < 1 500	3 subpartijen	100	10
	≥ 50 en ≤ 300	100 ton	100	10
	< 50	—	3-100 (*)	1-10

(*) Afhankelijk van het gewicht van de partij — zie tabel 2.”;

- c) aan punt B.3, eerste streepje, wordt de volgende zin toegevoegd:

„Voor partijen > 500 ton is het aantal basisonsters vastgelegd in punt L.2 van deze bijlage.”;

- d) in punt D.2 wordt na de eerste zin de volgende zin toegevoegd:

„Deze bemonsteringswijze geldt ook voor de officiële controle op de maximumgehalten aan ochratoxine A, aflatoxine B1 en aflatoxinen totaal in specerijen met relatief grote deeltjes (deeltjesgrootte vergelijkbaar met pinda's of groter, bv. nootmuskaat).”;

- e) in punt E wordt de eerste zin vervangen door:

„Deze bemonsteringswijze geldt voor de officiële controle op de maximumgehalten aan ochratoxine A, aflatoxine B1 en aflatoxinen totaal in specerijen, met uitzondering van specerijen met relatief grote deeltjes (ongelijkmatige verdeling van de verontreiniging met mycotoxinen).”;

- f) in punt I worden de titel en de eerste zin vervangen door:

„I. BEMONSTERINGSWIJZE VOOR VASTE APPELPRODUCTEN

Deze bemonsteringswijze geldt voor de officiële controle op het maximumgehalte aan patuline in vaste appelproducten, met inbegrip van vaste appelproducten voor zuigelingen en peuters.”;

- g) in punt I.1, tweede alinea, worden de volgende zinnen geschrapt:

„In geval van vloeibare producten moet de partij voor zover mogelijk net vóór de bemonstering goed worden gemengd, hetzij handmatig, hetzij mechanisch. In dat geval kan worden verondersteld dat de patuline homogeen over de partij is verdeeld. Drie basisonsters van een partij zijn daarom voldoende om het verzamelmonster te vormen.”;

- h) er worden nieuwe punten L en M, als opgenomen in bijlage I bij deze verordening, toegevoegd.

2. In bijlage II worden de punten 4.2 „Algemene voorschriften”, 4.3 „Specifieke voorschriften” en 4.4 „Schatting van de meetonzekerheid, berekening van het terugvindingspercentage en rapportage van de resultaten” vervangen door de tekst in bijlage II bij deze verordening.

Artikel 2

Deze verordening treedt in werking op de twintigste dag na die van de bekendmaking ervan in het *Publicatieblad van de Europese Unie*.

Zij is van toepassing met ingang van 1 juli 2014.

Deze verordening is verbindend in al haar onderdelen en is rechtstreeks toepasselijk in elke lidstaat.

Gedaan te Brussel, 16 mei 2014.

Voor de Commissie
De voorzitter
José Manuel BARROSO

BIJLAGE I

„L. BEMONSTERINGSWIJZE VOOR ZEER GROTE PARTIJEN OF PARTIJEN DIE WORDEN OPGESLAGEN OF VERVOERD OP EEN WIJZE DIE BEMONSTERING VAN DE HELE PARTIJ ONMOGELIJK MAAKT

L.1. **Algemene beginselen**

Indien de wijze van vervoer of opslag het onmogelijk maakt om basismonsters van de hele partij te nemen, moet de bemonstering ervan bij voorkeur gebeuren wanneer de partij in beweging is (dynamische bemonstering).

Bij grote pakhuisen die bestemd zijn voor de opslag van levensmiddelen moeten de exploitanten worden aangehouden om in het pakhuis apparatuur te installeren die een (automatische) bemonstering van de hele opgeslagen partij mogelijk maakt.

Bij toepassing van de bemonsteringsprocedures als bedoeld in dit deel L moet de exploitant van het levensmiddelenbedrijf of zijn vertegenwoordiger in kennis worden gesteld van de bemonsteringsprocedure. Als de bemonsteringsmethode wordt betwist door de exploitant van het levensmiddelenbedrijf of zijn vertegenwoordiger, stelt deze exploitant of zijn vertegenwoordiger de bevoegde autoriteit in staat de gehele partij te bemonsteren op zijn/haar eigen kosten.

Bemonstering van een deel van de partij is toegestaan, op voorwaarde dat het bemonsterde deel ten minste 10 % van de te bemonsteren partij bedraagt. Als een deel van een partij levensmiddelen van dezelfde klasse of omschrijving is bemonsterd en is vastgesteld dat het niet aan de voorschriften van de Unie voldoet, wordt aangenomen dat dit ook voor de hele partij geldt, tenzij uit uitvoerig nader onderzoek blijkt dat er geen bewijs is dat de rest van de partij niet aan de voorschriften voldoet.

De desbetreffende bepalingen, zoals het gewicht van het basismonster, in de overige punten van deze bijlage zijn ook van toepassing op de bemonstering van zeer grote partijen of partijen die worden opgeslagen of vervoerd op een wijze die bemonstering van de hele partij onmogelijk maakt.

L.2. **Aantal te nemen basismonsters in het geval van zeer grote partijen**

In het geval van grote bemonsterde delen van partijen (bemonsterde delen van partijen > 500 ton), is het aantal te nemen basismonsters gelijk aan 100 basismonsters + $\sqrt{\text{ton}}$. In geval de partij minder dan 1 500 ton bedraagt en kan worden onderverdeeld in subpartijen overeenkomstig tabel 1 van punt B, en op voorwaarde dat de subpartijen fysiek van elkaar kunnen worden gescheiden, moet echter het aantal basismonsters zoals vastgesteld in punt B worden genomen.

L.3. **Grote partijen die vervoerd worden per schip**

L.3.1. *Dynamische bemonstering van grote partijen die vervoerd worden per schip*

De bemonstering van grote partijen in schepen wordt bij voorkeur uitgevoerd terwijl het product in beweging is (dynamische bemonstering).

De bemonstering wordt gedaan per ruim (eenheid die fysiek kan worden gescheiden). De ruimen worden echter een voor een gedeeltelijk gelost, zodat de oorspronkelijke fysieke scheiding na overbrenging in de opslaginstallaties niet meer bestaat. Daarom kan de bemonstering worden verricht op basis van de oorspronkelijke fysieke scheiding of van de scheiding na overbrenging in de opslaginstallaties.

Het lossen van een schip kan een aantal dagen in beslag nemen. Doorgaans moet de bemonstering worden verricht op gezette tijden tijdens de gehele duur van het lossen. Het is voor een officiële inspecteur echter niet altijd mogelijk of wenselijk om gedurende de gehele lossing aanwezig te zijn voor de bemonstering. Daarom is het toegestaan dat een deel van de partij wordt bemonsterd (bemonsterd deel van de partij). Het aantal basismonsters wordt bepaald aan de hand van de grootte van het bemonsterde deel van de partij.

Zelfs als het officiële monster automatisch wordt genomen, is de aanwezigheid van een inspecteur noodzakelijk. Als de automatische bemonstering gebeurt met vaste parameters die tijdens de bemonstering niet kunnen worden gewijzigd en de basismonsters worden verzameld in een verzegelde recipiënt, waardoor iedere mogelijke fraude wordt uitgesloten, is de aanwezigheid van een inspecteur echter alleen verplicht bij het begin van de bemonstering, telkens wanneer de recipiënt van de monsters moet worden vervangen en aan het einde van de bemonstering.

L.3.2. *Bemonstering van partijen die vervoerd worden per schip door statische bemonstering*

In gevallen waarin de bemonstering op statische wijze gebeurt, moet dezelfde procedure als die voor van bovenaf toegankelijke opslaginstallaties (silo's) worden toegepast (zie punt L.5.1).

De bemonstering moet worden verricht op het (van boven) toegankelijke deel van de partij/het ruim. Het aantal basismonsters wordt bepaald aan de hand van de grootte van het bemonsterde deel van de partij.

L.4. Bemonstering van grote partijen in pakhuizen

De bemonstering moet worden verricht op het toegankelijke deel van de partij. Het aantal basisonsters wordt bepaald aan de hand van de grootte van het bemonsterde deel van de partij.

L.5. Bemonstering van opslaginstallaties (silo's)**L.5.1. Bemonstering van silo's die (gemakkelijk) van bovenaf toegankelijk zijn**

De bemonstering moet worden verricht op het toegankelijke deel van de partij. Het aantal basisonsters wordt bepaald aan de hand van de grootte van het bemonsterde deel van de partij.

L.5.2. Bemonstering van silo's die niet van bovenaf toegankelijk zijn (afgesloten silo's)**L.5.2.1. Silo's die niet van bovenaf toegankelijk zijn (afgesloten silo's) met een capaciteit per silo van > 100 ton**

Levensmiddelen die in dergelijke silo's zijn opgeslagen, kunnen niet statisch bemonsterd worden. Daarom moet, indien de levensmiddelen in de silo moeten worden bemonsterd en er geen mogelijkheid is om de zending te verplaatsen, met de exploitant worden overeengekomen dat hij of zij de inspecteur mededeelt wanneer de silo gedeeltelijk of in zijn geheel wordt gelost, zodat de levensmiddelen kunnen worden bemonsterd terwijl zij in beweging zijn.

L.5.2.2. Silo's die niet van bovenaf toegankelijk zijn (afgesloten silo's) met een capaciteit per silo van < 100 ton

In tegenstelling tot hetgeen in punt L.1 is bepaald (bemonsterd deel bedraagt ten minste 10 %), bestaat de bemonsteringsprocedure uit het vullen van een recipiënt met 50 à 100 kg en de bemonstering ervan. De grootte van het verzamelmonster komt overeen met de hele partij en het aantal basisonsters staat in verhouding tot de hoeveelheid levensmiddelen uit de silo die in een recipiënt is gestort voor bemonstering.

L.6. Bemonstering van onverpakte levensmiddelen in grote gesloten containers

Dergelijke zendingen kunnen vaak alleen worden bemonsterd tijdens het lossen. In bepaalde gevallen is het niet mogelijk om te lossen op de plaats van invoer of controle en moet de bemonstering derhalve plaatsvinden wanneer de containers worden gelost. De exploitant moet de inspecteur op de hoogte stellen van de plaats en tijd van het lossen van de containers.

M. BEMONSTERINGSWIJZE VOOR VOEDINGSSUPPLEMENTEN OP BASIS VAN MET RODE GIST *MONASCUS PURPUREUS* GEFERMENTEERDE RIJST

Deze bemonsteringswijze geldt voor de officiële controle op het maximumgehalte aan citrinine in voedingssupplementen op basis van met rode gist *Monascus purpureus* gefermenteerde rijst.

Bemonsteringsprocedure en grootte van het monster

De bemonsteringsprocedure gaat uit van de veronderstelling dat de voedingssupplementen op basis van met rode gist *Monascus purpureus* gefermenteerde rijst in de handel worden gebracht in detailverpakkingen met doorgaans 30 à 120 capsules per detailverpakking.

Omvang van de partij (aantal detailverpakkingen)	Aantal als monster te nemen detailverpakkingen	Grootte van het monster
1-50	1	Alle capsules
51-250	2	Alle capsules
251-1 000	4	De helft van de capsules uit elk van de als monster genomen detailverpakkingen
> 1 000	4 + 1 detailverpakking per 1 000 detailverpakkingen, met een maximum van 25 detailverpakkingen	≤ 10 detailverpakkingen: de helft van de capsules uit elk van de detailverpakkingen > 10 detailverpakkingen: uit elk van de detailverpakkingen wordt eenzelfde aantal capsules genomen zodat het monster equivalent is aan de inhoud van 5 detailverpakkingen"

BIJLAGE II

„4.2. Algemene voorschriften

De bevestigingsmethoden voor de controle op levensmiddelen moeten voldoen aan de bepalingen van de punten 1 en 2 van bijlage III bij Verordening (EG) nr. 882/2004.

4.3. Specifieke voorschriften

4.3.1. Specifieke voorschriften voor bevestigingsmethoden

4.3.1.1. Prestatiecriteria

Aanbevolen wordt om, indien passend en beschikbaar, volledig gevalideerde bevestigingsmethoden (d.w.z. methoden die door middel van een ringonderzoek zijn gevalideerd voor de desbetreffende matrices) te gebruiken. Andere geschikte gevalideerde bevestigingsmethoden (bv. methoden die intern zijn gevalideerd voor relevante matrices die behoren tot de desbetreffende productgroep) mogen ook worden gebruikt, mits zij aan de in de volgende tabellen vermelde prestatiecriteria voldoen.

Zo mogelijk moet de validering van intern gevalideerde methoden gecertificeerd referentiemateriaal omvatten.

a) Prestatiecriteria voor aflatoxinen

Criterium	Concentratiebereik	Aanbevolen waarde	Maximale toegestane waarde
Blanco's	Alle	Verwaarloosbaar	—
Terugvindingspercentage — aflatoxine M1	0,01-0,05 µg/kg	60 t/m 120 %	
	> 0,05 µg/kg	70 t/m 110 %	
Terugvindingspercentage — aflatoxine B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	< 1,0 µg/kg	50 t/m 120 %	
	1-10 µg/kg	70 t/m 110 %	
	> 10 µg/kg	80 t/m 110 %	
Reproduceerbaarheid RSD _R	Alle	Zoals afgeleid met vergelijking van Horwitz (*)(**)	2 × waarde afgeleid met vergelijking van Horwitz (*)(**)

De herhaalbaarheid RSD_r kan worden berekend als 0,66 × de reproduceerbaarheid RSD_R bij de desbetreffende concentratie.

Opmerking:

- De waarden gelden zowel voor B₁ als voor de som van B₁, B₂, G₁ en G₂.
- Als de som van de concentraties van de afzonderlijke aflatoxinen B₁, B₂, G₁ en G₂ moet worden geregistreerd, moet voor elk van die soorten aflatoxinen bekend zijn welk terugvindingspercentage de gebruikte analysemethode oplevert, of moeten de terugvindingspercentages van die soorten equivalent zijn.

b) Prestatiecriteria voor ochratoxine A

Gehalte µg/kg	Ochratoxine A		
	RSD _r %	RSD _R %	Terugvindingspercentage (%)
< 1	≤ 40	≤ 60	50 t/m 120
≥ 1	≤ 20	≤ 30	70 t/m 110

c) Prestatiecriteria voor patuline

Gehalte µg/kg	Patuline		
	RSD _f %	RSD _R %	Terugvindingspercentage (%)
< 20	≤ 30	≤ 40	50 t/m 120
20 — 50	≤ 20	≤ 30	70 t/m 105
> 50	≤ 15	≤ 25	75 t/m 105

d) Prestatiecriteria voor deoxynivalenol

Gehalte µg/kg	Deoxynivalenol		
	RSD _f %	RSD _R %	Terugvindingspercentage (%)
> 100 — ≤ 500	≤ 20	≤ 40	60 t/m 110
> 500	≤ 20	≤ 40	70 t/m 120

e) Prestatiecriteria voor zearalenon

Gehalte µg/kg	Zearalenon		
	RSD _f %	RSD _R %	Terugvindingspercentage (%)
≤ 50	≤ 40	≤ 50	60 t/m 120
> 50	≤ 25	≤ 40	70 t/m 120

f) Prestatiecriteria voor fumonisine B₁ en B₂ afzonderlijk

Gehalte µg/kg	Fumonisine B ₁ en B ₂ afzonderlijk		
	RSD _f %	RSD _R %	Terugvindingspercentage (%)
≤ 500	≤ 30	≤ 60	60 t/m 120
> 500	≤ 20	≤ 30	70 t/m 110

g) Prestatiecriteria voor T-2- en HT-2-toxine afzonderlijk

Gehalte µg/kg	T-2- en HT-2-toxine afzonderlijk		
	RSD _f %	RSD _R %	Terugvindingspercentage (%)
15-250	≤ 30	≤ 50	60 t/m 130
> 250	≤ 25	≤ 40	60 t/m 130

h) Prestatiecriteria voor citrinine

Gehalte µg/kg	Citrinine			
	RSD _f %	Aanbevolen RSD _R %	Maximaal toegestane RSD _R %	Terugvindingspercentage (%)
Alle	0,66 × RSD _R	Zoals afgeleid met vergelijking van Horwitz (*)(**)	2 × waarde afgeleid met vergelijking van Horwitz (*)(**)	70 t/m 120

i) Opmerkingen bij de prestatiecriteria voor mycotoxinen:

- De aantoonbaarheidsgrenzen van de gebruikte methoden zijn niet aangegeven, aangezien de precisiewaarden voor de desbetreffende concentraties zijn gegeven.
- De precisiewaarden worden berekend met de vergelijking van Horwitz, met name de oorspronkelijke vergelijking van Horwitz (voor concentraties $1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138$) (*) en de gewijzigde vergelijking van Horwitz (voor concentraties $C < 1,2 \times 10^{-7}$) (**).

(*) Vergelijking van Horwitz voor concentraties $1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138$:

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

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

(**) Gewijzigde vergelijking van Horwitz (*) voor concentraties $C < 1,2 \times 10^{-7}$:

$$RSD_R = 22 \%$$

(referentie: M. Thompson, Analyst, 2000, 125, blz. 385-386)

waarbij:

- RSD_R de relatieve standaardafwijking is, berekend op basis van resultaten die onder reproduceerbaarheidsomstandigheden zijn verkregen $[(sR) \times 100]$;
- C de concentratie is ($1 = 100 \text{ g}/100 \text{ g}$; $0,001 = 1 \text{ 000 mg}/\text{kg}$).

Dit is een algemene vergelijking voor de precisie, waarvan is gebleken dat zij voor de meeste routineanalysemethoden niet wordt beïnvloed door de analyt of de matrix, maar alleen door de concentratie.

4.3.1.2. Geschiktheidsbenadering („fitness for purpose”)

Voor intern gevalideerde methoden mag als alternatief een „fitness for purpose”-benadering (***) worden gebruikt om te bepalen of zij geschikt zijn voor officiële controles. Voor officiële controles geschikte methoden moeten resultaten opleveren met een standaardmeetonzekerheid (u) onder de maximale standaardmeetonzekerheid die aan de hand van de volgende formule wordt berekend:

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

waarbij:

- Uf de maximale standaardmeetonzekerheid ($\mu\text{g}/\text{kg}$) is;
- LOD de aantoonbaarheidsgrens van de methode ($\mu\text{g}/\text{kg}$) is;
- α een constante numerieke factor is die afhangt van de waarde van C. De te gebruiken waarden staan in de tabel hieronder;
- C de desbetreffende concentratie ($\mu\text{g}/\text{kg}$) is.

Indien de analysemethode resultaten oplevert met onzekerheidsmetingen lager dan de maximumstandaardonzekerheid, wordt de methode even geschikt geacht als een methode die aan de in punt 4.3.1.1 vermelde prestatiecriteria voldoet.

Tabel

Voor de constante α in bovenstaande formule te gebruiken getalwaarden, afhankelijk van de desbetreffende concentratie

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
$> 10 \text{ 000}$	0,1

(***) Referentie: M. Thompson en R. Wood, Accred. Qual. Assur., 2006, 10, blz. 471-478

4.3.2. Specifieke voorschriften voor semikwantitatieve screeningsmethoden

4.3.2.1. Toepassingsgebied

Het toepassingsgebied omvat bioanalytische methoden op basis van immuunherkenning of receptorbinding (zoals Elisa, dipsticks, laterale-flowapparatuur, immuunsensoren) en fysisch-chemische methoden op basis van chromatografie of rechtstreekse detectie met behulp van massaspectrometrie (bv. „ambient mass spectrometry”: massaspectrometrie onder omgevingsomstandigheden). Andere methoden (bv. dunnelaagchromatografie) worden niet uitgesloten, mits de gegenereerde signalen rechtstreeks betrekking hebben op de desbetreffende mycotoxinen en toepassing van het hieronder omschreven beginsel mogelijk maken.

De specifieke voorschriften gelden voor methoden waarbij de meting een numerieke waarde oplevert, bijvoorbeeld een (relatieve) respons van een dipstickaflezer, een door vloeistofchromatografiemassaspectrometrie (LC-MS) gegenereerd signaal enz., en waarbij de normale statistiek van toepassing is.

De voorschriften gelden niet voor methoden die geen numerieke waarden opleveren (maar bv. alleen de aanwezigheid of afwezigheid van een lijn); deze vereisen andere valideringsbenaderingen. Specifieke voorschriften voor deze methoden worden gegeven in punt 4.3.3.

In dit document worden procedures beschreven voor de validering van screeningsmethoden door middel van een interlaboratoriumvalidering, de verificatie van de prestaties van een door middel van een interlaboratoriumonderzoek gevalideerde methode en de intralaboratoriumvalidering van een screeningsmethode.

4.3.2.2. Terminologie

Doelconcentratie voor screening (STC) („screening target concentration”): de desbetreffende concentratie voor detectie van de mycotoxine in een monster. Wanneer het doel is de naleving van wettelijke grenswaarden te testen, is de doelconcentratie voor screening gelijk aan het toepasselijke maximumgehalte. Voor andere doeleinden of indien geen maximumgehalte is vastgesteld, wordt de doelconcentratie voor screening vooraf door het laboratorium vastgesteld.

Screeningsmethode: de methode die wordt gebruikt voor de selectie van die monsters waarin, met een gegeven mate van betrouwbaarheid, het gehalte aan mycotoxinen de doelconcentratie voor screening overschrijdt. Voor de screening op mycotoxinen wordt een betrouwbaarheidspercentage van 95 % als geschikt („fit for purpose”) beschouwd. Het resultaat van de screeningsanalyse is ofwel „negatief”, ofwel „verdacht”. Screeningsmethoden moeten een kosteneffectieve doorvoer van een groot aantal monsters mogelijk maken, zodat de kans groter is dat nieuwe gevallen worden ontdekt waarbij het blootstellings- en het gezondheidsrisico voor de consument groot is. Deze methoden moeten gebaseerd zijn op bioanalytische, LC-MS- of HPLC-methoden. De resultaten van monsters waarin de afkapwaarde wordt overschreden, worden geverifieerd door middel van een volledige heranalyse, uitgaande van het oorspronkelijke monster, met behulp van een bevestigingsmethode.

„Negatief monster”: het mycotoxinegehalte in het monster ligt onder de doelconcentratie voor screening, met een betrouwbaarheid van 95 % (d.w.z. de kans dat monsters ten onrechte als negatief worden aangemerkt, bedraagt 5 %).

„Fout-negatief monster”: het mycotoxinegehalte in het monster ligt boven de doelconcentratie voor screening, maar het monster is als negatief aangemerkt.

„Verdacht monster” (positief gescreend): in het monster wordt de afkapwaarde (zie hieronder) overschreden, en ligt het gehalte aan de mycotoxine mogelijk boven de doelconcentratie voor screening. Elk verdacht resultaat geeft aanleiding tot een bevestigingsanalyse om de mycotoxine ondubbelzinnig te identificeren en kwantificeren.

„Fout-verdacht monster”: een negatief monster dat als verdacht is aangemerkt.

„Bevestigingsmethoden”: methoden die volledige of aanvullende informatie leveren voor de ondubbelzinnige identificatie en kwantificering van de mycotoxine bij het desbetreffende gehalte.

Afkapwaarde: met de screeningsmethode verkregen respons, signaal, of concentratie, waarboven het monster als „verdacht” wordt aangemerkt. De afkapwaarde wordt tijdens de validering bepaald en houdt rekening met de veranderlijkheid van de metingen.

Negatief controlemonster (blanco matrix): een monster waarvan vaststaat dat het vrij ⁽¹⁾ is van de mycotoxine waarop wordt gescreend, bv. dankzij een eerdere bepaling met behulp van een bevestigingsmethode. Indien geen blanco monsters kunnen worden verkregen, kan materiaal met het laagst verkrijgbare gehalte worden gebruikt, mits dit gehalte het mogelijk maakt te concluderen dat de screeningsmethode geschikt is.

Positief controlemonster: een monster dat de mycotoxine bevat bij de doelconcentratie voor screening, bv. gecertificeerd referentiemateriaal, materiaal waarvan de samenstelling bekend is (bv. testmateriaal voor bekwaamheidsproeven) of anderszins door middel van een bevestigingsmethode voldoende gekarakteriseerd materiaal. Indien dergelijk materiaal niet voorhanden is, kan een mengsel van monsters met verschillende gehalten aan de verontreiniging of een binnen het laboratorium vervaardigd en voldoende gekarakteriseerd verrijkt monster worden gebruikt, mits kan worden aangetoond dat het gehalte aan de verontreiniging is geverifieerd.

4.3.2.3. Valideringsprocedure

De validering heeft tot doel de geschiktheid van de screeningsmethode aan te tonen. Dit wordt gedaan door de afkapwaarde vast te stellen en het percentage fout-negatieve en fout-verdachte uitslagen te bepalen. Deze twee parameters omvatten prestatiekenmerken zoals gevoeligheid, selectiviteit en precisie.

Screeningsmethoden kunnen door middel van inter- of intralaboratoriumvalidering worden gevalideerd. Indien voor een bepaalde combinatie van mycotoxine, matrix en doelconcentratie voor screening al gegevens uit een interlaboratoriumvalidering beschikbaar zijn, kan worden volstaan met verificatie van de prestaties van de methode in een laboratorium dat de methode toepast.

4.3.2.3.1. Initiële validering door middel van intralaboratoriumvalidering

Mycotoxinen:

De validering wordt uitgevoerd voor elke afzonderlijke mycotoxine die tot het toepassingsgebied van de methode hoort. In het geval van bioanalytische methoden die een gecombineerde respons opleveren voor een bepaalde groep mycotoxinen (bv. aflatoxinen B₁, B₂, G₁ en G₂; fumonisinen B₁ en B₂), moet de toepasbaarheid worden aangetoond en moeten de beperkingen van de test worden vermeld bij het toepassingsgebied van de methode. Ongewenste kruisreactiviteit (bv. DON-3-glycoside, 3- of 15-acetyl-DON voor op immuuntechnieken gebaseerde methoden voor DON) wordt niet geacht het percentage fout-negatieve uitslagen te verhogen, maar kan wel het percentage fout-verdachte uitslagen verhogen. Deze ongewenste verhoging zal worden tegengegaan door middel van bevestigingsanalyse waarmee de mycotoxinen ondubbelzinnig worden geïdentificeerd en gekwantificeerd.

Matrices:

Een initiële validering moet worden uitgevoerd voor elk product of, wanneer bekend is dat de methode op meerdere producten toepasbaar is, voor elke productgroep. In het laatste geval wordt één representatief en relevant product uit die groep geselecteerd (zie tabel A).

Aantal monsters:

Voor validering zijn ten minste 20 homogene negatieve controlemonsters en 20 homogene positieve controlemonsters nodig die de mycotoxine bevatten bij de doelconcentratie voor screening, verspreid over vijf dagen met intermediaire precisie (RSD_{R_i}) geanalyseerd. Desgewenst kunnen aanvullende reeksen van 20 monsters met andere gehalten aan de mycotoxine aan de valideringsreeks worden toegevoegd, om inzicht te verkrijgen in de mate waarin de methode verschillende mycotoxineconcentraties kan onderscheiden.

Concentratie:

Voor elke doelconcentratie voor screening die routinematig zal worden toegepast, moet een validering worden uitgevoerd.

4.3.2.3.2. Initiële validering door middel van ringonderzoek

Validering door middel van ringonderzoek moet gebeuren volgens een internationaal erkend protocol voor ringonderzoek (bv. ISO 5725:1994 of het International Harmonised Protocol van de IUPAC) dat het opnemen van geldige gegevens van ten minste acht verschillende laboratoria voorschrijft. Het enige andere verschil met intralaboratoriumvalidering is dat de ≥ 20 monsters per product/gehalte gelijkelijk over de deelnemende laboratoria kunnen worden verdeeld, met minimaal twee monsters per laboratorium.

⁽¹⁾ Monsters worden geacht vrij te zijn van de analyt als de in het monster aanwezige hoeveelheid niet meer dan een vijfde van de doelconcentratie voor screening bedraagt. Indien het gehalte met een bevestigingsmethode kan worden gekwantificeerd, moet het in aanmerking worden genomen voor de valideringsbeoordeling.

4.3.2.4. Bepaling van de afkapwaarde en het percentage fout-verdachte uitslagen van blanco monsters

Voor de berekening van de voorgeschreven parameters wordt de (relatieve) respons voor de negatieve en voor de positieve controlemonsters als basis genomen.

Screeningsmethoden met een respons die evenredig is aan de mycotoxineconcentratie

Voor screeningsmethoden met een respons die evenredig is aan de mycotoxineconcentratie geldt het volgende:

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

R_{STC} = gemiddelde respons van de positieve controlemonsters (bij de doelconcentratie voor screening)

t-waarde: eenzijdige t-waarde voor een percentage fout-negatieve resultaten van 5 % (zie tabel B)

SD_{STC} = standaardafwijking Screeningsmethoden met een respons die omgekeerd evenredig is aan de mycotoxineconcentratie

Evenzo wordt de afkapwaarde voor screeningsmethoden met een respons die omgekeerd evenredig is aan de mycotoxineconcentratie als volgt berekend:

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

Door deze specifieke t-waarde te gebruiken om de afkapwaarde te bepalen, wordt het percentage fout-negatieve resultaten standaard op 5 % vastgesteld.

Beoordeling van de geschiktheid

De uitslagen voor de negatieve controlemonsters worden gebruikt om het overeenkomstige percentage fout-verdachte uitslagen te schatten. De t-waarde wordt berekend voor het geval waarin de uitslag voor een negatief controlemonster boven de afkapwaarde ligt, waardoor het monster ten onrechte als verdacht wordt aangemerkt.

t-waarde = $(\text{afkapwaarde} - \text{gemiddelde}_{\text{blanco}}) / SD_{\text{blanco}}$ voor screeningsmethoden met een respons die evenredig is aan de mycotoxineconcentratie

of

t-waarde = $(\text{gemiddelde}_{\text{blanco}} - \text{afkapwaarde}) / SD_{\text{blanco}}$ voor screeningsmethoden met een respons die omgekeerd evenredig is aan de mycotoxineconcentratie

Aan de hand van de verkregen t-waarde, die is gebaseerd op de uit het aantal experimenten berekende vrijheidsgraden, kan de waarschijnlijkheid van fout-verdachte monsters voor een eenzijdige verdeling ofwel worden berekend (bv. met de spreadsheetfunctie „TDIST”), ofwel uit een tabel voor de t-verdeling worden afgelezen.

De overeenkomstige waarde van de eenzijdige t-verdeling geeft het percentage vals-verdachte resultaten weer.

Dit concept wordt aan de hand van een voorbeeld in detail beschreven in Analytical and Bioanalytical Chemistry DOI 10.1007/s00216-013-6922-1.

4.3.2.5. Uitbreiding van het toepassingsgebied van de methode

4.3.2.5.1. Uitbreiding van het toepassingsgebied tot andere mycotoxinen:

Wanneer nieuwe mycotoxinen aan het toepassingsgebied van een bestaande screeningsmethode worden toegevoegd, is een volledige validering nodig om de geschiktheid van de methode aan te tonen.

4.3.2.5.2. Uitbreiding tot andere producten:

Indien bekend is of verwacht wordt dat de screeningsmethode toepasbaar is op andere producten, wordt de geldigheid voor deze andere producten geverifieerd. Zolang het nieuwe product tot een productgroep (zie tabel A) behoort waarvoor reeds een initiële validering is uitgevoerd, kan worden volstaan met een beperkte aanvullende validering. Daarvoor worden ten minste 10 homogene negatieve en 10 homogene positieve (bij de doelconcentratie voor screening) controlemonsters met intermediaire precisie geanalyseerd. Alle positieve controlemonsters moeten boven de afkapwaarde uitkomen. Indien niet aan dit criterium wordt voldaan, is een volledige validering vereist.

4.3.2.6. Verificatie van reeds door middel van ringonderzoek gevalideerde methoden

Voor screeningsmethoden die reeds met succes door middel van ringonderzoek zijn gevalideerd, worden de prestaties van de methode geverifieerd. Daarvoor worden ten minste 6 negatieve en 6 positieve (bij de doelconcentratie voor screening) controlemonsters geanalyseerd. Alle positieve controlemonsters moeten boven de afkapwaarde uitkomen. Indien niet aan dit criterium wordt voldaan, moet het laboratorium een analyse van de onderliggende oorzaken uitvoeren om na te gaan waarom het niet aan de in het ringonderzoek verkregen specificatie kan voldoen. Pas nadat corrigerende maatregelen zijn genomen, worden de prestaties van de methode opnieuw in het betrokken laboratorium geverifieerd. Indien het laboratorium niet in staat is de resultaten van het ringonderzoek te verifiëren, dan moet het zelf een afkapwaarde bepalen door middel van een volledige intralaboratoriumvalidering.

4.3.2.7. Continue/doorlopende validering van de methode

Na de initiële validering worden aanvullende valideringsgegevens verkregen door ten minste twee positieve controlemonsters op te nemen in elke gescreende batch monsters. Eén positief controlemonster is een bekend monster (bv. een monster dat tijdens de initiële validering is gebruikt), het andere is een ander product uit dezelfde productgroep (indien slechts één product wordt geanalyseerd, wordt in plaats daarvan een ander monster van dat product gebruikt). Het opnemen van een negatief controlemonster is facultatief. De voor de twee positieve controlemonsters verkregen resultaten worden toegevoegd aan de bestaande valideringsreeks.

Ten minste één keer per jaar wordt de afkapwaarde opnieuw bepaald en de geldigheid van de methode opnieuw beoordeeld. Deze continue verificatie van de methode dient verschillende doeleinden:

- kwaliteitscontrole voor de gescreende batch monsters;
- verkrijgen van informatie over de robuustheid van de methode onder de omstandigheden in het laboratorium dat de methode toepast;
- onderbouwen van de toepasbaarheid van de methode op andere producten;
- mogelijk maken dat de afkapwaarden worden aangepast als zich in de loop van de tijd geleidelijke verschuivingen voordoen.

4.3.2.8. Valideringsverslag

Het valideringsverslag omvat:

- een verklaring over de doelconcentratie voor screening
- een verklaring over de verkregen afkapwaarde

Opmerking: De afkapwaarde moet hetzelfde aantal significante cijfers hebben als de doelconcentratie voor screening. Numerieke waarden die gebruikt worden om de afkapwaarde te berekenen, moeten ten minste één significant cijfer meer hebben dan de doelconcentratie voor screening.

- een verklaring over het berekende percentage vals-verdachte uitslagen
- een verklaring over hoe het percentage vals-verdachte uitslagen is verkregen.

Opmerking: De verklaring over het berekende percentage fout-verdachte uitslagen geeft aan of de methode geschikt is, aangezien zij aangeeft hoeveel blancomonsters (of monsters met een gering gehalte aan de verontreiniging) aan verificatie zullen worden onderworpen.

Tabel A

Productgroepen voor de validering van screeningsmethoden

Productgroepen	Productcategorieën	Typische representatieve producten die in de categorie zijn opgenomen
Hoog watergehalte	Vruchtensappen	Appelsap, druivensap
	Alcoholische dranken	Wijn, bier, cider
	Wortel- en knolgewassen	Verse gember
	Purees op basis van granen of fruit	Purees voor zuigelingen en peuters

Productgroepen	Productcategorieën	Typische representatieve producten die in de categorie zijn opgenomen
Hoog oliegehalte	Noten	Walnoot, hazelnoot, kastanje
	Oliehoudende zaden en producten daarvan	Koolzaad, zonnebloemzaad, katoenzaad, sojabonen, pinda's, sesamzaad enz.
	Oliehoudende vruchten en producten daarvan	Oliën en pasta's (bv. pindakaas, tahin)
Hoog zetmeel- en/of eiwitgehalte en laag water- en vetgehalte	Granen en producten daarvan	Tarwe, rogge, gerst, mais, rijst, haver. Volkorenbrood, witbrood, crackers, ontbijtgranen, pasta
	Dieetproducten	Gedroogde poeders voor de bereiding van levensmiddelen voor zuigelingen en peuters
Hoog zuurgehalte en hoog watergehalte (*)	Citrusproducten	
„Moeilijke of unieke producten” (**)		Cacaobonen en producten daarvan, kopra en producten daarvan, koffie, thee Specerijen, zoethout
Hoog suikergehalte en laag watergehalte	Gedroogde vruchten	Vijgen, rozijnen, krenten, sultana's
Melk en melkproducten	Melk	Koeien-, geiten- en buffelmelk
	Kaas	Koeien- en geitenkaas
	Zuivelproducten (bv. melkpoeder)	Yoghurt, room

(*) Als een buffer wordt gebruikt om de pH-veranderingen tijdens de extractiestap te stabiliseren, kan deze productgroep in één productgroep „Hoog watergehalte” worden opgenomen.

(**) „Moeilijke of unieke producten” hoeven alleen volledig te worden gevalideerd als zij vaak worden geanalyseerd. Als zij slechts af en toe worden geanalyseerd, kan voor de validering worden volstaan met het controleren van de rapportage-niveaus met behulp van verrijkte blanco-extracten.

Tabel B

Eenzijdige t-waarde voor een percentage fout-negatieve uitslagen van 5 %

Vrijheidsgraden	Aantal identieke monsters	t-waarde (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

Vrijheidsgraden	Aantal identieke monsters	t-waarde (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. Voorschriften voor kwalitatieve screeningsmethoden (methoden die geen numerieke waarden opleveren)

Verscheidene normalisatie-instellingen (zoals AOAC en ISO) houden zich momenteel bezig met het ontwikkelen van valideringsrichtsnoeren voor binaire testmethoden. AOAC heeft zeer onlangs richtsnoeren over dit onderwerp opgesteld. Dat document kan worden geacht de huidige stand van de techniek op dit gebied weer te geven. Methoden die binaire resultaten opleveren (bv. visuele inspectie van dipsticktests) moeten daarom worden gevalideerd volgens deze richtsnoeren:

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

4.4. **Schatting van de meetonzekerheid, berekening van het terugvindingspercentage en rapportage van de resultaten** ⁽¹⁾

4.4.1. *Bevestigingsmethoden*

Het analyseresultaat moet als volgt worden gerapporteerd:

- gecorrigeerd voor de terugvinding, waarbij het terugvindingspercentage moet worden vermeld. De correctie voor terugvinding is niet nodig bij terugvindingspercentages tussen 90 en 110 %;
- als $x \pm U$, waarbij x het analyseresultaat is en U de uitgebreide meetonzekerheid, met een dekkingsfactor 2, zodat een betrouwbaarheidsniveau van ongeveer 95 % wordt verkregen.

Voor levensmiddelen van dierlijke oorsprong kan de meetonzekerheid ook in acht genomen worden door de beslissingsgrens (CC α) te bepalen overeenkomstig Beschikking 2002/657/EG van de Commissie ⁽²⁾ (punt 3.1.2.5 van bijlage I — voor stoffen waarvoor een toelaatbaar maximumgehalte is vastgesteld).

Als het analyseresultaat echter significant (> 50 %) onder het maximumgehalte of ver boven het maximumgehalte (d.w.z. meer dan 5 keer het maximumgehalte) ligt, mag het analyseresultaat zonder correctie voor terugvinding worden opgegeven en mag de vermelding van het terugvindingspercentage en de meetonzekerheid achterwege blijven, mits adequate kwaliteitszorgprocedures zijn gevolgd en de analyse alleen tot doel heeft na te gaan of aan de wettelijke bepalingen is voldaan.

⁽¹⁾ Voor nadere gegevens over de procedures voor de schatting van de meetonzekerheid en de berekening van het terugvindingspercentage, zie het rapport „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⁾ Beschikking 2002/657/EG van de Commissie van 14 augustus 2002 ter uitvoering van Richtlijn 96/23/EG van de Raad wat de prestaties van analysemethoden en de interpretatie van resultaten betreft (PB L 221 van 17.8.2002, blz. 8).

Deze interpretatievoorschriften met het oog op de aanvaarding of weigering van de partij gelden voor het analyseresultaat van het monster voor officiële controledoeleinden. Op de analyse voor verhaal- en arbitrage-doeleinden zijn de nationale voorschriften van toepassing.

4.4.2. *Screeningsmethoden*

Het resultaat van de screening wordt hetzij als conform, hetzij als verdacht niet-conform opgegeven.

„Verdacht niet-conform” betekent dat in het monster de afkapwaarde wordt overschreden, en het gehalte aan de mycotoxine mogelijk boven de doelconcentratie voor screening ligt. Elk verdacht resultaat geeft aanleiding tot een bevestigingsanalyse om de mycotoxine ondubbelzinnig te identificeren en kwantificeren.

„Conform” betekent dat het mycotoxinegehalte in het monster onder de doelconcentratie voor screening ligt, met een betrouwbaarheid van 95 % (d.w.z. dat de kans dat monsters ten onrechte als negatief worden aangemerkt, 5 % bedraagt). Het analyseresultaat wordt gerapporteerd als „< niveau van de doelconcentratie voor screening”, waarbij het niveau van de doelconcentratie voor screening wordt vermeld.”
