



ROZPORZĄDZENIE WYKONAWCZE KOMISJI (UE) 2023/2783

z dnia 14 grudnia 2023 r.

ustanawiające metody pobierania próbek i przeprowadzania analiz do celów kontroli poziomów toksyn roślinnych w żywności i uchylające rozporządzenie (UE) 2015/705

(Tekst mający znaczenie dla EOG)

KOMISJA EUROPEJSKA,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej,

uwzględniając rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/625 z dnia 15 marca 2017 r. w sprawie kontroli urzędowych i innych czynności urzędowych przeprowadzanych w celu zapewnienia stosowania prawa żywnościowego i paszowego oraz zasad dotyczących zdrowia i dobrostanu zwierząt, zdrowia roślin i środków ochrony roślin, zmieniające rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001, (WE) nr 396/2005, (WE) nr 1069/2009, (WE) nr 1107/2009, (UE) nr 1151/2012, (UE) nr 652/2014, (UE) 2016/429 i (UE) 2016/2031, rozporządzenia Rady (WE) nr 1/2005 i (WE) nr 1099/2009 oraz dyrektywy Rady 98/58/WE, 1999/74/WE, 2007/43/WE, 2008/119/WE i 2008/120/WE, oraz uchylające rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 854/2004 i (WE) nr 882/2004, dyrektywy Rady 89/608/EWG, 89/662/EWG, 90/425/EWG, 91/496/EWG, 96/23/WE, 96/93/WE i 97/78/WE oraz decyzję Rady 92/438/EWG (rozporządzenie w sprawie kontroli urzędowych) ⁽¹⁾, w szczególności jego art. 34 ust. 6,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) W rozporządzeniu Komisji (UE) 2023/915 ⁽²⁾ ustanowiono najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych toksyn roślinnych w żywności.
- (2) Pobieranie próbek ma istotne znaczenie dla precyzyjnego oznaczania poziomów toksyn roślinnych w określonej partii, ponieważ toksyny roślinne w danej partii mogą być rozmieszczone niejednorodnie. Należy zatem ustanowić metody pobierania próbek do celów urzędowej kontroli poziomów toksyn roślinnych w żywności.
- (3) W rozporządzeniu wykonawczym Komisji (UE) nr 2023/2782 ⁽³⁾ ustanowiono metody pobierania próbek do celów urzędowej kontroli poziomów mikotoksyn w żywności. Biorąc pod uwagę, że zarówno toksyny roślinne, jak i mikotoksyny są niejednorodnie rozmieszczone w partiach, wspomniane metody pobierania próbek należy stosować również w odniesieniu do toksyn roślinnych.
- (4) Kontrole urzędowe mogą być przeprowadzane w odniesieniu do żywności, dla której nie określono najwyższego dopuszczalnego poziomu toksyn roślinnych ani procedury pobierania próbek. Należy zatem ustanowić kryteria pozwalające określić, która procedura pobierania próbek powinna być stosowana w takich przypadkach.
- (5) Należy także określić ogólne kryteria wydajności, które powinna spełniać metoda analizy w celu zapewnienia stosowania przez laboratoria kontrolne metod analizy o porównywalnych poziomach wydajności. Ponieważ laboratorium referencyjne Unii Europejskiej ds. mikotoksyn i toksyn roślinnych określiło kryteria wydajności analitycznej dla analizy toksyn roślinnych w żywności na podstawie najlepszych dostępnych informacji naukowych, należy ustanowić te kryteria w niniejszym rozporządzeniu.

⁽¹⁾ Dz.U. L 95 z 7.4.2017, s. 1.

⁽²⁾ Rozporządzenie Komisji (UE) 2023/915 z dnia 25 kwietnia 2023 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów niektórych zanieczyszczeń w żywności oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 (Dz.U. L 119 z 5.5.2023, s. 103).

⁽³⁾ Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2023/2782 z dnia 14 grudnia 2023 r. ustanawiające metody pobierania próbek i przeprowadzania analiz do celów kontroli poziomów mikotoksyn w żywności i uchylające rozporządzenie (WE) nr 401/2006 (Dz.U. L, 2023/2782, 15.12.2023, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/2782/oj).

- (6) W rozporządzeniu Komisji (UE) 2015/705 ⁽⁴⁾ ustanowiono metody pobierania próbek i kryteria skuteczności metod analizy do celów urzędowej kontroli poziomów kwasu erukowego w środkach spożywczych. Ponieważ metody pobierania próbek i kryteria wydajności analitycznej określone w niniejszym rozporządzeniu są również odpowiednie do kontroli toksyny roślinnej kwas erukowy w żywności, w celu uproszczenia należy uchylić rozporządzenie (UE) 2015/705.
- (7) Należy dać laboratoriom kontrolnym wystarczający czas na wdrożenie nowych wymogów wprowadzonych niniejszym rozporządzeniem. W związku z tym należy przewidzieć rozsądny termin rozpoczęcia stosowania niniejszego rozporządzenia.
- (8) Aby zapewnić ciągłość przeprowadzania kontroli urzędowych i innych działań regulacyjnych dotyczących najwyższych dopuszczalnych poziomów toksyn roślinnych oraz wystarczająco dużo czasu na ponowną walidację metod analizy, należy przewidzieć, że metody analizy, które zostały zwalidowane przed datą rozpoczęcia stosowania niniejszego rozporządzenia, mogą pozostać w użyciu przez określony czas.
- (9) Środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Stałego Komitetu ds. Roślin, Zwierząt, Żywności i Pasz,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

Do celów niniejszego rozporządzenia stosuje się definicje określone w art. 1 rozporządzenia wykonawczego Komisji (UE) 2023/2782.

Artykuł 2

1. Próbkę do celów kontroli poziomów toksyn roślinnych w żywności pobierane są metodami określonymi w załączniku I.
2. W przypadku środka spożywczego, którego nie można sklasyfikować w kategorii żywności, w odniesieniu do której ustanowiono procedurę pobierania próbek w załączniku I, procedurę pobierania próbek określa się z uwzględnieniem rozmiaru cząstek tego środka spożywczego lub podobieństwa tego środka spożywczego do produktu, który można sklasyfikować w jednej z kategorii żywności wymienionych w załączniku I.
3. W przypadku środka spożywczego, którego nie można sklasyfikować w żadnej kategorii żywności wymienionej w załączniku I, oraz pod warunkiem że istnieją dowody na to, że toksyna roślinna jest jednorodnie rozmieszczona w takim środku spożywczym, pobiera się próbki z tego środka spożywczego zgodnie z metodą pobierania próbek określoną w części B załącznika do rozporządzenia Komisji (WE) nr 333/2007 ⁽⁵⁾.

Artykuł 3

Przygotowywanie próbek i metody analizy stosowane do celów kontroli poziomów toksyn roślinnych w środkach spożywczych odpowiadają kryteriom określonym w załączniku II.

Artykuł 4

Rozporządzenie (UE) 2015/705 traci moc. Odesłania do uchylonego rozporządzenia traktuje się jako odesłania do niniejszego rozporządzenia wykonawczego.

⁽⁴⁾ Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/705 z dnia 30 kwietnia 2015 r. ustanawiające metody pobierania próbek i kryteria skuteczności metod analizy do celów urzędowej kontroli poziomów kwasu erukowego w środkach spożywczych oraz uchylające dyrektywę Komisji 80/891/EWG (Dz.U. L 113 z 1.5.2015, s. 29).

⁽⁵⁾ Rozporządzenie Komisji (WE) nr 333/2007 z dnia 28 marca 2007 r. ustanawiające metody pobierania próbek i analizy do celów kontroli poziomów pierwiastków śladowych i zanieczyszczeń procesowych w środkach spożywczych (Dz.U. L 88 z 29.3.2007, s. 29).

Artykuł 5

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie dwudziestego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Niniejsze rozporządzenie stosuje się od dnia 1 kwietnia 2024 r. Jednakże metody analizy, które zostały zwalidowane przed rozpoczęciem stosowania niniejszego rozporządzenia, mogą pozostać w użyciu do dnia 1 lipca 2028 r., nawet jeśli nie spełniają wszystkich wymagań szczególnych przewidzianych w pkt 4.2 załącznika II do niniejszego rozporządzenia.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.

Sporządzono w Brukseli dnia 14 grudnia 2023 r.

W imieniu Komisji
Przewodnicząca
Ursula VON DER LEYEN

ZAŁĄCZNIK I

Metody pobierania próbek do celów kontroli poziomów toksyn roślinnych w żywności

CZĘŚĆ I

PRZEPISY OGÓLNE**A.1. Przepisy ogólne****A.1.1. Personel**

Próbki pobiera osoba wyznaczona przez właściwy organ państwa członkowskiego.

A.1.2. Materiał, z którego należy pobrać próbki

W przypadku każdej partii, która ma zostać zbadana, pobieranie próbek musi zostać przeprowadzone oddzielnie. Zgodnie z przepisami szczególnymi dotyczącymi pobierania próbek dla różnych toksyn roślinnych duże partie dzielone są na podpartie, z których próbki pobierane są oddzielnie.

A.1.3. Niezbędne środki ostrożności

Podczas pobierania i przygotowywania próbek stosuje się środki ostrożności w celu zapobieżenia jakimkolwiek zmianom, które:

- mogłyby mieć wpływ na zawartość toksyn roślinnych, mieć niekorzystny wpływ na wynik oznaczenia analitycznego lub spowodować, że próbki zbiorcze staną się niereprezentatywne,
- mogłyby mieć wpływ na bezpieczeństwo żywności stanowiącej partię, z których należy pobrać próbki.

Ponadto stosuje się wszelkie środki niezbędne do zapewnienia bezpieczeństwa osób pobierających próbki.

A.1.4. Próbki pierwotne

W miarę możliwości próbki pierwotne pobiera się z różnych miejsc rozmieszczonych w całej partii lub podpartii. Odstąpienie od tej procedury odnotowywane jest w protokole określonym w pkt A.1.8 niniejszego załącznika.

A.1.5. Przygotowanie próbki zbiorczej

Próbkę zbiorczą tworzy się poprzez połączenie próbek pierwotnych.

A.1.6. Kontrpróbki

Kontrpróbki do celów egzekwowania przepisów, obrony praw i arbitrażu pobiera się ze zhomogenizowanej próbki zbiorczej, o ile nie jest to sprzeczne z przepisami państw członkowskich w zakresie praw podmiotu prowadzącego przedsiębiorstwo spożywcze.

A.1.7. Pakowanie i transport próbek

Każda próbka umieszczana jest w czystym, chemicznie obojętnym pojemniku, odpowiednio zabezpieczonym przed zanieczyszczeniem i uszkodzeniem w czasie przewozu. Stosuje się wszelkie niezbędne środki ostrożności w celu zapobieżenia jakimkolwiek zmianom w składzie próbki, które mogłyby powstać w czasie transportu lub przechowywania.

A.1.8. Pieczętowanie i etykietowanie próbek

Każdą próbkę pobraną do celów urzędowych pieczętuje się w miejscu pobrania i oznacza zgodnie z przepisami państwa członkowskiego.

Każde pobranie próbki musi zostać odnotowane, aby umożliwić jednoznaczną identyfikację każdej partii; należy podać również datę i miejsce pobrania próbki oraz wszelkie dodatkowe informacje, które mogą być przydatne dla analityka.

A.2. Różne rodzaje partii

Produkty spożywcze mogą być oferowane do sprzedaży luzem, w pojemnikach lub opakowaniach jednostkowych, takich jak worki, torby i opakowania detaliczne/jednostkowe. Metoda pobierania próbek może być stosowana do produktów wprowadzanych do obrotu luzem, w pojemnikach lub opakowaniach jednostkowych, takich jak worki, torby, opakowania detaliczne/jednostkowe lub w jakiegokolwiek innej formie.

Bez uszczerbku dla przepisów szczególnych dotyczących pobierania próbek i ustanowionych w innych częściach niniejszego załącznika przedstawiony poniżej wzór służy jako wskazówka do obliczania częstotliwości pobierania próbek partii oferowanych do sprzedaży w opakowaniach jednostkowych, takich jak worki, torby i opakowania detaliczne/jednostkowe.

$$\text{częstotliwość pobierania próbek (SF) } n = \frac{\text{masa partii} \times \text{masa próbki pierwotnej}}{\text{masa próbki zbiorczej} \times \text{masa opakowania jednostkowego}}$$

— masa: w kg

— częstotliwość pobierania próbek (SF): każde n-te opakowanie jednostkowe, z którego pobierana jest próbka pierwotna (liczby dziesiętne należy zaokrąglić do najbliższej liczby całkowitej).

A.3. Pobieranie próbek produktów o wysokim stosunku objętości do masy

Z wyjątkiem produktów spożywczych objętych częścią II pkt L i M załącznika I do rozporządzenia wykonawczego (UE) 2023/2782, w przypadku pobierania próbek produktów spożywczych, których objętość jest duża w stosunku do ich masy (tj. objętość (dm³)/masa (kg) > 5), wymogi dotyczące masy można zastąpić równoważnym wymogiem dotyczącym objętości (tj. 1 kg zastępuje się 1 dm³).

CZĘŚĆ II**METODY POBIERANIA PRÓBEK**

Stosuje się metody pobierania próbek określone w części II załącznika I do rozporządzenia wykonawczego (UE) 2023/2782.

Jednakże do pobierania próbek ziemniaków i produktów z ziemniaków (glikoalkaloidy) oraz miodu (alkaloidy pirolyzydowe) stosuje się część B załącznika do rozporządzenia (WE) nr 333/2007.

—

ZAŁĄCZNIK II

Kryteria przygotowywania próbek i metod analizy stosowanych do celów kontroli poziomów toksyn roślinnych w żywności

1. WPROWADZENIE Środki ostrożności
Ponieważ na ogół rozmieszczenie toksyn roślinnych jest niejednorodne, próbki są przygotowywane, a w szczególności homogenizowane, ze szczególną starannością.
W przypadku gdy homogenizacja dokonywana jest przez laboratorium, cała próbka otrzymana przez laboratorium jest homogenizowana.
2. OBRÓBKA PRÓBKI OTRZYMANEJ PRZEZ LABORATORIUM
Każda próbka laboratoryjna jest dokładnie mieszana w procesie, który w razie potrzeby obejmuje mielenie na drobno i co do którego wykazano, że prowadzi do całkowitej homogenizacji.
W przypadku gdy najwyższy dopuszczalny poziom ma zastosowanie do suchej masy, zawartość suchej masy produktu oznaczana jest na podstawie części próbki zhomogenizowanej, z zastosowaniem metody, co do której wykazano, że zapewnia dokładne oznaczenie zawartości suchej masy.
3. KONTRPRÓBKI
Kontrpróbki do celów egzekwowania przepisów, obrony praw i arbitrażu pobiera się ze zhomogenizowanego materiału, o ile nie jest to sprzeczne z przepisami państw członkowskich w zakresie praw podmiotu prowadzącego przedsiębiorstwo spożywcze.
4. METODA ANALIZY, KTÓRĄ ZOBOWIĄZANE SĄ STOSOWAĆ LABORATORIA, I WYMAGANIA DOTYCZĄCE KONTROLI LABORATORYJNEJ
 - 4.1. **Wymagania ogólne**
Metody potwierdzające stosowane w analizie do celów kontroli żywności muszą być zgodne z przepisami pkt 1 i 2 załącznika III do rozporządzenia (UE) 2017/625.
W miarę możliwości poprawność metody powinna być weryfikowana poprzez analizę certyfikowanego materiału odniesienia lub poprzez regularny udział w badaniach biegłości z pomyślnym wynikiem.
 - 4.2. **Wymagania szczególne**
 - 4.2.1. *Wymagania szczególne dotyczące metod potwierdzających*
 - 4.2.1.1. Kryteria wydajności
W przypadku metod potwierdzających stosuje się następujące kryteria wydajności:
Odzysk: średni poziom odzysku powinien wynosić 70–120 %.
Średni poziom odzysku jest średnią wartością uzyskaną z kontrpróbek podczas walidacji przy ustalaniu parametrów precyzji RSD_r oraz RSD_{wR}. Kryterium to stosuje się do wszystkich stężeń i wszystkich poszczególnych toksyn.
W wyjątkowych przypadkach średnie poziomy odzysku wykraczające poza powyższy zakres mogą być dopuszczalne, ale muszą mieścić się w granicach 50–130 % i tylko wtedy, gdy spełnione są kryteria precyzji dla RSD_r i RSD_{wR}.
Precyzja
RSD_r wynosi ≤ 20 %.
RSD_{wR} wynosi ≤ 20 %.
RSD_r powinno wynosić ≤ 25 %.
Kryteria te mają zastosowanie do wszystkich stężeń.
Jeżeli laboratorium przedstawi dowody, że zapewniono zgodność z kryterium RSD_{wR}, nie ma potrzeby przedstawiania takich dowodów w odniesieniu do kryterium RSD_r, gdyż zgodność z RSD_{wR} automatycznie gwarantuje zgodność z kryterium RSD_r.
W przypadku gdy najwyższy dopuszczalny poziom ma zastosowanie do sumy toksyn, wówczas kryteria precyzji mają zastosowanie zarówno do sumy, jak i do poszczególnych toksyn.

Granica oznaczalności

Jeżeli w tabeli 1 poniżej określono wymaganie szczególne dotyczące granicy oznaczalności (LOQ) toksyny roślinnej, wartość LOQ metody musi być równa lub niższa od tej wartości.

Tabela 1

Wymagania dotyczące LOQ dla niektórych toksyn roślinnych

| Toksyna roślinna | Uwagi | Żywność | Wymaganie dotyczące LOQ (µg/kg) lub (µg/l) |
|--------------------------|---|--|--|
| Alkaloidy pirolizydynowe | Wymóg LOQ dla poszczególnych alkaloidów pirolizydynowych | Produkt suszony | ≤ 10 |
| | | Produkt płynny | ≤ 0,15 |
| Alkaloidy tropanowe | Wymóg dotyczący LOQ oddzielnie dla atropiny i skopolaminy | Przetworzona żywność na bazie zbóż dla niemowląt i małych dzieci | ≤ 1 |
| | | Zboża i produkty zbożowe | ≤ 2 |
| | | Herbatki ziołowe (produkt suszony) | ≤ 5 |
| | | Herbatki ziołowe (płynne) | ≤ 0,05 |
| Alkaloidy opium | Wymóg LOQ dla morfiny i kodeiny oddzielnie | Wyroby piekarnicze | ≤ 500 |

We wszystkich pozostałych przypadkach stosuje się następujące zasady:

LOQ: wynosi $\leq 0,5 \cdot \text{NDP}$ i powinna być w miarę możliwości niższa ($\leq 0,2 \cdot \text{NDP}$).

W przypadku gdy najwyższy dopuszczalny poziom ma zastosowanie do sumy toksyn, wówczas LOQ poszczególnych toksyn wynosi $\leq 0,5 \cdot \text{NDP}/n$, gdzie n oznacza liczbę toksyn objętych definicją NDP.

Identyfikacja

Do celów identyfikacji stosuje się kryteria określone w wytycznych dotyczących identyfikacji mikotoksyn i toksyn roślinnych w żywności i paszy ⁽¹⁾.

4.2.1.2. Rozszerzenie zakresu stosowania metody

4.2.1.2.1. Rozszerzenie zakresu na inne toksyny roślinne:

Gdy do zakresu istniejącej metody potwierdzającej dodaje się dodatkowe analizy, wymagana jest pełna walidacja, aby wykazać przydatność danej metody.

4.2.1.2.2. Rozszerzenie na inne produkty:

Jeśli metoda potwierdzająca ma – zgodnie z wiedzą lub oczekiwaniami – zastosowanie do innych produktów, należy zweryfikować jej trafność w odniesieniu do tych innych produktów. Jeśli nowy produkt należy do grupy produktów (zob. tabela 2 w niniejszym załączniku), dla których przeprowadzono już wstępną walidację, wystarczająca jest dodatkowa walidacja o ograniczonym zakresie.

4.2.2. Wymagania szczególne dotyczące półilościowych metod przesiewowych

4.2.2.1. Zakres

Niniejsza sekcja odnosi się do metod bioanalitycznych opartych na rozpoznaniu immunologicznym lub wiązaniu z receptorem (np. test ELISA, testy paskowe, metody wykorzystujące paski z przepływem bocznym (LFD), immunoczuJNIKI) i metod fizykochemicznych opartych na chromatografii lub bezpośrednim wykrywaniu metodą spektrometrii mas (np. spektrometrii mas pod ciśnieniem atmosferycznym). Inne metody (np. chromatografia cienkowarstwowa) nie są wykluczone, pod warunkiem że generowane sygnały odnoszą się bezpośrednio do danych toksyn roślinnych i pozwalają na zastosowanie zasady opisanej poniżej.

⁽¹⁾ Dokument dostępny pod adresem: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-10/cs_contaminants_sampling_guid-doc-ident-mycotoxins.pdf.

Wymagania szczególne mają zastosowanie do metod, których wynikiem jest wartość numeryczna, np. (względna) odpowiedź z czytnika testu paskowego, sygnał z chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas itp., oraz przy zastosowaniu normalnych zasad statystycznych.

Wymagania te nie mają zastosowania do metod, które nie dają wartości numerycznych (np. jedynie linię, która jest obecna albo nie) i wymagają innego podejścia do walidacji. Wymagania szczególne dotyczące tych metod są określone w pkt 4.2.3.

Niniejszy dokument opisuje procedury walidacji metod przesiewowych za pomocą walidacji międzylaboratoryjnej, kontroli wydajności metody zwalidowanej za pomocą procedury międzylaboratoryjnej oraz walidacji metody przesiewowej przez jedno laboratorium.

4.2.2.2. Procedura walidacji

Celem walidacji jest wykazanie adekwatności metody przesiewowej. Robi się to poprzez określenie wartości granicznej oraz określenie odsetka wyników fałszywie negatywnych i fałszywie podejrzanych. W tych dwóch parametrach uwzględnione są parametry wydajności, takie jak zdolność w zakresie wykrywania, selektywność i precyzja.

Metody przesiewowe mogą być walidowane za pomocą walidacji międzylaboratoryjnej lub walidacji przez jedno laboratorium. Jeżeli dla określonej kombinacji toksyna roślinna/matryca/STC dostępne są już dane dotyczące walidacji międzylaboratoryjnej, wystarczające jest zweryfikowanie wydajności tej metody w laboratorium ją stosującym.

4.2.2.2.1. Wstępna walidacja przez jedno laboratorium

Toksyny roślinne

Walidację przeprowadza się dla każdej indywidualnej toksyny roślinnej objętej zakresem. W przypadku metod bioanalitycznych, które dają łączną odpowiedź dla pewnej grupy toksyn roślinnych (np. alkaloidów pirolizydynowych), wykazuje się możliwość ich zastosowania oraz wspomina o ograniczeniach badania w zakresie metody. Uznaje się, że niepożądana reaktywność krzyżowa nie zwiększa odsetka wyników fałszywie negatywnych dla docelowych toksyn roślinnych, ale może zwiększać odsetek wyników fałszywie podejrzanych. Ten niepożądany wzrost zmniejsza się przy pomocy analizy potwierdzającej w celu jednoznacznej identyfikacji i oznaczenia ilościowego toksyn roślinnych.

Matryce

Dla każdego produktu lub – jeżeli o danej metodzie wiadomo, że ma zastosowanie do wielu produktów – dla każdej grupy produktów przeprowadza się wstępną walidację. W tym drugim przypadku z danej grupy wybiera się jeden reprezentatywny i odpowiedni produkt (zob. Tabela 2).

Zestaw próbek

Minimalna liczba różnych próbek wymaganych do walidacji wynosi 20 jednorodnych próbek kontrolnych negatywnych i 20 jednorodnych próbek kontrolnych pozytywnych, które zawierają toksynę roślinną w stężeniu STC, poddanych, w warunkach odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej (RSD_{wR}), analizie rozłożonej na 5 różnych dni. Do zestawu walidacyjnego można dodać dodatkowe zestawy 20 próbek zawierających toksynę roślinną w innych ilościach, aby dowiedzieć się, do jakiego stopnia dana metoda umożliwi rozróżnienie między różnymi stężeniami toksyn roślinnych.

Stężenie

Dla każdego STC, które ma być wykorzystane do rutynowego zastosowania, należy przeprowadzić walidację.

4.2.2.2.2. Wstępna walidacja w drodze porównania międzylaboratoryjnego

Walidację w drodze porównania międzylaboratoryjnego przeprowadza się zgodnie z normą ISO 5725:1994, międzynarodowym zharmonizowanym protokołem IUPAC lub innym uznanym na szczeblu międzynarodowym protokołem dotyczącym porównania międzylaboratoryjnego, który wymaga uwzględnienia ważnych danych z co najmniej ośmiu różnych laboratoriów. Jedyną inną różnicą w porównaniu z walidacją przez jedno laboratorium jest fakt, że ≥ 20 próbek na produkt/poziom może zostać równomiernie rozdzielonych pomiędzy uczestniczące laboratoria, przy czym na jedno laboratorium przypadają przynajmniej dwie próbki.

4.2.2.3. Określanie wartości granicznej i odsetka wyników fałszywie podejrzanых próbki ślepej

(Względne) odpowiedzi próbki kontrolnej negatywnej i próbki kontrolnej pozytywnej przyjmuje się za podstawę obliczenia wymaganych parametrów.

Metody przesiewowe o odpowiedzi proporcjonalnej do stężenia toksyn roślinnych

Do metod przesiewowych o odpowiedzi proporcjonalnej do stężenia toksyn roślinnych zastosowanie ma, co następuje:

$$\text{wartość graniczna} = R_{STC} - \text{wartość } t_{0,05} * SD_{STC}$$

R_{STC} = średnia odpowiedź próbki kontrolnej pozytywnej (przy STC)

wartość t: jednostronna wartość t dla odsetka wyników fałszywie negatywnych na poziomie 5 % (zob. tabela 3)

SD_{STC} = odchylenie standardowe

Metody przesiewowe o odpowiedzi odwrotnie proporcjonalnej do stężenia toksyn roślinnych

Podobnie dla metod przesiewowych o odpowiedzi odwrotnie proporcjonalnej do stężenia toksyn roślinnych wartość graniczną określa się jako:

$$\text{wartość graniczna} = R_{STC} + \text{wartość } t_{0,05} * SD_{STC}$$

Przy stosowaniu tej szczególnej wartości t do określenia wartości granicznej odsetek wyników fałszywie negatywnych jest domyślnie ustalony na poziomie 5 %.

Ocena adekwatności

Wyniki z próbki kontrolnej negatywnej wykorzystuje się do oszacowania odpowiadającego odsetka wyników fałszywie podejrzanых. Wartość t oblicza się tak, by odpowiadała sytuacji, gdy wynik z próbki kontrolnej negatywnej jest powyżej wartości granicznej, a zatem jest błędnie klasyfikowany jako podejrzan.

$$\text{wartość } t = (\text{wartość graniczna} - \text{średnia}_{\text{ślepa próbka}}) / SD_{\text{ślepa próbka}}$$

dla metod przesiewowych o odpowiedzi proporcjonalnej do stężenia toksyn roślinnych

lub

$$\text{wartość } t = (\text{średnia}_{\text{ślepa próbka}} - \text{wartość graniczna}) / SD_{\text{ślepa próbka}}$$

dla metod przesiewowych o odpowiedzi odwrotnie proporcjonalnej do stężenia toksyn roślinnych.

Z uzyskanej wartości t, na podstawie stopni swobody obliczonych z szeregu eksperymentów, prawdopodobieństwo próbek fałszywie podejrzanых przy jednostronnej dystrybucji może zostać obliczone (np. funkcja TDIST w arkuszu kalkulacyjnym) lub uzyskane z tabeli dystrybucji t (zob. tabela 3).

Odpowiednia wartość jednostronnej dystrybucji t określa odsetek wyników fałszywie podejrzanых.

Koncepcja ta jest szczegółowo opisana wraz z przykładem w „Analytical and Bioanalytical Chemistry” DOI 10.1007/s00216-013-6922-1.

4.2.2.4. Rozszerzenie zakresu stosowania metody

4.2.2.4.1. Rozszerzenie zakresu na inne toksyny roślinne

Gdy do zakresu istniejącej metody przesiewowej dodaje się nowe toksyny roślinne, wymagana jest pełna walidacja, aby wykazać przydatność danej metody.

4.2.2.4.2. Rozszerzenie na inne produkty

Jeśli metoda przesiewowa ma – zgodnie z wiedzą lub oczekiwaniami – zastosowanie do innych produktów, należy zweryfikować jej trafność w odniesieniu do tych innych produktów. Jeśli nowy produkt należy do grupy produktów (zob. tabela 2 w niniejszym załączniku), dla których przeprowadzono już wstępną walidację, wystarczająca jest dodatkowa walidacja o ograniczonym zakresie. W tym celu poddaje się analizie w warunkach odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej co najmniej 10 jednorodnych próbek kontrolnych negatywnych i 10 jednorodnych próbek kontrolnych pozytywnych (przy STC). Wszystkie próbki kontrolne pozytywne muszą być powyżej wartości granicznej. Jeśli kryterium to nie zostało spełnione, wymagana jest pełna walidacja.

4.2.2.5. Weryfikacja metod już zwalidowanych za pomocą porównania międzylaboratoryjnego

W przypadku metod przesiewowych, które zostały już pomyślnie zwalidowane w drodze porównania międzylaboratoryjnego, weryfikowana jest wydajność metody. W tym celu poddaje się analizie co najmniej 6 próbek kontrolnych negatywnych i 6 próbek kontrolnych pozytywnych (przy STC). Wszystkie próbki kontrolne pozytywne muszą być powyżej wartości granicznej. Jeśli kryterium to nie zostało spełnione, laboratorium musi przeprowadzić analizę przyczyn w celu określenia, dlaczego nie może osiągnąć specyfikacji uzyskanej w ramach badania międzylaboratoryjnego. Dopiero po podjęciu działań naprawczych przeprowadza ono ponowną weryfikację wydajności metody w laboratorium. Jeśli laboratorium nie jest w stanie zweryfikować wyników z porównania międzylaboratoryjnego, będzie musiało ustalić własną wartość graniczną w ramach pełnej walidacji w jednym laboratorium.

4.2.2.6. Ciągła weryfikacja metody/bieżąca walidacja metody

Po wstępnej walidacji uzyskuje się dodatkowe dane walidacyjne poprzez włączenie przynajmniej dwóch próbek kontrolnych pozytywnych do każdej partii próbek poddawanych badaniu przesiewowemu. Jedna próbka kontrolna pozytywna jest próbką znaną (np. wykorzystaną podczas wstępnej walidacji), a druga jest innym produktem z tej samej grupy produktów (jeśli analizowany jest tylko jeden produkt, wykorzystuje się zamiast tego inną próbkę tego produktu). Włączenie próbki kontrolnej negatywnej jest fakultatywne. Wyniki uzyskane dla dwóch próbek kontrolnych pozytywnych dodaje się do istniejącego zestawu walidacyjnego.

Co najmniej raz do roku wartość graniczną ustala się od nowa, a trafność metody poddaje się ponownej ocenie (ponowna ocena dostępnych danych z zakresu zapewnienia i kontroli jakości uzyskanych w poprzednim roku). Ciągła weryfikacja metody ma kilka celów, w tym:

- kontrolę jakości partii próbek poddanej badaniu przesiewowemu,
- dostarczenie informacji na temat odporności metody w warunkach laboratorium, które ją stosuje,
- uzasadnienie możliwości stosowania metody do innych produktów,
- możliwość dostosowania wartości granicznych w przypadku stopniowych przesunięć wraz z upływem czasu.

4.2.2.7. Sprawozdanie z walidacji

Sprawozdanie z walidacji zawiera:

- informację dotyczącą STC,
- informację dotyczącą określonej wartości granicznej,

Uwaga: Wartość graniczna ma tyle samo znaczących cyfr co STC. Wartości liczbowe wykorzystane do obliczenia wartości granicznej muszą mieć co najmniej jedną znaczącą cyfrę więcej niż STC.

- informację dotyczącą obliczonego odsetka wyników fałszywie podejrzanych,
- informację dotyczącą sposobu obliczenia odsetka wyników fałszywie podejrzanych.

Uwaga: Informacja dotycząca obliczonego odsetka wyników fałszywie podejrzanych wskazuje, czy metoda jest adekwatna, ponieważ określa liczbę ślepych próbek (lub próbek o niskim poziomie zanieczyszczenia), które będą podlegały weryfikacji.

Tabela 2

Grupy produktów do walidacji metod potwierdzających i przesiewowych

| Grupy produktów | Kategorie produktów | Typowe reprezentatywne produkty włączone do tej kategorii |
|--|---|--|
| Wysoka zawartość wody | Napoje Owoce i warzywa Przeciery na bazie zbóż lub owoców Świeże zioła kulinarne | Herbatki ziołowe (płynne), liście ogórecznika, ziemniaki, przeciery przeznaczone dla niemowląt i małych dzieci |
| Wysoka zawartość oleju | Orzechy z drzew orzechowych Nasiona oleiste i produkty z nich uzyskane Owoce oleiste i produkty z nich uzyskane | Migdały, pestki moreli, rzepak, nasiona bawełny, lnu, łubinu, maku, konopi itp. Oleje i pasty |
| Wysoka zawartość skrobi lub białka i niska zawartość wody i tłuszczu | Ziarna zbóż i produkty z nich uzyskane Produkty dietetyczne | Kukurydza, gryka, proso, sorgo, mączka z manioku, produkty z ziemniaków Chleb, wyroby piekarnicze, krakersy, śniadaniowe przetwory zbożowe, makarony Suche proszki do przygotowywania żywności dla niemowląt i małych dzieci |
| Wysoka zawartość kwasu i wysoka zawartość wody (*) | Produkty cytrusowe | |
| „Trudne lub szczególne produkty” (**) | | Pylék i produkty z pyłku, suplementy diety, herbatki ziołowe (produkt suszony), herbata (produkt suszony) Przyprawy, lukrecja |
| Wysoka zawartość cukru i niska zawartość wody | Owoce suszone | Figi, rodzynki, koryntki, sułtanki, miód |
| Mleko i przetwory mleczne | Mleko Ser Produkty mleczarskie (np. mleko w proszku) | Mleko krowie, kozie i bawole Ser krowi i kozi Jogurt, śmietana |

(*) Jeżeli do stabilizacji zmian pH na etapie ekstrakcji stosowany jest bufor, ta grupa produktów może zostać połączona w jedną grupę produktów „Wysoka zawartość wody”.

(**) „Trudne lub szczególne produkty” powinny być w pełni walidowane jedynie w przypadku, gdy są często poddawane analizie. Jeśli są one jedynie okazjonalnie poddawane analizie, walidacja może zostać ograniczona do sprawdzenia poziomów zgłaszania z zastosowaniem ekstraktu ślepej próbki wzbogaconej.

Tabela 3

Jednostronna wartość t dla odsetka wyników fałszywie negatywnych wynoszącego 5 %

| Stopnie swobody | Liczba kontrpróbek | Wartość t (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 |
| 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 |

4.2.3. Wymagania dotyczące jakościowych metod przesiewowych (metod, które nie dają wartości numerycznych)

Opracowaniem wytycznych walidacyjnych dla metod testów binarnych zajmują się obecnie różne organy normalizacyjne (np. AOAC, ISO). AOAC opracowało wytyczne w sprawie walidacji metod testów binarnych. Można uznać, że dokument ten przedstawia aktualny stan wiedzy w dziedzinie walidacji metod testów binarnych. Zatem metody, które dają binarne wyniki (np. ocena wizualna testów paskowych), powinny być walidowane zgodnie z międzynarodowymi wytycznymi AOAC w sprawie walidacji jakościowych binarnych metod chemicznych ⁽²⁾.

Można jednak zastosować inne uznane wytyczne dotyczące walidacji, takie jak podejście przewidziane w normie ISO/TS 23758:2021 | IDF/RM 251 „Guidelines for the validation of qualitative screening methods for the detection of residues of veterinary drugs in milk and milk products” (Wytyczne dotyczące walidacji jakościowych metod przesiewowych w celu wykrywania pozostałości leków weterynaryjnych w mleku i przetworach mlecznych).

4.3. Szacowanie niepewności pomiaru, obliczanie odzysku i podawanie wyników ⁽³⁾

4.3.1. Metody potwierdzające

⁽²⁾ Dostępne pod adresem: <https://academic.oup.com/jaoac/article-pdf/97/5/1492/32425003/jaoac1492.pdf>.

⁽³⁾ Więcej informacji na temat procedur szacowania niepewności pomiaru oraz procedur oceny odzysku można znaleźć w sprawozdaniu pod tytułem „Report on the relationship between analytical results, measurement uncertainty, recovery factors and the provisions of EU food and feed legislation” (Sprawozdanie na temat relacji między wynikami analiz, niepewnością pomiaru, współczynnikami odzysku a przepisami prawodawstwa UE dotyczącego żywności i paszy) https://food.ec.europa.eu/system/files/2016-10/cs_contaminants_sampling_analysis-report_2004_en.pdf.

Wynik analizy podaje się w następujący sposób:

- a) skorygowany o odzysk, w stosownych przypadkach, wraz z informacją o korekcie, jeśli miała ona miejsce. Należy podać stopień odzysku, chyba że wewnętrzna korekta o błąd metody jest częścią procedury. Korekta o wartość odzysku nie jest konieczna, jeśli stopień odzysku wynosi 90–110 %;
- b) jako $x \pm U$, gdzie x oznacza wynik analizy, a U niepewność rozszerzoną pomiaru analitycznego, przy zastosowaniu współczynnika rozszerzenia 2, który daje wynik w przedziale ufności ok. 95 %.

Jako możliwość można podać domyślną niepewność pomiaru rozszerzoną wynoszącą 50 %, pod warunkiem że laboratorium spełnia wszystkie wymagania dotyczące precyzji określone w pkt 4.2. Dane laboratorium może to wykazać, spełniając kryteria powtarzalności RSD_r i odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej RSD_{wR} , uzupełnione pomyślnym uczestnictwem w programach badań biegłości (chyba że nie jest dostępny odpowiedni program badań biegłości) ze średnią wartością z -score na poziomie $|z| \leq 2$ wykazującą, że spełniono wymóg odtwarzalności RSD_R (w oparciu o docelowe odchylenie standardowe wynoszące 25 %).

W przypadku gdy ustalono najwyższy dopuszczalny poziom dla sumy toksyn, podaje się wyniki analizy wszystkich poszczególnych toksyn.

W stosownych przypadkach przeprowadza się korektę odzysku dla każdej z poszczególnych toksyn przed sumowaniem stężeń.

Do celów weryfikacji zgodności z sumą NDP stosuje się metodę zerową, co oznacza, że wyniki dla poszczególnych toksyn, które są $< LOQ$, zastępuje się wartością zerową przy obliczaniu sumy.

Obowiązujące zasady interpretacji wyników analizy pod kątem przyjęcia lub odrzucenia partii mają zastosowanie do wyniku analizy otrzymanego w przypadku próbki do celów urzędowej kontroli. W przypadku analizy do celów obrony lub arbitrażu zastosowanie mają przepisy krajowe. W szczególności, jeżeli:

wynik analizy próbki z kontroli urzędowej wskazuje na niezgodność ponad wszelką wątpliwość, biorąc pod uwagę niepewność rozszerzoną pomiaru oraz

wynik analizy próbki do celów obrony praw wskazuje na niezgodność, jednak nie stwierdza jej istnienia ponad wszelką wątpliwość, a niepewność rozszerzona pomiaru jest większa niż niepewność w przypadku kontroli urzędowej,

wówczas wynik analizy próbki do celów obrony praw nie może przeważać w stosunku do niezgodności stwierdzonej dla próbki objętej kontrolą urzędową.

4.3.2. Metody przesiewowe

Wynik badań przesiewowych wyrażany jest jako zgodny lub podejrzewany o niezgodność.

„Podejrzewany o niezgodność” oznacza, że próbka przekracza wartość graniczną i może zawierać toksyny roślinne na poziomie wyższym niż STC . Każdy podejrzany wynik powoduje zastosowanie analizy potwierdzającej w celu jednoznacznej identyfikacji i oznaczenia ilościowego toksyny roślinnej.

„Zgodny” oznacza, że zawartość toksyny roślinnej w próbce jest $< STC$ przy poziomie ufności wynoszącym 95 % (tj. istnieje 5 % prawdopodobieństwa, że próbki będą niewłaściwie zgłaszane jako negatywne). Wynik analizy przedstawia się jako „ $< poziom STC$ ” wraz z określeniem poziomu STC .

4.4. Laboratoryjne normy jakości

Laboratorium przestrzega przepisów art. 37 ust. 4 i 5 rozporządzenia (UE) 2017/625.