Tento dokument je třeba brát jako dokumentační nástroj a instituce nenesou jakoukoli odpovědnost za jeho obsah

►**B**

SMĚRNICE KOMISE 2002/70/ES

ze dne 26. července 2002,

kterou se stanoví požadavky pro určení obsahu dioxinů a dioxinům podobných PCB v krmivech

(Text s významem pro EHP)

(Úř. věst. L 209, 6.8.2002, s. 15)

Ve znění:

		Úřední věstník		
		Č.	Strana	Datum
►**M1**	Směrnice Komise 2005/7/ES ze dne 27. ledna 2005	L 27	41	29.1.2005

▼B

SMĚRNICE KOMISE 2002/70/ES

ze dne 26. července 2002,

kterou se stanoví požadavky pro určení obsahu dioxinů a dioxinům podobných PCB v krmivech

(Text s významem pro EHP)

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

s ohledem na Smlouvu o založení Evropského společenství,

s ohledem na směrnici Rady 70/373/EHS ze dne 20. července 1970 o zavedení metod odběru vzorků a analytických metod Společenství pro úřední kontrolu krmiv [1], naposledy pozměněnou Aktem o přistoupení Rakouska, Finska a Švédska, a zejména na článek 2 uvedené směrnice,

vzhledem k těmto důvodům:

(1) Směrnice Rady 1999/29/ES ze dne 22. dubna 1999 o nežádoucích látkách a produktech ve výživě zvířat [2], naposledy pozměněná směrnicí 2001/102/ES [3], stanoví maximální obsah dioxinů a furanů v některých krmných surovinách a krmivech.

(2) Je nezbytné stanovit požadavky, jimž by měly vyhovovat analytické metody, aby bylo v laboratořích zajištěno používání analytických metod s porovnatelnou účinností.

(3) Předpisy pro odběr vzorků a analytické metody byly stanoveny na základě současných znalostí a mohou být přizpůsobeny tak, aby braly v úvahu pokrok ve vědecko-technických znalostech.

(4) Ustanovení této směrnice se týkají výhradně analýzy dioxinů a dioxinům podobných PCB za účelem provádění směrnice 2001/102/ES, kterou se mění směrnice 1999/29/ES o nežádoucích látkách a produktech ve výživě zvířat.

(5) Měl by být uplatněn aktivní přístup za účelem získání vyčerpávajících a spolehlivých údajů o přítomnosti dioxinům podobných PCB v krmných surovinách a krmivech. Měly by proto být stanoveny požadavky na analytické metody používané pro určování dioxinům podobných PCB v krmných surovinách a krmivech.

(6) Mohla by být použita ověřená, široce uznávaná, všeobecně platná a vysoce účinná screeningová analytická metoda pro výběr vzorků s významným obsahem dioxinů. Obsah dioxinů v těchto vzorcích je třeba určit konfirmační analytickou metodou. Je proto vhodné stanovit požadavky na konfirmační analytické metody a na screeningovou metodu.

(7) Opatření této směrnice jsou v souladu se stanoviskem Stálého výboru pro potravinový řetězec a zdraví zvířat,

PŘIJALA TUTO SMĚRNICI:

---

[1] Úř. věst. L 170, 3.8.1970, s. 2.
[2] Úř. věst. L 115, 4.5.1999, s. 32.
[3] Úř. věst. L 6, 10.1.2002, s. 45.

▼B

Článek 1

Členské státy zajistí, aby odběr vzorků pro úřední kontrolu obsahu dioxinů a furanů a pro určování obsahu dioxinům podobných PCB v krmivech se prováděl v souladu s metodami popsanými v příloze I.

Článek 2

Členské státy zajistí, aby příprava vzorků a analytické metody používané pro úřední kontrolu obsahu dioxinů a furanů a pro určování obsahu dioxinům podobných PCB v krmivech vyhovovaly kritériím popsaným v příloze II.

Článek 3

Členské státy uvedou v platnost právní a správní předpisy nezbytné pro dosažení souladu s touto směrnicí nejpozději do 28. února 2003. Neprodleně o nich uvědomí Komisi.

Tato opatření přijatá členskými státy musí obsahovat odkaz na tuto směrnici nebo musí být takový odkaz učiněn při jejich úředním vyhlášení. Způsob odkazu si stanoví členské státy.

Článek 4

Tato směrnice vstupuje v platnost dvacátým dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropských společenství*.

Článek 5

Tato směrnice je určena členským státům.

▼B

PŘÍLOHA I

METODY ODBĚRU VZORKŮ PRO ÚŘEDNÍ KONTROLU OBSAHU DIOXINŮ (PCDD/PCDF) A URČOVÁNÍ DIOXINŮM PODOBNÝCH PCB V NĚKTERÝCH KRMIVECH

▼M1

1. **Účel a oblast působnosti**

Vzorky určené pro úřední kontrolu obsahu dioxinů (PCDD/PCDF), jakož i pro určení obsahu PCB s dioxinovým efektem ([1]) v krmivech, se odebírají v souladu se směrnicí 76/371/EHS. Musí se použít kvantitativní požadavky týkající se kontroly látek nebo produktů obsažených rovnoměrně v krmivech podle bodu 5.A přílohy směrnice 76/371/EHS. Takto získané souhrnné vzorky se považují za reprezentativní pro vzorkované partie nebo subpartie, z nichž jsou odebrány. Dodržení maximálních hodnot stanovených ve směrnici Evropského parlamentu a Rady 2002/32/ES ([2]) se posuzuje na základě obsahů určených v laboratorních vzorcích.

2. **Soulad partie nebo subpartie se specifikací**

Partie se uznává, jestliže výsledek jediné analýzy nepřekročí příslušný maximální obsah stanovený ve směrnici 2002/32/ES při zohlednění nejistoty měření.

Partie nesplňuje maximální obsah stanovený ve směrnici 2002/32/ES, jestliže výsledek analýzy potvrzený druhou analýzou a vypočtený jako průměr nejméně dvou nezávislých určení při zohlednění nejistoty měření bez jakýchkoli pochyb překročí maximální obsah.

Nejistotu měření lze zohlednit jedním z těchto způsobů:

— započítáním rozšířené nejistoty při použití faktoru pokrytí 2, který odpovídá hladině spolehlivosti asi 95 %,

([1]) Tabulka PCB s dioxinovým efektem

Kongener	Hodnota TEF	Kongener	Hodnota TEF
Dibenzo-p-dioxin **(„PCDD“)**			
2,3,7,8-TCDD	1	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01
1,2,3,7,8-PeCDD	1	OCDF	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	*PCB „s dioxinovým efektem“:* **non-ortho PCB + mono-ortho PCB**	
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	**Non-ortho PCB**	
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 81	0,0001
OCDD	0,0001	PCB 126	0,1
Dibenzofurany **(„PCDF“)**		PCB 169	0,01
2,3,7,8-TCDF	0,1	**mono-ortho PCB**	
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 105	0,0001
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 114	0,0005
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 118	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 167	0,00001
		PCB 189	0,0001

Použité zkratky: „T“ = tetra; „Pe“ = penta; „Hx“ = hexa; „Hp“ = hepta; „O“ = okta; „CDD“ = chlorodibenzo-p-dioxin; „CDF“ = chlorodibenzofuran; „CB“ = chlorobifenyl.

▼**M1**

(2) Úř. věst. L 140, 30.5.2002, p. 10.

— stanovením rozhodovací meze (CCα) v souladu s rozhodnutím Komise 2002/657/ES (1) (bod 3.1.2.5. přílohy – pro látky, pro něž byla stanovena přípustná hodnota).

Současná pravidla interpretace se uplatní pro výsledek analýzy získaný ze vzorku pro úřední kontrolu. Tím není dotčeno právo členských států použít vnitrostátní pravidla pro analýzy za účelem obrany nebo rozhodčího řízení podle článku 18 směrnice 95/53 (2).

(1) Úř. věst. L 221, 17.8.2002, s. 8.
(2) Úř. věst. L 265, 8.11.1995, s. 17.

▼B

PŘÍLOHA II

PŘÍPRAVA VZORKŮ A POŽADAVKY NA ANALYTICKÉ METODY POUŽÍVANÉ PŘI ÚŘEDNÍ KONTROLE OBSAHU DIOXINŮ (PCDD/PCDF) A STANOVENÍ DIOXINŮM PODOBNÝCH PCB V NĚKTERÝCH KRMIVECH

1. **Cíl a oblast použití**

Tyto požadavky by se měly používat tam, kde jsou analyzovány krmné suroviny a krmiva za účelem stanovení dioxinů (polychlorovaných dibenzo-p-dioxinů (PCDD) a polychlorovaných dibenzofuranů (PCDF)) a dioxinům podobných polychlorovaných bifenylů (PCB).

Monitorování přítomnosti dioxinů v krmivech může být prováděno pomocí strategie zahrnující screeningovou metodu pro výběr vzorků s obsahem dioxinů a dioxinům podobných PCB o méně než 30 až 40 % nižším nebo vyšším než je množství, které je předmětem zájmu. Koncentraci dioxinů v těchto vzorcích s významným obsahem je třeba stanovit/potvrdit konfirmační metodou.

Screeningové metody jsou metody, které se používají ke zjišťování přítomnosti dioxinů a dioxinům podobných PCB v množstvích, která jsou předmětem zájmu. Tyto metody jsou schopné rychle zpracovat velký objem vzorků a používají se k prověření velkých množství vzorků z hlediska možných pozitivních výsledků. Jsou speciálně navrženy tak, aby vyloučily falešně negativní výsledky.

Konfirmační metody jsou metody, které poskytují úplné nebo doplňkové informace umožňující jednoznačnou identifikaci a kvantifikaci dioxinů a dioxinům podobných PCB na úrovni, která je předmětem zájmu.

2. **Souvislosti**

Protože vzorky z životního prostředí a biologické vzorky (včetně vzorků krmných surovin/krmiv) obvykle obsahují složité směsi různých dioxinových kongenerů, byla vyvinuta koncepce koeficientů toxické ekvivalence (TEF), aby se usnadnilo hodnocení nebezpečí. Tyto TEF se stanovují tak, aby vyjádřily koncentrace směsí 2,3,7,8-substituovaných PCDD a PCDF, a odnedávna některých non-ortho a mono-ortho-chlór substituovaných PCB, které vykazují aktivitu podobnou dioxinům v toxických ekvivalentech (TEQ) 2,3,7,8-TCDD (viz poznámka pod čarou 1 v příloze I).

Koncentrace jednotlivých látek v daném vzorku se násobí jejich příslušným TEF a následně sčítají, aby se dospělo k celkové koncentraci dioxinům podobných sloučenin vyjádřené v TEQ.

Koncepce „horní hranice“ vyžaduje použití mezní hodnoty kvantifikace jakožto příspěvku každého nekvantifikovaného kongeneru do TEQ.

Koncepce „dolní hranice“ vyžaduje použití nuly jakožto příspěvku každého nekvantifikovaného kongeneru do TEQ.

Koncepce „střední hodnoty“ vyžaduje použití poloviny mezní hodnoty kvantifikace pro výpočet příspěvku každého nekvantifikovaného kongeneru do TEQ.

▼M1

Pouze pro účely této směrnice je schválenou specifickou mezí kvantifikace jednotlivého kongeneru koncentrace analytu v extraktu vzorku, jenž vytváří instrumentální odezvu na dva různé ionty, která má být monitorována v poměru signál-šum 3:1 pro méně citlivé signály a při splnění základních požadavků, jako je např. retenční čas, poměr izotopu podle postupu určení popsaného v metodě EPA 1613 revize B.

▼B

3. **Příprava vzorků musí být v souladu s požadavky na zabezpečování jakosti**

Pro přípravu vzorků k analýze jsou použitelné obecné předpisy stanovené v příloze směrnice Komise 81/680/EHS ze dne 30. července 1981, kterou se mění směrnice 71/250/EHS, 71/393/EHS, 72/199/EHS, 73/46/EHS, 74/203/EHS, 75/84/EHS, 76/372/EHS a 78/633/EHS, kterými se stanoví analytické metody Společenství pro úřední kontrolu krmiv ([1]).

Kromě toho musí být splněny tyto požadavky:

([1]) Úř. věst. L 246, 29.8.1981, s. 32.

▼B

— vzorky musí být skladovány a přepravovány ve skleněných, hliníkových, polypropylénových nebo polyethylenových nádobách. Z nádoby na vzorky musí být odstraněny stopy papírového prachu. Skleněné nádobí musí být vypláchnuto rozpouštědly předem zkontrolovanými z hlediska přítomnosti dioxinů,

— musí být provedena slepá zkouška, která spočívá v provedení celého analytického postupu s vynecháním vzorku,

— hmotnost vzorku použitá k extrakci musí být dostatečná vzhledem k citlivosti.

4. **Požadavky kladené na laboratoře**

— laboratoře musí prokázat účinnost metody v rozsahu koncentrace, která je předmětem zájmu, například polovina, jedno a dvojnásobek koncentrace, která je předmětem zájmu, s přijatelným variačním koeficientem výsledků opakované analýzy. Podrobnosti kritérií přijatelnosti viz bod 5;

— mezní hodnota kvantifikace pro konfirmační metodu musí být v rozsahu asi jedné pětiny úrovně, která je předmětem zájmu, aby byla jistota, že v rozsahu úrovně, která je předmětem zájmu, se dosahuje přijatelných variačních koeficientů;

— jako opatření v rámci vnitřní kontroly jakosti se provádějí pravidelné slepé zkoušky, stanovení s přídavkem nebo analýzy kontrolních vzorků (nejlépe certifikovaného referenčního materiálu, je-li k dispozici);

— úspěšná účast v mezilaboratorních studiích, které hodnotí způsobilost laboratoře, je nejlepším způsobem, jak prokázat schopnost provádět určité analýzy. Avšak úspěšná účast v mezilaboratorních studiích, například pro půdní vzorky nebo vzorky odpadních vod, nezbytně neprokazuje též schopnost v oblasti vzorků potravin nebo krmiv, kde jde o nižší úrovně znečištění. Proto je povinná trvalá účast v mezilaboratorních studiích stanovení dioxinů a dioxinům podobných PCB v příslušných matricích krmiv/potravin;

— laboratoře musí být akreditovány uznávaným subjektem působícím v souladu s ISO Guide 58, aby bylo zajištěno, že uplatňují zabezpečování jakosti při analýzách. Laboratoře by měly být akreditovány podle normy ISO/IEC 17025:1999.

5. **Požadavky kladené na analytické postupy pro dioxiny a dioxinům podobné PCB**

Základní požadavky pro uznání analytických postupů:

— *vysoká citlivost a nízké mezní hodnoty detekce.* Pro PCDD a PCDF musí být detektovatelná množství v řádu pikogramů TEQ (10^{-12} g), kvůli mimořádné toxicitě některých těchto sloučenin. Je známo, že PCB se vyskytují ve vyšších koncentracích než PCDD a PCDF. Pro většinu kongenerů PCB již postačuje citlivost v řádu nanogramů (10^{-9} g). Avšak pro měření jedovatějších dioxinům podobných kongenerů PCB (zejména non-ortho substituovaných obdob) musí být dosaženo stejné citlivosti jako pro PCDD a PCDF;

— *vysoká selektivita (výběrovost).* Je nutné rozlišovat PCDD, PCDF a dioxinům podobné PCB od velkého množství jiných, společně extrahovaných a eventuálně rušivých sloučenin přítomných v koncentracích až o několik řádů vyšších než koncentrace látek, které jsou předmětem zájmu. Pro plynovou chromatografii/hmotnostní spektrometrii (GC/MS) je nezbytné rozlišení mezi různými kongenery, tj. mezi toxickými (např. sedmnácti 2,3,7,8-substituovanými PCCC a PCDF a dioxinům podobnými PCB) a ostatními kongenery. Biologické zkoušky sloučenin by měly být schopny selektivně určit hodnoty TEQ jako součet PCDD, PCDF a dioxinům podobných PCB;

— *vysoká přesnost (správnost a shodnost).* Stanovení by mělo poskytnout platný a spolehlivý odhad skutečné koncentrace ve vzorku. Je nezbytná vysoká přesnost (přesnost měření: stupeň shody výsledku měření a skutečné nebo přisuzované hodnoty měření), aby se předešlo zamítnutí analýzy vzorku na základě špatné spolehlivosti odhadu TEQ. Přesnost se vyjadřuje jako správnost (rozdíl mezi střední naměřenou hodnotou analytu v certifikovaném referenčním materiálu a jeho certifikovanou hodnotou, vyjádřený jako procento této hodnoty) a shodnost (shodnost se obvykle počítá jako standardní odchylka zahrnující opakovatelnost a reprodukovatelnost a označuje míru shody mezi výsledky získanými

▼B

několikanásobným použitím experimentálního postupu za předepsaných podmínek);

Screeningové metody mohou zahrnovat metody biologických zkoušek sloučenin a metody GC/MS; konfirmační metody jsou metodami plynové chromatografie s vysokým rozlišením/hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (HRGC/HRMS). Celková hodnota TEQ musí vyhovovat těmto kritériím:

	Screeningové metody	Konfirmační metody
Falešně negativní koncentrace	< 1 %	
správnost		- 20 % a + 20 %
variační koeficient	< 30 %	< 15 %

6. **Zvláštní požadavky, které musí splňovat metody GC/MS, aby vyhovovaly pro účely screeningu nebo ověřování**

— při validaci musí být hned na počátku analytické metody, například před extrakcí provedeno přidání vnitřních standardů 2,3,7,8-chlór substituovaných PCDD/F značených pomocí ^{13}C (a vnitřních standardů dioxinům podobných PCB značených pomocí ^{13}C, pokud musí být určeny dioxinům podobné PCB). Alespoň jeden kongener musí být přidána pro každou z tetra nebo okta-chlorovaných homologických skupin PCDD/F (a alespoň jeden kongener pro každou z homologických skupin dioxinům podobných PCB, pokud musí být určeny dioxinům podobné PCB) (nebo alespoň jeden kongener pro každou skupinu vybraných iontů při použití hmotnostní spektrometrie v režimu registrace vybraných iontů, použitou pro sledování PCDD/F a dioxinům podobných PCB). Jednoznačně se dává přednost, určitě v případě konfirmačních metod, použití všech 17 vnitřních standardů 2,3,7,8-substituovaných PCDD/F značených pomocí ^{13}C a všech 12 vnitřních standardů dioxinům podobných PCB značených pomocí ^{13}C (pokud musí být určeny dioxinům podobné PCB).

Pro ty kongenery, k nimž není při použití vhodných kalibračních roztoků přidán žádný analog značený pomocí ^{13}C, by měly být též určeny relativní koeficienty odezvy;

— pro krmiva rostlinného původu a krmiva živočišného původu obsahující méně než 10 % tuku je přidání vnitřních standardů před extrakcí povinné. Pro krmiva živočišného původu obsahující více než 10 % tuku mohou být vnitřní standardy přidány buď před, nebo po extrakci tuku. Měla by být provedena vhodná validace účinnosti extrakce v závislosti na tom, kdy je vnitřní standard přidáván, a na tom, zda jsou výsledky uváděny v produktu nebo v tuku;

— před analýzou GC/MS musí být přidán jeden nebo dva standardy pro stanovení výtěžnosti (náhradní);

— Kontrola výtěžnosti je nezbytná. U konfirmačních metod by se výtěžnost jednotlivých vnitřních standardů měla pohybovat v rozsahu 60 až 120 %. Nižší nebo vyšší hodnota výtěžnosti jednotlivých kongenerů, zejména některých hepta- a okta-chlorovaných dibenzodioxinů a dibenzofuranů, je přípustné pod podmínkou, že jejich příspěvek k hodnotě TEQ nepřesáhne 10 % celkové hodnoty TEQ (jen na základě PCDD/F). Hodnota výtěžnosti u screeningových metod by se měla pohybovat mezi 30 a 140 %;

— oddělení dioxinů od rušivých chlorovaných sloučenin, jako jsou PCB a chlorované difenyethery, by mělo být provedeno vhodnými chromatografickými technikami (nejlépe na florisilové, aluminiové a/nebo uhlíkové koloně);

— oddělení isomerů promocí plynové chromatografie by mělo být dostatečné (< 25 % mezi píky mezi 1,2,3,4,7,8-HxCDF a 1,2,3,6,7,8-HxCDF);

— Stanovení by mělo být provedeno podle metody EPA 1613 revize B: tetra- až okta-chlorované dioxiny a furany pomocí izotopického zřeďování HRGC/HRMS nebo jinou s rovnocennými shodnými pracovními charakteristikami;

▼B

— u krmiv kontaminovaných dioxiny v rozsahu maximální úrovně nebo nad ní by rozdíl mezi horní a dolní mezní úrovní neměl překročit 20 %. U krmiv s úrovněmi kontaminace výrazně pod maximální úrovní by se měl rozdíl pohybovat mezi 25 až 40 %.

7. **Screeningové analytické metody**

7.1. *Úvod*

Screeningové metody mohou být použity k různým analytickým přístupům: čistý screeningový přístup a kvantitativní přístup.

Screeningový přístup

Odezva vzorků se porovnává s odezvou srovnávacího vzorku na úrovni, která je předmětem zájmu. Vzorky s odezvou nižší než srovnávací vzorek se prohlašují za negativní, vzorky s vyšší odezvou se považují za pozitivní. Požadavky:

— do každé zkušební série musí být zařazen alespoň jeden slepý a jeden srovnávací vzorek, které se extrahují a zkoušejí současně za shodných podmínek. Odezva srovnávacího vzorku musí být zřetelně vyšší ve srovnání se slepým vzorkem,

— měly by být zařazeny další srovnávací vzorky s poloviční a dvojnásobnou koncentrací oproti koncentraci, která je předmětem zájmu, aby se prokázala řádná účinnost zkoušky v rozsahu, který je předmětem zájmu, pro kontrolu koncentrace, která je předmětem zájmu;

— při zkoušení jiných matric se musí prokázat vhodnost referenčního(ch) vzorku(ů), nejlépe zařazením vzorků, u nichž bylo pomocí HRGC/HRMS zjištěno, že obsahují množství TEQ přibližně odpovídající referenčnímu vzorku nebo jinému slepému vzorku obohacenému na tuto úroveň,

— protože při biologických zkouškách sloučenin nemohou být použity žádné vnitřní standardy, jsou pro získání informací o standardní odchylce v rámci jedné zkušební série velmi důležité testy opakovatelnosti. Variační koeficient by měl být nižší než 30 %,

— pro biologické zkoušky by měly být definovány možné rušivé vlivy a maximální přípustné slepé hodnoty.

Kvantitativní přístup

Kvantitativní přístup vyžaduje standardní sérii ředění, dvojnásobné nebo trojnásobné čištění a měření, jakož i slepé stanovení a kontrolu výtěžnosti. Výsledek může být vyjádřen jako TEQ, čímž se předpokládá, že sloučeniny odpovědné za signál odpovídají principu TEQ. Toto může být provedeno pomocí TCDD (nebo standardní dioxin/furanové směsi) za účelem vytvoření kalibrační křivky pro výpočet hodnoty TEQ v extraktu, a tedy i vzorku. Tato hodnota se následně koriguje podle hodnoty TEQ vypočtené pro slepý vzorek (aby se zohlednily nečistoty z použitých rozpouštědel a chemikálií) a výtěžnost (vypočtená z hodnoty TEQ ve vzorku pro kontrolu jakosti v blízkosti mezní koncentrace, která je předmětem zájmu). Je nezbytné poznamenat, že část zřejmé ztráty výtěžnosti může být způsobena matricovými jevy a/nebo rozdíly mezi hodnotami TEF v biologických zkouškách sloučenin a úředními hodnotami TEF stanovenými WHO.

7.2. *Požadavky kladené na analytické metody používané pro screening*

— pro screening mohou být používány analytické metody GC/MS a biologické metody zkoušení. Pro metody GC/MS by se měly uplatňovat požadavky stanovené v bodu 6. Pro buněčné biologické zkoušky sloučenin platí zvláštní požadavky stanovené v bodu 7.3 a pro biologické zkoušky sloučenin prováděné pomocí setů platí zvláštní požadavky stanovené v bodu 7.4;

— jsou nezbytné informace o počtu falešně pozitivních a falešně negativních výsledků velkého souboru vzorků pod a nad maximální úrovní nebo účinnou úrovní ve srovnání s obsahem TEQ určeným konfirmační analytickou metodou. Skutečný podíl falešných negativních výsledků by měl být pod 1 %. Podíl falešných pozitivních výsledků by měl být natolik nízký, aby se použití screeningového nástroje stalo výhodným;

— pozitivní výsledky musí být vždy potvrzeny konfirmační analytickou metodou (HRCG/HRMS). Kromě toho by měly být pomocí HRCG/HRMS potvrzeny vzorky z širokého rozmezí hodnot TEQ (přibližně 2

▼B

až 10 % negativních vzorků). Měly by být dány k dispozici informace o souladu výsledků biologické zkoušky a HRGC/HRMS.

7.3. *Zvláštní požadavky kladené na biologické zkoušky sloučenin*

— při biologickém zkoušení vyžaduje každá zkouška řadu srovnávacích koncentrací TCDD nebo dioxin/furanových směsí (úplná křivka dávka/odezva s $R^2 > 0,95$). Avšak pro účely screeningu by měla být použita rozšířená nízkoúrovňová křivka pro analyzování vzorků s nízkým obsahem;

— aby bylo výsledku biologické zkoušky sloučenin dosaženo během konstantní doby, měla by být použita srovnávací koncentrace TCDD (asi trojnásobek meze detekce) uvedená na listu kontroly jakosti. Jinou možností by mohla být relativní odezva srovnávacího vzorku vztažená ke kalibrační křivce TCDD, protože odezva buněk může záviset na mnoha faktorech;

— pro každý srovnávací materiál by měly být zaznamenány a kontrolovány grafy kontroly jakosti, aby byl zajištěn soulad výsledku se směrnicemi;

— zejména v případě kvantitativních vyhodnocování musí být výsledek ředění vzorků uvnitř lineární části křivky odezvy. Vzorky nad lineární částí křivky odezvy musí být znovu zředěny a přezkoušeny. Proto se doporučuje zkoušet alespoň tři nebo více různě ředěných vzorků najednou;

— procentní standardní odchylka by neměla být vyšší než 15 % při trojnásobném stanovení pro každé ředění vzorku a pro tři nezávislé pokusy by neměla přesáhnout 30 %;

— mezní hodnota detekce může být stanovena jako trojnásobek standardní odchylky slepého pokusu s rozpouštědlem nebo odezvy pozadí. Dalším přístupem je použití odezvy, která je nad pozadím (indukční koeficient rovnající se pětinásobku slepého pokusu s rozpouštědlem) vypočteným z kalibrační křivky dne. Kvantifikační mez může být stanovena jako pětinásobek standardní odchylky odezvy slepého pokusu s rozpouštědlem nebo pozadí nebo pomocí odezvy, která je jasně nad pozadím (indukční koeficient rovnající se desetinásobku slepého rozpouštědla) vypočteným z kalibrační křivky dne.

7.4. *Zvláštní požadavky kladené na biologické zkoušky sloučenin prováděné pomocí kitů* ([1])

— musí být dodržovány pokyny výrobce pro přípravu vzorků,

— zkušební soupravy by se neměly používat po uplynutí doby použitelnosti,

— neměly by se používat materiály a součásti navržené pro použití s jinými soupravami,

— zkušební soupravy by se měly uchovávat v předepsaném rozsahu skladovacích teplot a měly by se používat při předepsané provozní teplotě,

— mezní hodnota detekce pro imunologickou zkoušku se určuje jako součet střední hodnoty a trojnásobku standardní odchylky, vycházejících z deseti opakovaných analýz slepého vzorku, jenž se dělí směrnicí přímky lineární regrese;

— pro zkoušky v laboratořích by se měly požívat srovnávací standardy, aby byla jistota, že citlivost standardu je v přijatelném rozsahu.

8. **Oznamování výsledků**

Nakolik to požívaný analytický postup umožňuje, analytické výsledky by měly obsahovat množství jednotlivých obdob PCDD/F a PCB a měly se oznamovat jako dolní, horní a střední odhady, aby oznamované výsledky obsahovaly maximum informací a tudíž mohly být vykládány v souladu se zvláštními požadavky.

Zpráva by měla též obsahovat obsah lipidů ve vzorku, jakož i metodu použitou pro extrakci lipidů.

([1]) Dosud nebyly předloženy žádné důkazy o tom, že komerčně dostupné biologické zkoušky sloučenin prováděné pomocí souprav jsou dostatečně citlivé a spolehlivé na to, aby mohly být používány ke screeningovému zjišťování přítomnosti dioxinů v požadovaných koncentracích ve vzorcích potravin a krmiv.

▼B

Výtěžnost vnitřních standardů musí být dána k dispozici, jsou-li tato množství mimo rozsah uvedený v bodu 6, v případě překročení maximální hodnoty a v ostatních případech na vyžádání.