



2023/2783

15.12.2023

REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) 2023/2783 DA COMISSÃO

de 14 de dezembro de 2023

que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo dos teores de toxinas vegetais nos géneros alimentícios e que revoga o Regulamento (UE) 2015/705

(Texto relevante para efeitos do EEE)

A COMISSÃO EUROPEIA,

Tendo em conta o Tratado sobre o Funcionamento da União Europeia,

Tendo em conta o Regulamento (UE) 2017/625 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 15 de março de 2017, relativo aos controlos oficiais e outras atividades oficiais que visam assegurar a aplicação da legislação em matéria de géneros alimentícios e alimentos para animais e das regras sobre saúde e bem-estar animal, fitossanidade e produtos fitofarmacêuticos, que altera os Regulamentos (CE) n.º 999/2001, (CE) n.º 396/2005, (CE) n.º 1069/2009, (CE) n.º 1107/2009, (UE) n.º 1151/2012, (UE) n.º 652/2014, (UE) 2016/429 e (UE) 2016/2031 do Parlamento Europeu e do Conselho, os Regulamentos (CE) n.º 1/2005 e (CE) n.º 1099/2009 do Conselho, e as Diretivas 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE e 2008/120/CE do Conselho, e que revoga os Regulamentos (CE) n.º 854/2004 e (CE) n.º 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, as Diretivas 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE e 97/78/CE do Conselho e a Decisão 92/438/CEE do Conselho (Regulamento sobre os controlos oficiais) ⁽¹⁾, nomeadamente o artigo 34.º, n.º 6,

Considerando o seguinte:

- (1) O Regulamento (UE) 2023/915 da Comissão ⁽²⁾ fixa os teores máximos para certas toxinas vegetais presentes nos géneros alimentícios.
- (2) A amostragem desempenha um papel crucial na precisão da determinação dos teores de toxinas vegetais num determinado lote, uma vez que as toxinas vegetais dentro de um lote podem ser distribuídas de forma heterogénea. Por conseguinte, é adequado estabelecer métodos de amostragem para o controlo oficial dos teores de toxinas vegetais nos géneros alimentícios.
- (3) O Regulamento de Execução (UE) 2023/2782 da Comissão [C(2023)8401] ⁽³⁾ estabelece os métodos de amostragem a utilizar para o controlo oficial dos teores de micotoxinas nos géneros alimentícios. Dado que tanto as toxinas vegetais como as micotoxinas se distribuem de forma heterogénea dentro dos lotes, é adequado aplicar esses métodos de amostragem também no que diz respeito às toxinas vegetais.
- (4) Podem ser efetuados controlos oficiais em géneros alimentícios para os quais não tenha sido estabelecido um teor máximo específico relativamente às toxinas vegetais e para os quais não tenha sido estabelecido um procedimento de amostragem específico. Por conseguinte, é conveniente prever critérios para determinar qual o procedimento de amostragem a aplicar nesses casos.
- (5) É também necessário estabelecer os critérios de desempenho gerais que o método de análise deve cumprir, por forma a garantir que os laboratórios de controlo utilizem métodos de análise com níveis de desempenho comparáveis. Uma vez que o laboratório de referência da União Europeia no domínio das micotoxinas e toxinas vegetais determinou os critérios de desempenho analítico para a análise das toxinas vegetais nos géneros alimentícios com base na melhor informação científica disponível, é adequado estabelecer esses critérios no presente regulamento.

⁽¹⁾ JO L 95 de 7.4.2017, p. 1.

⁽²⁾ Regulamento (UE) 2023/915 da Comissão, de 25 de abril de 2023, relativo aos teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios e que revoga o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 (JO L 119 de 5.5.2023, p. 103).

⁽³⁾ Regulamento de Execução (UE) 2023/2782 da Comissão, de 14 de dezembro de 2023, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo dos teores de micotoxinas nos géneros alimentícios e que revoga o Regulamento (CE) n.º 401/2006 (JO L, 2023/2782, 15.12.2023, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/2782/oj)

- (6) O Regulamento (UE) 2015/705 da Comissão ⁽⁴⁾ estabelece os métodos de amostragem e os critérios de desempenho aplicáveis aos métodos de análise para o controlo oficial dos teores de ácido erúxico nos géneros alimentícios. Uma vez que os métodos de amostragem e os critérios de desempenho analítico estabelecidos no presente regulamento são igualmente adequados para o controlo da toxina vegetal «ácido erúxico» nos géneros alimentícios, é adequado, por razões de simplificação, revogar o Regulamento (UE) 2015/705.
- (7) É necessário conceder aos laboratórios de controlo tempo suficiente para cumprirem os novos requisitos introduzidos pelo presente regulamento. Por conseguinte, é conveniente prever um prazo razoável até que o presente regulamento seja aplicável.
- (8) A fim de assegurar a continuidade da realização dos controlos oficiais e de outras atividades regulamentares no que respeita os teores máximos de toxinas vegetais e de forma a dar tempo suficiente para que os métodos de análise sejam reavaliados, é conveniente prever que os métodos de análise que tenham sido validados antes da data de aplicação do presente regulamento possam continuar a ser utilizados durante um período definido.
- (9) As medidas previstas no presente regulamento estão em conformidade com o parecer do Comité Permanente dos Vegetais, Animais e Alimentos para Consumo Humano e Animal,

ADOTOU O PRESENTE REGULAMENTO:

Artigo 1.º

Para efeitos do presente regulamento, são aplicáveis as definições constantes do artigo 1.º do Regulamento de Execução (UE) 2023/2782.

Artigo 2.º

1. A amostragem destinada ao controlo dos teores de toxinas vegetais nos géneros alimentícios deve realizar-se em conformidade com os métodos estabelecidos no anexo I.
2. Caso um género alimentício não possa ser classificado numa categoria de géneros alimentícios para a qual tenha sido estabelecido um procedimento de amostragem no anexo I, o procedimento de amostragem deve ser determinado tendo em conta a dimensão das partículas desse género alimentício ou a semelhança entre esse género alimentício e um produto que possa ser classificado numa das categorias de géneros alimentícios do anexo I.
3. Caso um género alimentício não possa ser classificado em nenhuma das categorias enumeradas no anexo I e desde que existam provas de que a toxina vegetal está distribuída de forma homogénea nesse género alimentício, o género alimento deve ser sujeito a amostragem utilizando o método de amostragem estabelecido na parte B do anexo do Regulamento (CE) n.º 333/2007 da Comissão ⁽⁵⁾.

Artigo 3.º

A preparação das amostras e os métodos de análise utilizados para o controlo dos teores de toxinas vegetais nos géneros alimentícios devem cumprir os critérios estabelecidos no anexo II.

Artigo 4.º

É revogado o Regulamento (UE) 2015/705. As referências ao regulamento revogado devem entender-se como sendo feitas ao presente regulamento de execução.

⁽⁴⁾ Regulamento (UE) 2015/705 da Comissão, de 30 de abril de 2015, que estabelece os métodos de amostragem e os critérios de desempenho aplicáveis aos métodos de análise para o controlo oficial dos teores de ácido erúxico nos géneros alimentícios e que revoga a Diretiva 80/891/CEE da Comissão (JO L 113 de 1.5.2015, p. 29).

⁽⁵⁾ Regulamento (CE) n.º 333/2007 da Comissão, de 28 de março de 2007, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo dos teores de oligoelementos e de contaminantes derivados da transformação nos géneros alimentícios (JO L 88 de 29.3.2007, p. 29).

Artigo 5.º

O presente regulamento entra em vigor no vigésimo dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial da União Europeia*.

O presente regulamento é aplicável a partir de 1 de abril de 2024. No entanto, os métodos de análise que tenham sido validados antes da entrada em vigor do presente regulamento podem continuar a ser utilizados até 1 de julho de 2028, mesmo que não cumpram todos os requisitos específicos previstos no anexo II, ponto 4.2, do presente regulamento.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e diretamente aplicável em todos os Estados-Membros.

Feito em Bruxelas, em 14 de dezembro de 2023.

Pela Comissão
A Presidente
Ursula VON DER LEYEN

ANEXO I

Métodos de amostragem para o controlo dos teores de toxinas vegetais nos géneros alimentícios

PARTE I

DISPOSIÇÕES GERAIS**A.1. Disposições gerais****A.1.1. Pessoal**

A amostragem deve ser efetuada por uma pessoa nomeada pela autoridade competente do Estado-Membro.

A.1.2. Material a amostrar

Cada lote a analisar deve ser objeto de uma amostragem separada. Em conformidade com as disposições específicas relativas à amostragem das diferentes toxinas vegetais, os grandes lotes devem ser subdivididos em sublotes, os quais devem ser objeto de uma amostragem separada.

A.1.3. Precauções a tomar

Durante a amostragem e a preparação das amostras, devem tomar-se precauções por forma a evitar alterações que possam:

- afetar o teor da toxina vegetal, afetar negativamente a determinação analítica ou tornar as amostras globais não representativas,
- afetar a segurança, em termos alimentares, dos lotes que são objeto de amostragem.

Devem igualmente tomar-se todas as medidas necessárias para garantir a segurança das pessoas que fazem a recolha das amostras.

A.1.4. Amostras elementares

Na medida do possível, as amostras elementares devem ser recolhidas em diversos pontos do lote ou sublote. Qualquer inobservância deste procedimento deve ser assinalada no registo previsto no ponto A.1.8 do presente anexo.

A.1.5. Preparação da amostra global

A amostra global é obtida através da junção das amostras elementares.

A.1.6. Réplicas de amostras

As réplicas de amostras para efeitos de controlo, recurso e referência devem ser obtidas a partir da amostra global homogeneizada, desde que esse procedimento não infrinja as regras dos Estados-Membros no que respeita aos direitos dos operadores das empresas do setor alimentar.

A.1.7. Acondicionamento e envio das amostras

Cada amostra deve ser colocada num recipiente limpo, de material inerte, que a proteja adequadamente de qualquer contaminação ou dano durante o transporte. Devem ser tomadas todas as precauções necessárias para evitar qualquer modificação da composição da amostra que possa ocorrer durante o transporte ou o armazenamento.

A.1.8. Selagem e rotulagem das amostras

Cada amostra recolhida para efeitos oficiais deve ser selada no local de amostragem e identificada de acordo com as regras do Estado-Membro.

Para cada amostragem, deve ser mantido um registo que permita identificar sem ambiguidade o lote amostrado, indicando a data e o local de amostragem, bem como qualquer informação suplementar que possa ser útil para a pessoa que realiza a análise.

A.2. Diferentes tipos de lotes

Os produtos alimentares podem ser comercializados a granel, em recipientes ou em embalagens individuais, tais como sacas, sacos ou embalagens a retalho/individuais. O método de amostragem pode ser aplicado aos produtos colocados no mercado a granel, em recipientes ou em embalagens individuais, tais como sacas, sacos, embalagens a retalho/individuais ou qualquer outra forma diferente.

Sem prejuízo das disposições específicas relativas à amostragem previstas noutras partes do presente anexo, a fórmula seguinte deve ser utilizada como guia para o cálculo da frequência da amostragem dos lotes colocados no mercado em embalagens individuais, tais como sacas, sacos ou embalagens a retalho/individuais.

$$\text{Frequência de amostragem (FA) } n = \frac{\text{Peso do lote x Peso da amostra elementar}}{\text{Peso da amostra global x Peso da embalagem individual}}$$

— peso: em kg

— frequência de amostragem (FA): cada enésima embalagem individual da qual será recolhida uma amostra elementar (os números decimais devem ser arredondados para o número inteiro mais próximo).

A.3. Amostragem de produtos com uma elevada relação volume/peso

Com exceção dos produtos alimentares abrangidos pelo anexo I, parte II, pontos L e M, do Regulamento de Execução (UE) 2023/2782, no caso da amostragem de produtos alimentares cujo volume é elevado em comparação com o seu peso (ou seja, volume (dm³)/peso (kg) > 5), os requisitos relativos ao peso podem ser substituídos por requisitos equivalentes relativos ao volume (ou seja, em que 1 kg é substituído por 1 dm³).

PARTE II

MÉTODOS DE AMOSTRAGEM

São aplicáveis os métodos de amostragem estabelecidos no anexo I, parte II, do Regulamento de Execução (UE) 2023/2782.

No entanto, para a amostragem de batatas e produtos à base de batata (glicoalcaloides) e mel (alcaloides da pirrolizidina), aplica-se a parte B do anexo do Regulamento (CE) n.º 333/2007.

—

ANEXO II

Critérios aplicáveis à preparação das amostras e aos métodos de análise para o controlo dos teores de toxinas vegetais nos géneros alimentícios

1. INTRODUÇÃO Precauções

Dado que a distribuição das toxinas vegetais é, regra geral, heterogénea, as amostras devem ser preparadas, e sobretudo homogeneizadas, com o máximo cuidado.

A amostra completa, tal como é recebida pelo laboratório, deve ser homogeneizada, caso compita ao laboratório efetuar essa homogeneização.

2. TRATAMENTO DA AMOSTRA RECEBIDA PELO LABORATÓRIO

Cada amostra de laboratório deve ser cuidadosamente misturada, utilizando um processo, incluindo se necessário a trituração fina, que comprovadamente garanta uma homogeneização completa.

No caso de o teor máximo se aplicar à matéria seca, o teor de matéria seca do produto será determinado numa parte da amostra homogeneizada, utilizando um método que comprovadamente determine com exatidão o teor de matéria seca.

3. RÉPLICAS DE AMOSTRAS

As réplicas de amostras para efeitos de controlo, recurso e referência devem ser obtidas a partir do material homogeneizado, desde que esse procedimento não infrinja as regras dos Estados-Membros no que respeita aos direitos dos operadores de empresas do setor alimentar.

4. REQUISITOS APLICÁVEIS AO MÉTODO DE ANÁLISE A UTILIZAR PELO LABORATÓRIO E AO CONTROLO EFETUADO PELO LABORATÓRIO

4.1. **Requisitos gerais**

Os métodos de confirmação de análise utilizados para o controlo dos géneros alimentícios devem cumprir as disposições do anexo III, pontos 1 e 2, do Regulamento (UE) 2017/625.

Sempre que possível, a veracidade do método deve ser verificada através da análise de um material de referência certificado e/ou pela participação com êxito em testes de proficiência numa base regular.

4.2. **Requisitos específicos**4.2.1. *Requisitos específicos para métodos de confirmação*

4.2.1.1. Critérios de desempenho

Em relação aos métodos de confirmação, aplicam-se os seguintes critérios de desempenho:

Recuperação: a recuperação média deve situar-se entre 70 e 120 %.

A recuperação média é o valor médio das réplicas obtido durante a validação aquando da determinação dos parâmetros de precisão RSD_r e RSD_w_r . O critério aplica-se a todas as concentrações e a todas as toxinas individuais.

Em casos excecionais, recuperações médias fora da gama acima mencionada podem ser aceitáveis, mas devem situar-se entre 50 e 130 % e apenas quando forem cumpridos os critérios de precisão relativos ao RSD_r e ao RSD_w_r .

Precisão

O RSD_r deve ser ≤ 20 %.

O RSD_w_r deve ser ≤ 20 %.

O RSD_R deve ser ≤ 25 %.

Estes critérios aplicam-se a todas as concentrações.

Caso um laboratório apresente elementos que provem que o critério relativo ao RSD_w_r é cumprido, não é necessário apresentar esse elemento de prova para o critério relativo ao RSD_r , uma vez que a conformidade com o RSD_w_r garante o cumprimento do critério relativo ao RSD_r .

Caso o teor máximo se aplique a uma soma de toxinas, os critérios de precisão aplicam-se tanto à soma como às toxinas individuais.

Limite de quantificação

Quando um requisito específico relativo ao limite de quantificação (LOQ) de uma toxina vegetal tiver sido estabelecido no quadro 1 *infra*, o método deve ter um LOQ igual ou inferior a este valor.

Quadro 1

Requisitos LOQ para determinadas toxinas vegetais

| Toxina vegetal | Observações | Género alimentício | Requisito LOQ (µg/kg) ou (µg/l) |
|-----------------------------|---|--|---------------------------------|
| Alcaloides da pirrolizidina | Requisito LOQ para alcaloides da pirrolizidina individuais | Produto seco | ≤ 10 |
| | | Produto líquido | ≤ 0,15 |
| Alcaloides do tropano | Requisito LOQ para a atropina e a escopolamina, separadamente | Alimentos transformados à base de cereais destinados a lactentes e crianças pequenas | ≤ 1 |
| | | Cereais e produtos à base de cereais | ≤ 2 |
| | | Infusões de plantas (produto seco) | ≤ 5 |
| | | Infusões de plantas (líquidas) | ≤ 0,05 |
| Alcaloides do ópio | Requisito LOQ para a morfina e a codeína, separadamente | Produtos de panificação | ≤ 500 |

Em todos os outros casos, aplica-se o seguinte:

LOQ: deve ser $\leq 0,5 \cdot TM$ e deve, de preferência, ser inferior ($\leq 0,2 \cdot TM$).

Caso o teor máximo se aplique a uma soma de toxinas, o LOQ das toxinas individuais deve ser $\leq 0,5 \cdot TM/n$, sendo que n é o número de toxinas incluídas na definição do teor máximo (TM).

Identificação

Para a identificação, devem ser aplicados os critérios estabelecidos no documento de orientação «Guidance document on identification of mycotoxins and plant toxins in food and feed» (Documento de orientação sobre a identificação de micotoxinas e toxinas vegetais em géneros alimentícios e alimentos para animais) ⁽¹⁾.

4.2.1.2. Extensão do âmbito de aplicação do método

4.2.1.2.1. Extensão do âmbito de aplicação a outras toxinas vegetais:

Quando analitos suplementares são adicionados ao âmbito de aplicação de um método de confirmação existente, é necessária uma validação completa para demonstrar a adequação do método.

4.2.1.2.2. Extensão a outros produtos:

Se o método de confirmação for conhecido ou se preveja que venha a ser aplicável a outros produtos, a validade destes outros produtos deve ser verificada. Desde que o novo produto pertença a um grupo de produtos (ver quadro 2 do presente anexo) para os quais já foi realizada uma validação inicial, uma validação adicional limitada é suficiente.

4.2.2. Requisitos específicos para métodos de rastreio semiquantitativos

4.2.2.1. Âmbito de aplicação

Esta secção abrange os métodos bioanalíticos baseados em imunorreconhecimento ou em ligações aos recetores (tais como o teste ELISA, tiras reagentes, dispositivos de fluxo lateral, imunossensores) e métodos físico-químicos baseados em cromatografia ou em deteção direta por espetrometria de massa (por exemplo, espetrometria de massa — MS ambiente). Não estão excluídos outros métodos (por exemplo, cromatografia em camada fina), desde que os sinais emitidos estejam diretamente relacionados com as toxinas vegetais em causa e permitam que o princípio descrito mais adiante possa ser aplicado.

⁽¹⁾ Disponível em: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-10/cs_contaminants_sampling_guid-doc-ident-mycotoxins.pdf

Os requisitos específicos aplicam-se a métodos cujo resultado de medição é um valor numérico, por exemplo uma resposta (relativa) de um leitor de tira reagente, um sinal de LC-MS, etc., e a que as estatísticas normais sejam aplicáveis.

Os requisitos não se aplicam a métodos que não tenham como resultado valores numéricos (por exemplo, apenas uma linha que está presente ou ausente), que exigem diferentes abordagens de validação. São apresentados requisitos específicos para estes métodos no ponto 4.2.3.

O presente documento descreve os procedimentos para a validação dos métodos de rastreio através de uma validação interlaboratorial, a verificação do desempenho de um método validado através de um exercício interlaboratorial e a validação de um método de rastreio por um único laboratório.

4.2.2.2. Processo de validação

O objetivo da validação é demonstrar a adequação do método de rastreio à sua finalidade. Tal é feito por meio da determinação do valor-limite e pela determinação da taxa de falsos negativos e falsos suspeitos. Nestes dois parâmetros, estão incluídas características de desempenho, tais como a capacidade de deteção, a seletividade e a precisão.

Os métodos de rastreio podem ser validados pela validação interlaboratorial ou por um único laboratório. Se já estiverem disponíveis dados de validação interlaboratorial para uma certa combinação toxina vegetal/matriz/STC, é suficiente a verificação de desempenho do método num laboratório que aplique o método.

4.2.2.2.1. Validação inicial por validação por um único laboratório

Toxinas vegetais

A validação deve ser realizada para cada toxina vegetal separadamente dentro do âmbito de aplicação. No caso dos métodos bioanalíticos que dão uma resposta combinada para um determinado grupo de toxinas vegetais (p. ex., alcaloides da pirrolizidina), a aplicabilidade deve ser demonstrada e as limitações do teste devem ser indicadas no âmbito de aplicação do método. Não se considera que a reatividade cruzada indesejada aumente a taxa de falsos negativos das toxinas vegetais visadas, mas pode aumentar a taxa de falsos suspeitos. Este aumento não desejado deve ser atenuado por análises de confirmação para identificar e quantificar as toxinas vegetais de forma inequívoca.

Matrizes

Deve ser executada uma validação inicial para cada produto, ou, quando o método for reconhecidamente aplicável a vários produtos, para cada grupo de produtos. Neste último caso, é selecionado um produto representativo e relevante nesse grupo (ver quadro 2).

Conjunto de amostras

O número mínimo de diferentes amostras necessárias para fins de validação são 20 amostras de controlo negativas homogéneas e 20 amostras de controlo positivas homogéneas que contenham a toxina vegetal na STC, analisadas em condições de reprodutibilidade intralaboratorial (RSD_{wR}), ao longo de cinco dias diferentes. Podem ser adicionados ao conjunto de validação conjuntos suplementares de 20 amostras que contenham outros teores da toxina vegetal, a fim de compreender até que ponto o método permite distinguir entre diferentes concentrações da toxina vegetal.

Concentração

Para cada STC a utilizar na aplicação de rotina, tem de ser efetuada uma validação.

4.2.2.2.2. Validação inicial através de ensaios colaborativos

A validação através de ensaios colaborativos deve ser efetuada em conformidade com a norma ISO 5725:1994 ou o Protocolo Internacional Harmonizado da IUPAC ou outro protocolo internacionalmente reconhecido relativo a ensaios colaborativos, que exige a inclusão de dados válidos de, pelo menos, oito laboratórios diferentes. Em comparação com as validações por um único laboratório, a única diferença deve ser a possibilidade em repartir equitativamente ≥ 20 das amostras por produto/nível entre os laboratórios participantes, com um mínimo de duas amostras por laboratório.

4.2.2.3. Determinação do valor-limite e da percentagem de resultados falsos suspeitos das amostras em branco

As respostas (relativas) para as amostras de controlo negativas e positivas devem ser tomadas como base para o cálculo dos parâmetros requeridos.

Métodos de rastreio com uma resposta proporcional à concentração da toxina vegetal

Para métodos de rastreio com uma resposta proporcional à concentração da toxina vegetal, aplica-se o seguinte:

$$\text{Valor-limite} = R_{STC} - \text{valor } t_{0,05} * SD_{STC}$$

R_{STC} = resposta média das amostras de controlo positivas (na STC)

Valor t: um valor t em teste unicaudal para uma percentagem de resultados falsos negativos de 5 % (ver quadro 3)

SD_{STC} = desvio-padrão

Métodos de rastreio com uma resposta inversamente proporcional à concentração da toxina vegetal

De modo similar, para métodos de rastreio com uma resposta inversamente proporcional à concentração da toxina vegetal, o valor-limite é determinado da seguinte forma:

$$\text{Valor-limite} = R_{STC} + \text{valor } t_{0,05} * SD_{STC}$$

Utilizando este valor t específico para determinar o valor-limite, a percentagem de resultados falsos negativos é, por defeito, fixada em 5 %.

Avaliação da adequação ao objetivo

Os resultados das amostras de controlo negativas são utilizados para estimar a percentagem correspondente de resultados falsos suspeitos. O valor t é calculado de forma correspondente ao caso em que um resultado de uma amostra de controlo negativa é superior ao valor-limite, sendo, portanto, erradamente classificado como suspeito.

$$\text{Valor } t = (\text{valor-limite} - \text{média}_{\text{branco}}) / SD_{\text{branco}}$$

para métodos de rastreio com uma resposta proporcional à concentração da toxina vegetal

ou

$$\text{Valor } t = (\text{média}_{\text{branco}} - \text{valor-limite}) / SD_{\text{branco}}$$

para métodos de rastreio com uma resposta inversamente proporcional à concentração da toxina vegetal.

A partir do valor t obtido, e com base nos graus de liberdade calculados com base no número de experiências, a probabilidade de amostras falsas suspeitas para uma distribuição unicaudal pode ser calculada (por exemplo, função «TDIST» da folha de cálculo) ou obtida a partir de um quadro de distribuição t (ver quadro 3).

O valor correspondente da distribuição t unicaudal especifica a percentagem de resultados falsos suspeitos.

Este conceito é descrito em pormenor, por meio de um exemplo, em *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, DOI 10.1007/s00216-013-6922-1.

4.2.2.4. Extensão do âmbito de aplicação do método

4.2.2.4.1. Extensão do âmbito de aplicação a outras toxinas vegetais:

Quando novas toxinas vegetais são adicionadas ao âmbito de aplicação de um método de rastreio existente, é necessária uma validação completa para demonstrar a adequação do método.

4.2.2.4.2. Extensão a outros produtos:

Se o método de rastreio for conhecido ou se preveja que venha a ser aplicável a outros produtos, a validade destes outros produtos deve ser verificada. Desde que o novo produto pertença a um grupo de produtos (ver quadro 2 do presente anexo) para os quais já foi realizada uma validação inicial, uma validação adicional limitada é suficiente. Para tal, um mínimo de 10 amostras homogéneas de controlo negativas e 10 amostras homogéneas de controlo positivas (na STC) devem ser analisadas em condições de reprodutibilidade intralaboratorial. As amostras de controlo positivas devem ser superiores ao valor-limite. No caso de este critério não ser preenchido, é exigida uma validação completa.

4.2.2.5. Verificação dos métodos já validados através de ensaios colaborativos

Para os métodos de rastreio que já tenham sido adequadamente validados por um ensaio colaborativo, deve ser verificado o desempenho do método. Para tal, um mínimo de 6 amostras de controlo negativas e de 6 amostras de controlo positivas (na STC) devem ser analisadas. As amostras de controlo positivas devem ser superiores ao valor-limite. No caso de este critério não estar preenchido, o laboratório tem de efetuar uma análise das causas profundas, a fim de identificar a razão por que não pôde cumprir as especificações obtidas no ensaio colaborativo. Só depois de tomar medidas corretivas se deve reexaminar o desempenho do método no respetivo laboratório. Caso o laboratório não seja capaz de verificar os resultados do ensaio colaborativo, terá de determinar o seu valor-limite numa validação completa por um único laboratório.

4.2.2.6. Verificação contínua do método/Validação contínua do método

Após a validação inicial, os dados de validação adicionais são obtidos incluindo, pelo menos, duas amostras de controlo positivas para cada lote de amostras objeto de rastreio. Uma amostra de controlo positiva deve ser uma amostra conhecida (p. ex., utilizada durante a validação inicial), a outra deve ser um produto diferente do mesmo grupo de produtos (no caso de ser analisado apenas um produto, é utilizada uma amostra diferente desse produto em seu lugar). A inclusão de uma amostra de controlo negativa é facultativa. Os resultados obtidos para as duas amostras de controlo positivas são acrescentados ao conjunto de validação existente.

Pelo menos uma vez por ano, o valor-limite é novamente determinado e a validade do método é reavaliada (reavaliação dos dados disponíveis relativos à garantia de qualidade/controlo de qualidade obtidos no último ano). A verificação contínua do método serve diversos objetivos, incluindo:

- controlo de qualidade para o lote de amostras rastreado,
- fornecimento de informações sobre a solidez do método nas condições do laboratório que aplica o método,
- justificação da aplicabilidade do método a diferentes produtos,
- possibilidade de ajustar os valores-limite em caso de dispersão gradual ao longo do tempo.

4.2.2.7. Relatório de validação

O relatório de validação deve conter:

- uma declaração sobre a STC,
- uma declaração sobre o valor-limite determinado,

Nota: O valor-limite deve ter o mesmo número de algarismos significativos que a STC. Os valores numéricos a utilizar para calcular o valor-limite precisam, pelo menos, de mais um algarismo significativo do que a STC.

- uma declaração sobre a percentagem calculada de falsos suspeitos,
- uma declaração sobre a forma como foi gerada a percentagem de falsos suspeitos.

Nota: A declaração sobre o cálculo da percentagem de falsos suspeitos indica se o método é adequado à sua finalidade, tal como indica o número de amostras em branco (ou com reduzida contaminação) que serão sujeitas a verificação.

Quadro 2

Grupos de produtos para a validação de métodos de confirmação e de rastreio

| Grupos de produtos | Categorias de produtos | Produtos típicos representativos incluídos na categoria |
|---|---|--|
| Elevado teor de água | Bebidas Frutos e produtos hortícolas Cereais ou purés à base de fruta Ervas aromáticas frescas | Infusões de plantas (produto líquido), folhas de borragem, batatas, purés destinados a lactentes e crianças pequenas |
| Elevado teor de óleo | Frutos de casca rija Sementes oleaginosas e seus produtos Frutos oleaginosos e seus produtos | Amêndoas, amêndoas de damascos, sementes de colza, sementes de algodão, sementes de linho, sementes de tremoço, sementes de papoila, sementes de cânhamo, etc. Óleos e pastas |
| Elevado teor de amido e/ou de proteínas e baixo teor de água e de matéria gorda | Sementes ou frutos oleaginosos e seus produtos Produtos dietéticos | Milho, trigo-mourisco, milho-painço, sorgo, farinha de mandioca, produtos à base de batata Pão, produtos de panificação, bolachas de água e sal (<i>crackers</i>), cereais para pequeno-almoço, massas alimentícias Produtos em pó secos para a preparação de alimentos para lactentes e crianças pequenas |
| Elevado teor de ácidos e elevado teor de água (*) | Produtos de citrinos | |
| «Produtos difíceis ou únicos» (**) | | Pólen e produtos à base de pólen, suplementos alimentares, infusões de plantas (produto seco), chá (produto seco) Especiarias, alcaçuz |
| Elevado teor de açúcar, baixo teor de água | Frutos secos | Figos, uvas, passas, sultanas, mel |
| Leite e produtos lácteos | Leite Queijo Produtos lácteos (por exemplo, leite em pó) | Leite de vaca, ovelha e búfala Leite de vaca e de ovelha Iogurte, natas |

(*) Se for utilizado um tampão para estabilizar as alterações do pH durante a fase da extração, este grupo de produtos pode ser fundido num só grupo de produtos com «Elevado teor de água».

(**) Os «produtos difíceis ou únicos» apenas precisam de ser plenamente validados se forem frequentemente analisados. Se forem analisados apenas ocasionalmente, a validação pode ser reduzida a um mero controlo dos níveis declarados utilizando extratos em branco enriquecidos.

Quadro 3

Valor t em teste unicaudal para uma percentagem de 5 % de falsos negativos

| Graus de liberdade | Número de réplicas | Valor 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. Requisitos para métodos de rastreio qualitativos (métodos de que não resultam valores numéricos)

Vários organismos de normalização (p. ex., AOAC, ISO) ocupam-se atualmente da elaboração de orientações de validação para métodos de testes binários. A AOAC elaborou uma orientação para a validação de métodos de testes binários. O presente documento pode ser considerado como o estado atual da técnica no domínio da validação de métodos de testes binários. Por conseguinte, os métodos que dão resultados binários (p. ex., inspeção visual de uma tira reagente) devem ser validados de acordo com as orientações da AOAC International «Guidelines for Validation of Qualitative Binary Chemistry Methods» ⁽²⁾ (Orientações relativas à validação de métodos de análise química qualitativa com resposta binária).

No entanto, podem ser utilizadas outras orientações de validação reconhecidas, como a abordagem prevista na norma ISO/TS 23758:2021 | IDF/RM 251 «Guidelines for the validation of qualitative screening methods for the detection of residue of veterinary drugs in milk and milk products» (Orientações relativas à validação de métodos de triagem qualitativos para a deteção de resíduos de medicamentos veterinários no leite e em produtos lácteos).

4.3. Estimativa da incerteza de medição, cálculo da recuperação e registo dos resultados ⁽³⁾

4.3.1. Métodos de confirmação

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

⁽³⁾ Informações mais detalhadas sobre os procedimentos destinados a estimar a incerteza de medição e a avaliar a recuperação podem ser consultados em «Report on the relationship between analytical results, measurement uncertainty, recovery factors and the provisions of EU food and feed legislation» (Relatório sobre a relação entre os resultados analíticos, a incerteza de medição, os fatores de recuperação e as disposições da legislação da EU em matéria de géneros alimentícios e alimentos para animais). https://food.ec.europa.eu/system/files/2016-10/cs_contaminants_sampling_analysis-report_2004_en.pdf

O resultado analítico deve ser registado do seguinte modo:

- a) Corrigido em função da recuperação, quando apropriado e pertinente, indicando os casos em que foi corrigido. A taxa de recuperação deve ser citada, a menos que a correção intrínseca de enviesamento faça parte do procedimento. Se a taxa de recuperação se situar entre 90 % e 110 % não é necessário efetuar a correção;
- b) Como « $x \pm U$ », em que « x » é o resultado analítico e « U » é a incerteza de medição expandida analítica, utilizando um fator de cobertura de 2, que permite obter um nível de confiança de cerca de 95 %.

Como possibilidade, pode ser comunicada uma incerteza de medição expandida por defeito de 50 %, desde que o laboratório cumpra todos os requisitos de precisão especificados no ponto 4.2. Um laboratório individual pode demonstrar o que precede satisfazendo os critérios de repetibilidade (RSD_r) e de reprodutibilidade intralaboratorial (RSD_{WR}), juntamente com uma participação bem-sucedida em programas de testes de proficiência (a menos que não esteja disponível um programa de testes de proficiência adequado), dado que um valor- z médio de $|z| \leq 2$ demonstra que a reprodutibilidade (RSD_R) exigida é cumprida (com base num desvio-padrão alvo de 25 %).

Caso o teor máximo tenha sido fixado para a soma das toxinas, devem ser comunicados os resultados analíticos de todas as toxinas individuais.

A correção da recuperação, se aplicável, deve ser efetuada para cada uma das toxinas individuais antes da soma das concentrações.

Para verificação da conformidade com o teor máximo (soma), deve ser aplicada uma abordagem de limite inferior, o que significa que os resultados das toxinas individuais que são $< LOQ$ devem ser substituídos por zero para o cálculo da soma.

As presentes regras de interpretação do resultado analítico, tendo em vista a aceitação ou rejeição do lote, aplicam-se ao resultado analítico obtido com a amostra para controlo oficial. Nos casos em que se efetuam análises para efeitos de recurso ou de arbitragem, aplicam-se as normas nacionais. Em especial se:

o resultado analítico da amostra de controlo oficial indicar uma não conformidade, para além de qualquer dúvida razoável, tendo em conta a incerteza de medição expandida, e

o resultado analítico da amostra para efeitos de recurso indicar uma não conformidade, mas não para além de qualquer dúvida razoável, com uma maior incerteza de medição expandida do que a do controlo oficial,

o resultado analítico da amostra para efeitos de recurso não pode substituir a não conformidade constatada para a amostra de controlo oficial.

4.3.2. *Métodos de rastreio*

O resultado do rastreio deve ser expresso como conforme ou como suspeito de não conformidade.

«Suspeito de não conformidade» significa que a amostra excede o valor-limite e pode conter a toxina vegetal num teor superior à STC. Qualquer resultado suspeito desencadeia uma análise de confirmação para identificar e quantificar a toxina vegetal de forma inequívoca.

«Conforme» significa que o teor da toxina vegetal na amostra é $< STC$, com um nível de confiança de 95 % (ou seja, existe 5 % de probabilidade de as amostras serem incorretamente registadas como negativas). O resultado analítico é indicado como « $< \text{nível de STC}$ », especificando o nível de STC.

4.4. **Normas de qualidade aplicáveis aos laboratórios**

Os laboratórios têm de cumprir o disposto no artigo 37.º, n.ºs 4 e 5, do Regulamento (UE) 2017/625.