

KOMMISSIONENS FÖRORDNING (EU) nr 519/2014**av den 16 maj 2014****om ändring av förordning (EG) nr 401/2006 vad gäller provtagningsmetoder för stora partier, kryddor och kosttillskott, prestandakriterier för T-2-toxin, HT-2-toxin och citrinin samt screeningmetoder för analys****(Text av betydelse för EES)**

EUROPEISKA KOMMISSIONEN HAR ANTAGIT DENNA FÖRORDNING

med beaktande av fördraget om Europeiska unionens funktionssätt,

med beaktande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 882/2004 av den 29 april 2004 om offentlig kontroll för att säkerställa kontrollen av efterlevnaden av foder- och livsmedelslagstiftningen samt bestämmelserna om djurhälsa och djurskydd ⁽¹⁾, särskilt artikel 11.4, och

av följande skäl:

- (1) I kommissionens förordning (EG) nr 1881/2006 ⁽²⁾ fastställs gränsvärden för vissa mykotoxiner i vissa livsmedel.
- (2) Provtagning är av avgörande betydelse för tillförlitliga resultat när det gäller halten av mykotoxiner, vars förekomst är ojämnt fördelad i ett parti. Det är därför nödvändigt att fastställa kriterier som provtagningsmetoderna bör uppfylla.
- (3) I kommissionens förordning (EG) nr 401/2006 ⁽³⁾ fastställs kriterier för provtagning vid kontroll av mykotoxinhalterna.
- (4) Bestämmelserna om provtagning av kryddor måste ändras för att beakta skillnaderna i partikelstorlek som leder till en ojämn fördelning av mykotoxinföreningar i kryddor. Vidare bör det fastställas bestämmelser om provtagning på stora partier för att säkerställa ett enhetligt genomförande i hela unionen. Dessutom bör det förtydligas vilken provtagningsmetod som ska användas vid provtagning av äppeljuice.
- (5) Prestandakriterierna för T-2- och HT-2-toxin behöver uppdateras för att ta hänsyn till den vetenskapliga och tekniska utvecklingen. Prestandakriterier behöver fastställas för citrinin med beaktande av det gränsvärde som fastställts för citrinin i kosttillskott baserade på ris som fermenterats med röd jäst (*Monascus purpureus*).
- (6) Vid analys av mykotoxiner används screeningmetoder i allt högre grad. Det bör fastställas vilka kriterier som screeningmetoderna måste uppfylla för att kunna användas för lagstadgade ändamål.
- (7) De åtgärder som föreskrivs i denna förordning är förenliga med yttrandet från ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsa.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Förordning (EG) nr 401/2006 ska ändras på följande sätt:

1. Bilaga I ska ändras på följande sätt:

a) I del B ska fotnot 1 ersättas med följande:

”1. Provtagning av sådana partier ska utföras i enlighet med de bestämmelser som fastställs i del L. Anvisningar för provtagning på stora partier ska anges i en vägledning på följande webbplats: <http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/guidance-sampling-final.pdf>

⁽¹⁾ EUT L 165, 30.4.2004, s. 1.⁽²⁾ Kommissionens förordning (EG) nr 1881/2006 av den 19 december 2006 om fastställande av gränsvärden för vissa främmande ämnen i livsmedel (EUT L 364, 20.12.2006, s. 5).⁽³⁾ Kommissionens förordning (EG) nr 401/2006 av den 23 februari 2006 om provtagnings- och analysmetoder för offentlig kontroll av halten av mykotoxiner i livsmedel (EUT L 70, 9.3.2006, s. 12).

Provtagningsreglerna enligt EN ISO 24333:2009 eller *Gafta Sampling Rules 124*, vilka livsmedelsföretagare tillämpar för att säkerställa överensstämmelse med bestämmelserna i lagstiftningen, motsvarar provtagningsbestämmelserna i del L.

Vid provtagning på partier med avseende på fusariumtoxiner motsvarar provtagningsreglerna enligt EN ISO 24333:2009 eller *Gafta Sampling Rules 124*, vilka livsmedelsföretagare tillämpar för att säkerställa överensstämmelse med bestämmelserna i lagstiftningen, provtagningsbestämmelserna i del B.”

b) I del B.2 ska tabell 1 ersättas med följande tabell:

”Tabell 1

Uppdelning av partier i delpartier efter produkt och partiets vikt

| Vara | Partiets vikt (i ton) | Vikt eller antal delpartier | Antal enskilda prover | Samlingsprovets vikt (i kg) |
|---------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Spannmål och spannmålsprodukter | > 300 och < 1 500 | 3 delpartier | 100 | 10 |
| | ≥ 50 och ≤ 300 | 100 ton | 100 | 10 |
| | < 50 | — | 3–100 (*) | 1–10 |

(*) Varierar beroende på partiets vikt – se tabell 2.”

c) I del B.3 ska följande mening läggas till i slutet av första strecksatsen:

”För partier som är större än 500 ton anges antalet enskilda prover i del L.2 i bilaga I.”

d) I del D.2 ska följande mening läggas till efter första meningen:

”Denna provtagningsmetod kan också tillämpas vid offentlig kontroll av de gränsvärden som fastställts för ochratoxin A, aflatoxin B1 och summan aflatoxiner i kryddor bestående av relativt stora partiklar (partikelstorlek jämförbar med jordnötter eller större, t.ex. muskotnöt).”

e) I del E ska första meningen ersättas med följande:

”Denna provtagningsmetod kan tillämpas vid offentlig kontroll av de gränsvärden som fastställts för ochratoxin A, aflatoxin B1 och summan aflatoxiner i kryddor, förutom när det gäller kryddor bestående av relativt stora partiklar (ojämn fördelning av mykotoxinföreningar).”

f) I del I ska rubriken och första meningen ersättas med följande:

”I. PROVTAGNINGSMETOD FÖR FASTA ÄPPELPRODUKTER

Denna provtagningsmetod kan tillämpas vid offentlig kontroll av de gränsvärden som fastställts för patulin i fasta äppelprodukter, inklusive fasta äppelprodukter för spädbarn och småbarn.”

g) I del I.1 andra stycket ska följande meningar utgå:

”För flytande produkter skall partiet blandas så noga som möjligt, manuellt eller maskinellt, omedelbart före provtagningen. Eftersom patulin då kan antas vara jämnt fördelat i partiet räcker det att ta tre enskilda prover per parti till ett samlingsprov.”

h) De nya delarna L och M enligt bilaga I till denna förordning ska läggas till.

2. I bilaga II ska punkterna 4.2 ”Allmänna bestämmelser”, 4.3 ”Särskilda bestämmelser” och 4.4 ”Beräkning av mätosäkerheten, beräkning av utbytesgraden och resultatrapportering” ersättas med texten i bilaga II till denna förordning.

Artikel 2

Denna förordning träder i kraft den tjugonde dagen efter det att den har offentliggjorts i *Europeiska unionens officiella tidning*.

Den ska tillämpas från och med den 1 juli 2014.

Denna förordning är till alla delar bindande och direkt tillämplig i alla medlemsstater.

Utfärdad i Bryssel den 16 maj 2014.

På kommissionens vägnar

José Manuel BARROSO

Ordförande

BILAGA I

"L. PROVTAGNINGSMETOD FÖR MYCKET STORA PARTIER ELLER PARTIER SOM LAGRAS ELLER TRANSPORTERAS PÅ ETT SÄTT SOM INNEBÄR ATT PROVTAGNING PÅ PARTIET ÄR OMÖJLIG

L.1 **Allmänna principer**

Om ett parti lagras eller transporteras på ett sätt som innebär att det inte är möjligt att ta enskilda prover på hela partiet, bör provtagning på sådana partier helst ske när partiet är i flöde (nedan kallad *dynamisk provtagning*).

När det gäller stora lagerlokaler avsedda för lagring av livsmedel bör företagare uppmuntras att installera utrustning i lagerlokalen som möjliggör (automatisk) provtagning på hela det lagrade partiet.

När de provtagningsförfaranden som föreskrivs i denna del tillämpas bör livsmedelsföretagaren eller dennes företrädare informeras om provtagningsförfarandet. Om provtagningsförfarandet ifrågasätts av livsmedelsföretagaren eller dennes företrädare ska livsmedelsföretagaren eller dennes företrädare ge den behöriga myndigheten möjlighet att provta hela partiet på dennes bekostnad.

Det är tillåtet att endast provta en del av partiet, under förutsättning att den provtagna delen utgör minst 10 % av det parti som ska provtas. Om det har konstaterats att en del av ett provtaget livsmedelsparti av samma kategori eller varuslag inte uppfyller unionskraven, ska det antas att ingen del av partiet uppfyller kraven, om inte en ytterligare utförlig bedömning visar att det inte finns några belägg för att resten av partiet inte uppfyller kraven.

De relevanta bestämmelserna, t.ex. det enskilda provets vikt, som föreskrivs i andra delar av denna bilaga är tillämpliga vid provtagning på mycket stora partier eller partier som lagras eller transporteras på ett sätt som innebär att provtagning på partiet är omöjlig.

L.2 **Antal enskilda prover som ska tas på mycket stora partier**

Om de delar av ett parti som ska provtas är stora (> 500 ton) är antalet enskilda prover som ska tas = 100 enskilda prover + $\sqrt{\text{ton}}$. Om partiet däremot är mindre än 1 500 ton och kan delas upp i delpartier enligt tabell 1 i del B, och på villkor att delpartierna kan åtskiljas fysiskt, ska det antal enskilda prover som anges i del B tas.

L.3 **Stora partier som transporteras med fartyg**

L.3.1 *Dynamisk provtagning på stora partier som transporteras med fartyg*

Provtagning på stora partier på fartyg ska helst ske när produkten är i flöde, dvs. dynamisk provtagning.

Provtagningen ska göras per lastrum (enhet som kan separeras fysiskt). Eftersom lastrummen inte töms fullständigt ett efter ett, finns inte längre den ursprungliga fysiska separationen efter att lasten överförs till lagringsanläggningar. Provtagningen kan därför utföras antingen baserat på den ursprungliga fysiska separationen eller baserat på separationen efter överföring till lagringsanläggningarna.

Lossningen av ett fartyg kan pågå i flera dagar. Normalt ska provtagning ske med jämna mellanrum under hela lossningen. Det är dock inte alltid möjligt eller lämpligt att en officiell inspektör är närvarande för provtagning under hela lossningen. Därför är det tillåtet att provta en del av partiet (provtagen del). Antalet enskilda prover bestäms med hänsyn till storleken på den provtagna delen.

Även om det officiella provet tas automatiskt måste en inspektör vara närvarande. Om den automatiska provtagningen utförs med förinställda parametrar som inte kan ändras under provtagningen och de enskilda proven samlas i en förseglad behållare, varigenom eventuella bedrägerier förebyggs, krävs det enbart att en inspektör är närvarande i början av provtagningen, varje gång provbehållaren behöver bytas och i slutet av provtagningen.

L.3.2 *Provtagning på partier som transporteras med fartyg genom stationär provtagning*

Om provtagningen utförs stationärt ska man tillämpa samma förfarande som föreskrivs för lagringsanläggningar (silor) som kan nå ovanifrån (se punkt L.5.1).

Provtagningen ska utföras på den (ovanifrån) åtkomliga delen av partiet/lastrummet. Antalet enskilda prover bestäms med hänsyn till storleken på den provtagna delen.

L.4 Provtagning på stora partier som förvaras i lagerlokaler

Provtagningen ska utföras på den åtkomliga delen av partiet. Antalet enskilda prover bestäms med hänsyn till storleken på den provtagna delen.

L.5 Provtagning på lagringsanläggningar (silor)**L.5.1 Provtagning på silor som (lätt) kan nå ovanifrån**

Provtagningen ska utföras på den åtkomliga delen av partiet. Antalet enskilda prover bestäms med hänsyn till storleken på den provtagna delen.

L.5.2 Provtagning på silor som inte kan nå ovanifrån (slutna silor)**L.5.2.1 Silor som inte kan nå ovanifrån (slutna silor) i storleken > 100 ton**

Livsmedel som lagras i sådana silor kan inte provtas stationärt. När livsmedel i silon måste provtas och det inte finns någon möjlighet att flytta varupartiet ska det därför avtalas med företagaren att denne ska informera inspektören om när silon helt eller delvis kommer att tömmas för att möjliggöra provtagning på livsmedlet när det är i flöde.

L.5.2.2 Silor som inte kan nå ovanifrån (slutna silor) i storleken < 100 ton

I motsats till bestämmelsen i punkt L.1 (provtagen del minst 10 %) innebär provtagningsförfarandet att 50–100 kg överförs till en behållare och att provet tas på den delen. Storleken på samlingsprovet motsvarar hela partiet och antalet enskilda prover står i relation till den mängd livsmedel som överförs från silon till behållaren för provtagning.

L.6 Provtagning på livsmedel i lös vikt i stora slutna containrar

Sådana partier kan ofta enbart provtas när de lossas. Det är i vissa fall omöjligt att lossa vid importstället eller kontrollstationen och därför bör provtagningen ske när sådana containrar lossas. Företagaren måste informera inspektören om tid och plats för lossning av containrarna.

M. PROVTAGNINGSMETOD FÖR KOSTTILLSKOTT BASERADE PÅ RIS SOM FERMENTERATS MED RÖD JÄST (MONASCUS PURPUREUS)

Provtagningsmetoden kan tillämpas vid offentlig kontroll av de gränsvärden som fastställts för citrinin i kosttillskott baserade på ris som fermenterats med röd jäst (*Monascus purpureus*).

Provtagningsförfarande och provstorlek

Provtagningsförfarandet grundas på antagandet att kosttillskotten baserade på ris som fermenterats med röd jäst (*Monascus purpureus*) saluförs i detaljhandelsförpackningar som normalt innehåller 30–120 kapslar per förpackning.

| Partistorlek (antal detaljhandelsförpackningar) | Antal detaljhandelsförpackningar som ska tas provtas | Provstorlek |
|---|---|--|
| 1–50 | 1 | Alla kapslar |
| 51–250 | 2 | Alla kapslar |
| 251–1 000 | 4 | Från varje detaljhandelsförpackning som provtas, hälften av kapslarna |
| > 1 000 | 4 + 1 detaljhandelsförpackning/1 000 förpackningar, dock högst 25 förpackningar | ≤ 10 detaljhandelsförpackningar: från varje förpackning, hälften av kapslarna > 10 detaljhandelsförpackningar: från varje förpackning tas samma antal kapslar så att storleken på det resulterande provet motsvarar antalet i 5 detaljhandelsförpackningar” |

BILAGA II

4.2 Allmänna krav

Konfirmerande analysmetoder som används för kontroll av livsmedel måste uppfylla kraven i punkterna 1 och 2 i bilaga III till förordning (EG) nr 882/2004.

4.3 Särskilda krav

4.3.1 Särskilda krav för konfirmeringsmetoder

4.3.1.1 Prestandakriterier

Det rekommenderas att fullt validerade konfirmeringsmetoder (dvs. metoder som validerats genom kollaborativ avprövning med relevanta matriser) används, i förekommande fall och om sådana finns tillgängliga. Andra lämpliga validerade konfirmeringsmetoder (t.ex. metoder som validerats internt med relevanta matriser som tillhör den givna varugruppen) får också användas, under förutsättning att de uppfyller prestandakriterierna i följande tabeller.

Vid validering av internt validerade metoder ska helst ett certifierat referensmaterial ingå.

a) Prestandakriterier för aflatoxiner

| Kriterium | Koncentrationsintervall | Rekommenderat värde | Högsta tillåtna värde |
|--|-------------------------|----------------------------------|---|
| Blankprov | Alla | Försumbart | - |
| Utbyte – aflatoxin M1 | 0,01–0,05 µg/kg | 60–120 % | |
| | > 0,05 µg/kg | 70–110 % | |
| Utbyte – aflatoxiner B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ | < 1,0 µg/kg | 50–120 % | |
| | 1–10 µg/kg | 70–110 % | |
| | > 10 µg/kg | 80–110 % | |
| Reproducerbarhet (RSD _R) | Alla | Enligt Horwitz ekvation (*) (**) | 2 × värdet enligt Horwitz ekvation (*) (**) |

Repetierbarheten RSD_r kan beräknas som 0,66 ggr reproducerbarheten RSD_R vid den givna koncentrationen.

Anm.:

- Värdena gäller både för B₁ och för summan av B₁ + B₂ + G₁ + G₂.
- Om summan av de enskilda aflatoxinerna B₁ + B₂ + G₁ + G₂ ska rapporteras, ska varje enskild aflatoxins respons på analysmetoden vara antingen känd eller likvärdig.

b) Prestandakriterier för ochratoxin A

| Halt µg/kg | Ochratoxin A | | |
|---------------|--------------------|--------------------|----------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Utbyte % |
| < 1 | ≤ 40 | ≤ 60 | 50–120 |
| ≥ 1 | ≤ 20 | ≤ 30 | 70–110 |

c) Prestandakriterier för patulin

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

d) Prestandakriterier för deoxynivalenol

| Halt µg/kg | Deoxynivalenol | | |
|---------------|--------------------|--------------------|----------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Utbyte % |
| > 100–≤ 500 | ≤ 20 | ≤ 40 | 60–110 |
| > 500 | ≤ 20 | ≤ 40 | 70–120 |

e) Prestandakriterier för zearalenon

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

f) Prestandakriterier för fumonisin B₁ och B₂, var för sig

| Halt µg/kg | Fumonisin B ₁ och B ₂ , var för sig | | |
|---------------|---|--------------------|----------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Utbyte % |
| ≤ 500 | ≤ 30 | ≤ 60 | 60–120 |
| > 500 | ≤ 20 | ≤ 30 | 70–110 |

g) Prestandakriterier för T-2- och HT-2-toxin, var för sig

| Halt µg/kg | T-2- och HT-2-toxin, var för sig | | |
|---------------|----------------------------------|--------------------|----------|
| | RSD _r % | RSD _R % | Utbyte % |
| 15–250 | ≤ 30 | ≤ 50 | 60–130 |
| > 250 | ≤ 25 | ≤ 40 | 60–130 |

h) Prestandakriterier för citrinin

| Halt µg/kg | Citrinin | | | |
|---------------|-------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|----------|
| | RSD _r % | Rekommenderad RSD _R % | Högsta tillåtna RSD _R % | Utbyte % |
| Alla | 0,66 x RSD _R | Enligt Horwitz ekvation (*) (**) | 2 × värdet enligt Horwitz ekvation | 70–120 |

i) Anmärkningar till prestationskriterierna för mykotoxiner

- De använda metodernas detektionsgränser behöver inte anges eftersom precisionsvärdena för de givna koncentrationerna anges.
- Precisionsvärdena ska beräknas med Horwitz ekvation, särskilt med Horwitz ursprungliga ekvation (för koncentrationer $1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138$)(* och Horwitz ändrade ekvation (för koncentrationer $C < 1,2 \times 10^{-7}$)(**).

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

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

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

(**) Horwitz ändrade ekvation för koncentrationer $C < 1,2 \times 10^{-7}$:

$$RSD_R = 22 \%$$

(Ref: M. Thompson, *Analyst*, 2000, 125, s. 385–386.)

där

— RSD_R är den relativa standardavvikelsen beräknad utifrån resultat som erhållits under reproducerbara förhållanden $[(sR) \times 100]$,

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

Detta är en generell precisionsekvation som befunnits vara oberoende av analyten och matrisen och som utslutande är avhängig av koncentrationen, när det gäller de flesta rutinmetoder för analys.

4.3.1.2 Tillvägagångssätt för att bedöma ändamålsenlighet

För internt validerade metoder kan ett alternativt tillvägagångssätt användas för att bedöma deras ändamålsenlighet(***), dvs. om de är lämpliga för offentlig kontroll. För att vara lämplig för offentlig kontroll måste metoden kunna ge resultat med en standardmätosäkerhet (u) som är lägre än maximal standardmätosäkerhet beräknad enligt följande formel:

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

där

- Uf är maximal standardmätosäkerhet ($\mu\text{g}/\text{kg}$),
- LOD är metodens detektionsgräns ($\mu\text{g}/\text{kg}$),
- α är en konstant numerisk faktor som ska användas och som beror på värdet av C. Det framgår av nedanstående tabell vilka värden som ska användas,
- C är den givna koncentrationen ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

Om analysmetoden ger resultat med en mätosäkerhet som är lägre än maximal standardosäkerhet, ska metoden anses vara lika lämplig som en metod som uppfyller prestandakriterierna i punkt 4.3.1.1.

Tabell

Numeriska värden som ska användas för α i formeln ovan och som beror på den givna koncentrationen

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

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

4.3.2 Särskilda krav för semikvantitativa screeningmetoder

4.3.2.1 Tillämpningsområde

Tillämpningsområdet omfattar bioanalytiska metoder baserade på antigenigenkänning eller receptorbindning (t.ex. ELISA, mätstickor, *lateral flow devices*, immunosensorer) och fysikalisk-kemiska metoder baserade på kromatografi eller direkt detektion med masspektrometri (t.ex. *ambient MS*). Även andra metoder (t.ex. tunnslikt-kromatografi) kan omfattas, förutsatt att de erhållna signalerna är direkt kopplade till de givna mykotoxiner och gör det möjligt att tillämpa principen nedan.

De särskilda kraven gäller för de metoder som ger mätresultat i form av ett numeriskt värde, t.ex. en (relativ) respons från en läsare för mätstickor eller en LC-MS-signal, och där normal statistik kan användas.

Kraven gäller inte för de metoder som inte ger numeriska värden (t.ex. enbart en linje som antingen syns eller inte), utan de kräver andra valideringsmetoder. Särskilda krav för dessa metoder anges i punkt 4.3.3.

I detta dokument beskrivs förfaranden för validering av screeningmetoder genom kollaborativ avprövning, för kontroll av prestandan hos en metod som validerats genom kollaborativ avprövning och för validering av en screeningmetod genom intern validering.

4.3.2.2 Terminologi

Målkoncentration för screening (STC): den givna koncentrationen för påvisande av mykotoxiner i ett prov. När syftet är att kontrollera överensstämmelse med föreskrivna gränsvärden motsvarar STC det tillämpliga gränsvärdet. För andra ändamål eller om inget gränsvärde har fastställts är STC fördefinierat av laboratoriet.

Screeningmetod: metod som används för att påvisa prover med mykotoxinhalten som överstiger målkoncentrationen för screening (STC), med en given konfidensgrad. För mykotoxinscreening anses en konfidensgrad på 95 % vara ändamålsenlig. Resultatet från screeninganalysen är antingen 'negativt' eller 'misstänkt'. Screeningmetoder ska ge en kostnadseffektiv och hög analyskapacitet och därigenom öka chanserna att upptäcka nya fall som medför hög exponering och hälsorisker för konsumenterna. Dessa metoder ska vara baserade på bioanalytiska metoder, LC-MS-metoder eller HPLC-metoder. Provresultat som överskrider brytpunkten ska kontrolleras genom en fullständig ny analys av det ursprungliga provet med en konfirmeringsmetod.

Negativt prov: mykotoxinhalten i provet är lägre än STC med en konfidensgrad på 95 % (dvs. det finns en 5 % risk att provet felaktigt kommer att redovisas som negativt).

Falskt negativt prov: mykotoxinhalten i provet är högre än STC men provet har identifierats som negativt.

Misstänkt prov (positivt screeningresultat): provet överskrider brytpunkten och kan innehålla mykotoxin i en halt som är högre än STC. Varje misstänkt resultat leder till en konfirmerande analys för en entydig identifiering och kvantifiering av mykotoxin.

Falskt misstänkt prov: ett negativt prov som har identifierats som misstänkt.

Konfirmeringsmetoder: metoder för att få fram fullständig eller kompletterande information som möjliggör en entydig identifiering och kvantifiering av mykotoxin vid den givna halten.

Brytpunkt: den respons, signal eller koncentration som erhålls med screeningmetoden och över vilken provet klassificeras som misstänkt. Brytpunkten fastställs under valideringen med beaktande av variabiliteten hos mätresultatet.

Negativ kontroll (blankprov för matris): ett prov som anses vara fritt ⁽¹⁾ från det mykotoxin som screeningen gäller, t.ex. genom en tidigare bestämning med en konfirmeringsmetod med tillräcklig sensitivitet. Om det inte går att få fram några blankprover kan man använda material med en så låg mykotoxinhalt som möjligt, så länge som halten inte förhindrar att man kan dra slutsatsen att screeningmetoden är ändamålsenlig.

Positiv kontroll: prov som innehåller mykotoxinet vid målkoncentrationen för screening (STC), t.ex. ett certifierat referensmaterial, ett material med känt innehåll (t.ex. analysmaterial från en kompetensprövning) eller material som blivit tillräckligt karakteriserat med en konfirmeringsmetod. Om det inte går att få fram ett sådant prov kan man använda en blandning av prover med olika föroreningshalter eller ett spikat prov som beretts i laboratoriet och blivit tillräckligt karakteriserat, förutsatt att det kan bevisas att föroreningshalten har kontrollerats.

4.3.2.3 Valideringsförfarande

Syftet med valideringen är att demonstrera screeningmetodens ändamålsenlighet. Detta görs genom bestämning av brytpunkten och andelen falskt negativa och falskt misstänkta prover. I dessa två parametrar ingår prestandaegenskaper såsom sensitivitet, selektivitet och precision.

Screeningmetoder kan valideras genom kollaborativ avprövning eller intern validering. Om data från en kollaborativ avprövning finns tillgängliga för en viss kombination av mykotoxin/matris/STC räcker det med en kontroll av metodens prestanda i ett laboratorium som använder metoden.

4.3.2.3.1 Inledande validering genom intern validering

Mykotoxiner

Valideringen ska utföras för varje enskilt mykotoxin som omfattas av tillämpningsområdet. När det gäller bioanalytiska metoder som ger en kombinerad respons för en viss mykotoxingrupp (t.ex. aflatoxinerna B₁, B₂, G₁ och G₂ eller fumonisiner B₁ och B₂) måste metodens tillämplighet demonstreras och analysens begränsningar anges i tillämpningsområdet för metoden. Önskad korsreaktivitet (t.ex. DON-3-glykosid, 3-acetyl-DON eller 15-acetyl-DON när det gäller immunobaserade metoder för deoxynivalenol) anses inte öka andelen falskt negativa prover för målmykotoxinerna, men kan öka andelen falskt misstänkta prover. Denna oönskade ökning kan minskas med konfirmerande analyser för entydig identifiering och kvantifiering av mykotoxinerna.

Matriser

En inledande validering bör utföras för varje vara eller, om det är känt att metoden är tillämplig på flera varor, för varje varugrupp. Om metoden är tillämplig på flera varor ska en representativ och relevant vara väljas från denna grupp (se tabell A).

Provserie

Det minsta antalet olika prover som krävs för validering är 20 homogena negativa kontrollprover och 20 homogena positiva kontrollprover som innehåller mykotoxinet vid målkoncentrationen för screeningen (STC) och som analyserats under förhållanden med intermediär precision (RSD_{Ri}) över 5 olika dagar. Om så önskas kan ytterligare serier med 20 prover innehållande mykotoxinet vid andra halter läggas till valideringsserien för att få kunskap om i vilken utsträckning metoden kan skilja mellan olika mykotoxinkoncentrationer.

Koncentration

För varje STC som ska användas rutinmässigt måste en validering utföras.

4.3.2.3.2 Inledande validering genom kollaborativ avprövning

Validering genom kollaborativ avprövning ska utföras i enlighet med ett internationellt vedertaget protokoll för kollaborativ avprövning (t.ex. ISO 5725:1994 eller IUPAC *International Harmonised Protocol*) som kräver att giltiga data från minst åtta olika laboratorier ingår. Förutom detta är den enda skillnaden jämfört med interna valideringar att de nödvändiga proverna per vara/halt (> 20) kan fördelas jämt över de deltagande laboratorierna, dock minst två prover per laboratorium.

⁽¹⁾ Prover anses vara fria från analyten om den halt som finns i provet inte överskrider 1/5 av STC. Om halten kan kvantifieras med en konfirmeringsmetod måste halten beaktas vid valideringen.

4.3.2.4 Bestämning av brytpunkten och andelen falskt misstänkta resultat för blankprover

De (relativa) responserna för de negativa och positiva kontrollproverna används som grund för beräkningen av de nödvändiga parametrarna.

Screeningmetoder med en respons som är proportionell till mykotoxinkoncentrationen

För screeningmetoder med en respons som är proportionell till mykotoxinkoncentrationen gäller följande:

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

R_{STC} = medelrespons för de positiva kontrollproverna (vid STC)

t-värde: ensidigt t-värde för en andel av falskt negativa resultat på 5 % (se tabell B)

SD_{STC} = standardavvikelse Screeningmetoder med en respons som är omvänt proportionell till mykotoxinkoncentrationen

För screeningmetoder med en respons som är omvänt proportionell till mykotoxinkoncentrationen gäller följande:

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

Genom att använda detta specifika t-värde för att fastställa brytpunkten blir andelen falskt negativa resultat automatiskt 5 %.

Bedömning av ändamålsenligheten

Resultat från de negativa kontrollproverna används för att uppskatta den motsvarande andelen falskt misstänkta resultat. t-värdet beräknas så att det motsvarar ett fall när ett negativt kontrollprov är högre än brytpunkten och därmed felaktigt klassificeras som ett misstänkt prov:

t-värde = $(\text{brytpunkt} - \text{medel}_{\text{blank}}) / SD_{\text{blank}}$ för screeningmetoder med en respons som är proportionell till mykotoxinkoncentrationen,

eller

t-värde = $(\text{medel}_{\text{blank}} - \text{brytpunkt}) / SD_{\text{blank}}$ för screeningmetoder med en respons som är omvänt proportionell till mykotoxinkoncentrationen.

Från det erhållna t-värdet, som baserats på frihetsgraderna beräknade utifrån antalet experiment, kan sannolikheten för falskt misstänkta prover för en ensidig fördelning antingen beräknas (t.ex. med funktionen 'TDIST' i ett kalkylprogram) eller fås från en tabell över t-fördelning.

Motsvarande värde för den ensidiga t-fördelningen anger andelen falskt misstänkta resultat.

Denna princip beskrivs mer ingående med exempel i *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, DOI: 10.1007/s00216-013-6922-1.

4.3.2.5 Utvidgning av tillämpningsområdet för metoden

4.3.2.5.1 Utvidgning av tillämpningsområdet till andra mykotoxiner

När nya mykotoxiner läggs till i tillämpningsområdet för en befintlig screeningmetod krävs en fullständig validering för att demonstrera metodens lämplighet.

4.3.2.5.2 Utvidgning till andra varor

Om screeningmetoden är känd för att eller förväntas vara tillämplig på andra varor ska metodens giltighet för dessa andra varor kontrolleras. Så länge som den nya varan tillhör en varugrupp (se tabell A) för vilken en inledande validering redan har utförts, räcker det med en begränsad ytterligare validering. För en sådan validering ska 10 homogena negativa kontrollprover och 10 homogena positiva kontrollprover (vid STC) analyseras under förhållanden med intermediär precision. Alla de positiva kontrollproverna ska vara över brytpunkten. Om detta kriterium inte uppfylls krävs en fullständig validering.

4.3.2.6 Kontroll av metoder som redan validerats genom kollaborativ avprövning

För screeningmetoder som redan har validerats genom en kollaborativ avprövning ska metodens prestanda kontrolleras. För en sådan kontroll ska 6 negativa kontrollprover och 6 positiva kontrollprover (vid STC) analyseras. Alla de positiva kontrollproverna ska vara över brytpunkten. Om detta kriterium inte uppfylls måste laboratoriet utföra en orsaksanalys för att ta reda på varför det inte kan upprepa resultaten från den kollaborativa avprövningen. Först efter att korrigerande åtgärder vidtagits ska laboratoriet återigen kontrollera metodens prestanda i sitt laboratorium. Om laboratoriet inte lyckas upprepa resultaten från den kollaborativa avprövningen måste det fastställa sin egen brytpunkt i en fullständig intern validering.

4.3.2.7 Kontinuerlig metodkontroll/löpande metodvalidering

Efter den inledande valideringen erhålls ytterligare valideringsdata genom att inkludera minst två positiva kontrollprover i varje provomgång som screenas. Det första positiva kontrollprovet ska vara ett känt prov (t. ex. ett prov som använts vid den inledande valideringen), medan det andra ska vara ett prov från en annan vara från samma varugrupp (om endast en vara analyseras används i stället ett annat prov av den varan). Det är frivilligt att ta med ett negativt kontrollprov. Resultaten från de två positiva kontrollproverna läggs till den befintliga valideringsserien.

Minst en gång om året ska brytpunkten fastställas på nytt och metoden utvärderas på nytt. Den kontinuerliga metodkontrollen har flera olika syften:

- Kontrollera kvaliteten på den provomgång som screenas.
- Ge information om metodens robusthet vid de förhållanden som gäller i det laboratorium som använder metoden.
- Motivera att metoden kan användas för olika varor.
- Möjliggöra anpassning av brytpunkterna om de förändras gradvis över tiden.

4.3.2.8 Valideringsrapport

Valideringsrapporten ska innehålla följande:

- Ett uttalande om STC.
- Ett uttalande om den erhållna brytpunkten.

Anm.: Brytpunkten måste ha samma antal signifikanta siffror som STC. Numeriska värden som används för att beräkna brytpunkten måste ha minst en signifikant siffra mer än STC.

- Ett uttalande om andelen falskt misstänkta prover.
- Ett uttalande om hur de falskt misstänkta proverna uppkom.

Anm.: Uttalandet om den beräknade andelen falskt misstänkta prover anger om metoden är ändamålsenlig eftersom den anger antalet blankprover (eller prov med låg föroreningshalt) som ska kontrolleras.

Tabell A

Varugrupper för validering av screeningmetoder

| Varugrupper | Varukategorier | Typiska representativa varor i kategorin |
|----------------|---|--|
| Hög vattenhalt | Fruktjuicer | Äppeljuice, druvjuice |
| | Alkoholhaltiga drycker | Vin, öl, cider |
| | Rot- och knölgrönsaker | Färsk ingefära |
| | Puréer baserade på sädeslag eller frukt och bär | Puréer avsedda för spädbarn och småbarn |

| Varugrupper | Varukategorier | Typiska representativa varor i kategorin |
|---|-------------------------------------|---|
| Hög oljehalt | Trädnötter | Valnöt, hasselnöt, kastanj |
| | Oljeväxtfrön och produkter därav | Raps, solros, bomullsfrö, sojaböner, jordnötter, sesam osv. |
| | Oljeväxtfrukter och produkter därav | Oljor och pastor (t.ex. jordnötssmör, tahini) |
| Hög stärkelsehalt och/eller hög proteinhalt och låg vatten- och fett-halt | Spannmål och produkter därav | Vete, råg, korn, majs, ris, havre, fullkornsbröd, vitt bröd, kex, frukostcerealier, pasta |
| | Dietprodukter | Torkade pulver för beredning av livsmedel för spädbarn och småbarn |
| Hög syrahalt och hög vattenhalt (*) | Citrusprodukter | |
| 'Svåra eller unika varor' (**) | | Kakaoböner och produkter därav, kopra och produkter därav, kaffe, te, kryddor, lakrits |
| Hög sockerhalt och låg vattenhalt | Torkade frukter och bär | Fikon, russin, korinter, sultanrussin |
| Mjolk och mjölkprodukter | Mjolk | Ko-, get- och buffelmjolk |
| | Ost | Ost, getost |
| | Mjolkprodukter (t.ex. mjölkpulver) | Yoghurt, grädde |

(*) Om en buffert används för att stabilisera pH-värdet vid extraktionen kan denna varugrupp slås samman med varugruppen 'Hög vattenhalt' till en varugrupp.

(**) 'Svåra eller unika varor' bör endast bli fullständigt validerade om de analyseras ofta. Om de endast analyseras ibland kan valideringen minskas till att bara omfatta kontroll av rapporteringshalterna för spikade blankextrakt.

Tabell B

Ensidigt t-värde för en andel av falskt negativa resultat på 5 %

| Frihetsgrader | Antal replikat | t-värde (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 |

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

4.3.3 Krav för kvalitativa screeningmetoder (metoder som inte ger numeriska värden)

Utarbetandet av riktlinjer för validering av binära analysmetoder pågår för närvarande hos flera standardiseringsorgan (t.ex. AOAC, ISO). Nyligen har AOAC utarbetat sådana riktlinjer. Dessa kan ses som vetenskapens nuvarande ståndpunkt inom området. Metoder som ger binära resultat (t.ex. visuell avläsning av mätstickor) bör därför valideras enligt dessa riktlinjer, se

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

4.4 Beräkning av mätosäkerheten, beräkning av utbytesgraden och rapportering av resultat ⁽¹⁾

4.4.1 Konfirmeringsmetoder

Analysresultatet ska rapporteras på följande sätt:

- Korrigerat för utbyte, med uppgift om hur stort utbytet är. Korrigeringen är inte nödvändig om utbytet är 90–110 %.
- Som $x \pm U$, där x är analysresultatet och U den utvidgade mätosäkerheten beräknad med en täckningsfaktor på 2, vilket ger en konfidensgrad på cirka 95 %.

Då det gäller livsmedel av animaliskt ursprung kan mätosäkerheten också beaktas genom att fastställa beslutsgränsen (CC₀) i enlighet med kommissionens beslut 2002/657/EG ⁽²⁾ (punkt 3.1.2.5 i bilaga I – i fråga om ämnen för vilka det fastställts en tillåten halt).

Om analysresultatet är betydligt lägre än gränsvärdet (> 50 %) eller mycket högre än gränsvärdet (dvs. > fem ggr gränsvärdet), och förutsatt att lämpliga kvalitetsförfaranden använts och att analysen endast syftar till att kontrollera överensstämmelse med lagstiftningen, får analysresultatet rapporteras utan korrigering för utbyte. Utbyte och mätosäkerhet behöver inte anges i dessa fall.

⁽¹⁾ Närmare beskrivningar av hur mätosäkerheten och utbytesgraden ska beräknas finns i rapporten *Report on the relationship between analytical results, measurement uncertainty, recovery factors and the provisions of EU food and feed legislation* – http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/report-sampling_analysis_2004_en.pdf

⁽²⁾ Kommissionens beslut 2002/657/EG av den 14 augusti 2002 om genomförande av rådets direktiv 96/23/EG avseende analysmetoder och tolkning av resultat (EGT L 221, 17.8.2002, s. 8).

Dessa tolkningsregler gäller för det analysresultat som erhålls från provet för offentlig kontroll då det gäller att godkänna eller underkänna ett parti. När det gäller analyser för överklagande eller referensändamål gäller nationella regler.

4.4.2 *Screeningmetoder*

Resultaten från screeningen ska anges som överensstämmande eller som misstänkt icke-överensstämmande.

Misstänkt icke-överensstämmande: provet överskrider brytpunkten och kan innehålla mykotoxinet i en halt som är högre än STC. Varje misstänkt resultat leder till en konfirmerande analys för en entydig identifiering och kvantifiering av mykotoxinet.

Överensstämmande: mykotoxinhalten i provet är lägre än STC med en konfidensgrad på 95 % (dvs. det finns en 5 % risk att provet felaktigt kommer att redovisas som negativt). Analysresultatet rapporteras som 'lägre halt än STC' och värdet på STC anges."
