2023/2783

15.12.2023

PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2023/2783

ze dne 14. prosince 2023,

kterým se stanoví metody odběru vzorků a analýzy pro kontrolu množství rostlinných toxinů v potravinách a kterým se zrušuje nařízení (EU) 2015/705

(Text s významem pro EHP)

EVROPSKÁ KOMISE,

s ohledem na Smlouvu o fungování Evropské unie,

s ohledem na nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/625 ze dne 15. března 2017 o úředních kontrolách a jiných úředních činnostech prováděných s cílem zajistit uplatňování potravinového a krmivového práva a pravidel týkajících se zdraví zvířat a dobrých životních podmínek zvířat, zdraví rostlin a přípravků na ochranu rostlin, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001, (ES) č. 396/2005, (ES) č. 1069/2009, (ES) č. 1107/2009, (EU) č. 1151/2012, (EU) č. 652/2014, (EU) 2016/429 a (EU) 2016/2031, nařízení Rady (ES) č. 1/2005 a (ES) č. 1099/2009 a směrnic Rady 98/58/ES, 1999/74/ES, 2007/43/ES, 2008/119/ES a 2008/120/ES a o zrušení nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004 a (ES) č. 882/2004, směrnic Rady 89/608/EHS, 89/662/EHS, 90/425/EHS, 91/496/EHS, 96/23/ES, 96/93/ES a 97/78/ES a rozhodnutí Rady 92/438/EHS (nařízení o úředních kontrolách) ([1]), a zejména na čl. 34 odst. 6 uvedeného nařízení,

vzhledem k těmto důvodům:

(1) Nařízení Komise (EU) 2023/915 ([2]) stanoví maximální limity některých rostlinných toxinů v potravinách.

(2) Odběr vzorků má zásadní význam pro přesnost stanovení množství rostlinných toxinů v určité šarži, jelikož rostlinné toxiny mohou být v rámci jedné šarže distribuovány nerovnoměrně. Je proto vhodné stanovit metody odběru vzorků pro úřední kontrolu množství rostlinných toxinů v potravinách.

(3) Prováděcí nařízení Komise (EU) 2023/2782 ([3]) stanoví metody odběru vzorků, které se použijí pro úřední kontrolu množství mykotoxinů v potravinách. Vzhledem k tomu, že rostlinné toxiny i mykotoxiny jsou v rámci jednotlivých šarží distribuovány nerovnoměrně, je vhodné použít uvedené metody odběru vzorků i v případě rostlinných toxinů.

(4) Úřední kontroly lze provádět u potravin, u nichž nebyl stanoven žádný zvláštní maximální limit pro rostlinné toxiny a žádný zvláštní postup odběru vzorků. Je proto vhodné stanovit kritéria pro určení, který postup odběru vzorků by se měl v takových případech použít.

(5) Je také třeba stanovit obecná pracovní kritéria, jež by měly metody analýzy splňovat, aby bylo zajištěno, že kontrolní laboratoře budou používat metody analýzy se srovnatelnou účinností. Vzhledem k tomu, že referenční laboratoř Evropské unie pro mykotoxiny a rostlinné toxiny vymezila na základě nejlepších dostupných vědeckých informací analytická pracovní kritéria pro analýzu rostlinných toxinů v potravinách, je vhodné uvedená kritéria stanovit v tomto nařízení.

([1]) Úř. věst. L 95, 7.4.2017, s. 1.

([2]) Nařízení Komise (EU) 2023/915 ze dne 25. dubna 2023 o maximálních limitech některých kontaminujících látek v potravinách a o zrušení nařízení (ES) č. 1881/2006 (Úř. věst. L 119, 5.5.2023, s. 103).

([3]) Prováděcí nařízení Komise (EU) 2023/2782 ze dne 14. prosince 2023, kterým se stanoví metody odběru vzorků a analýzy pro kontrolu množství mykotoxinů v potravinách a kterým se zrušuje nařízení (ES) č. 401/2006 (Úř. věst. L, 2023/2782, 15.12.2023, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/2782/oj).

(6) Nařízení Komise (EU) 2015/705 ([4]) stanoví metody odběru vzorků a pracovní kritéria metod analýzy pro úřední kontrolu obsahu kyseliny erukové v potravinách. Vzhledem k tomu, že metody odběru vzorků a analytická pracovní kritéria stanovená v tomto nařízení jsou vhodné i pro kontrolu rostlinného toxinu – kyseliny erukové v potravinách, je v zájmu zjednodušení vhodné nařízení (EU) 2015/705 zrušit.

(7) Je nezbytné poskytnout kontrolním laboratořím na splnění nových požadavků zavedených tímto nařízením dostatek času. Proto je vhodné stanovit přiměřené období, než toto nařízení začne být použitelné.

(8) Aby byla zajištěna kontinuita provádění úředních kontrol a jiných regulačních činností týkajících se maximálních limitů rostlinných toxinů a aby byl poskytnut dostatek času na opětovnou validaci metod analýzy, je vhodné stanovit, že metody analýzy, které byly validovány před datem použitelnosti tohoto nařízení, se mohou během vymezeného období nadále používat.

(9) Opatření stanovená tímto nařízením jsou v souladu se stanoviskem Stálého výboru pro rostliny, zvířata, potraviny a krmiva,

PŘIJALA TOTO NAŘÍZENÍ:

Článek 1

Pro účely tohoto nařízení se použijí definice stanovené v článku 1 prováděcího nařízení Komise (EU) 2023/2782.

Článek 2

(1) Odběr vzorků pro kontrolu množství rostlinných toxinů v potravinách se provádí v souladu s metodami stanovenými v příloze I.

(2) V případě potraviny, kterou nelze zařadit do kategorie potravin, pro niž byl stanoven postup odběru vzorků v příloze I, se postup odběru vzorků stanoví s ohledem na velikost částic dané potraviny nebo podobnost dané potraviny s produktem, který lze zařadit do jedné z kategorií potravin uvedených v příloze I.

(3) V případě potraviny, kterou nelze zařadit do žádné z kategorií potravin uvedených v příloze I, a pokud existují důkazy, že rostlinný toxin je v této potravině distribuován rovnoměrně, odeberou se vzorky z potraviny metodou odběru vzorků stanovenou v části B přílohy nařízení Komise (ES) č. 333/2007 ([5]).

Článek 3

Příprava vzorků a metody analýzy používané pro kontrolu množství rostlinných toxinů v potravinách musí splňovat kritéria stanovená v příloze II.

Článek 4

Nařízení (EU) 2015/705 se zrušuje. Odkazy na zrušené nařízení se považují za odkazy na toto prováděcí nařízení.

([4]) Nařízení Komise (EU) 2015/705 ze dne 30. dubna 2015, kterým se stanoví metody odběru vzorků a pracovní charakteristiky metod analýzy pro úřední kontrolu obsahu kyseliny erukové v potravinách a kterým se zrušuje směrnice Komise 80/891/EHS (Úř. věst. L 113, 1.5.2015, s. 29).

([5]) Nařízení Komise (ES) č. 333/2007 ze dne 28. března 2007, kterým se stanoví metody odběru vzorků a metody analýzy pro kontrolu obsahu stopových prvků a kontaminujících látek z výroby v potravinách (Úř. věst. L 88, 29.3.2007, s. 29).

Článek 5

Toto nařízení vstupuje v platnost dvacátým dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropské unie*.

Použije se ode dne 1. dubna 2024. Metody analýzy, které byly validovány před datem použitelnosti tohoto nařízení, se však mohou nadále používat do 1. července 2028, a to i v případě, že nesplňují veškeré zvláštní požadavky stanovené v bodě 4.2 přílohy II tohoto nařízení.

Toto nařízení je závazné v celém rozsahu a přímo použitelné ve všech členských státech.

V Bruselu dne 14. prosince 2023.

Za Komisi
předsedkyně
Ursula VON DER LEYEN

PŘÍLOHA I

Metody odběru vzorků pro kontrolu množství rostlinných toxinů v potravinách

ČÁST I

OBECNÁ USTANOVENÍ

A.1 **Obecná ustanovení**

A.1.1 *Personál*

Odběr vzorků provádí osoba určená příslušným orgánem členského státu.

A.1.2 *Materiál, z něhož mají být odebrány vzorky*

Každá šarže, která má být analyzována, se vzorkuje samostatně. Velké šarže se v souladu se zvláštními ustanoveními o odběru vzorků pro jednotlivé rostlinné toxiny rozdělí na části, které se vzorkují samostatně.

A.1.3 *Předběžná opatření*

Při odběru vzorků a přípravě vzorků se přijmou předběžná opatření, jež mají zamezit jakýmkoli změnám, které by mohly:

— ovlivnit obsah rostlinných toxinů, nepříznivě ovlivnit analytické stanovení nebo znehodnotit reprezentativnost souhrnných vzorků,

— ovlivnit potravinovou bezpečnost vzorkovaných šarží.

Zároveň se přijmou veškerá opatření nezbytná k zajištění bezpečnosti osob odebírajících vzorky.

A.1.4 *Dílčí vzorky*

Dílčí vzorky se odeberou pokud možno z různých míst v rámci jedné šarže nebo části šarže. Odchylka od uvedeného postupu se zaznamená do protokolu podle části A.1.8 této přílohy.

A.1.5 *Příprava souhrnného vzorku*

Souhrnný vzorek se připraví spojením dílčích vzorků.

A.1.6 *Replicitní vzorky*

Replicitní vzorky pro účely vymáhání, obhajoby a pro referenční účely se odeberou z homogenizovaného souhrnného vzorku, pokud tento postup není v rozporu s předpisy členských států týkajícími se práv provozovatele potravinářského podniku.

A.1.7 *Balení a přeprava vzorků*

Každý vzorek se uloží do čisté nádoby z inertního materiálu, která poskytuje dostatečnou ochranu před kontaminací a poškozením při přepravě. Přijmou se veškerá nezbytná opatření, jež mají zamezit jakékoli změně složení vzorku, ke které může dojít při přepravě nebo skladování.

A.1.8 *Uzavření a označení vzorků*

Každý vzorek odebraný k úředním účelům se uzavře na místě odběru a označí se podle předpisů členského státu.

O každém odběru vzorků se vystaví protokol, který umožňuje jednoznačnou identifikaci každé šarže a ve kterém je uvedeno datum a místo odběru vzorků a další údaje, které mohou být pro osobu provádějící analýzu užitečné.

A.2 **Různé typy šarží**

Potraviny mohou mít při uvádění na trh formu volně ložených komodit, komodit v kontejnerech nebo v jednotlivých baleních, jako jsou sáčky, pytle nebo maloobchodní/jednotlivá balení. Metodu odběru vzorků lze použít na komodity uváděné na trh ve formě volně ložených komodit, komodit v kontejnerech nebo v jednotlivých baleních, jako jsou sáčky, pytle nebo maloobchodní/jednotlivá balení, nebo v jakékoli jiné formě.

Aniž jsou dotčena zvláštní ustanovení o odběru vzorků uvedená v jiných částech této přílohy, použije se jako vodítko pro výpočet četnosti odběru vzorků u šarží uváděných na trh v jednotlivých baleních, jako jsou sáčky, pytle nebo maloobchodní/jednotlivá balení, níže uvedený vzorec.

$$\text{Četnost odběru vzorků (SF) n} = \frac{\text{Hmotnost šarže x hmotnost dílčího vzorku}}{\text{Hmotnost souhrnného vzorku} \times \text{hmotnost jednotlivého balení}}$$

— hmotnost: v kg

— četnost odběru vzorků (SF): každé n-té jednotlivé balení, z nějž má být odebrán dílčí vzorek (desetinná místa se zaokrouhlí na nejbližší celé číslo).

A.3 **Odběr vzorků u komodit s vysokým poměrem objem/hmotnost**

S výjimkou potravinových komodit spadajících do části II oddílu L a M přílohy I prováděcího nařízení (EU) 2023/2782) lze v případě odběru vzorků u potravinových komodit, které mají ve srovnání se svou hmotností velký objem (tj. objem (dm^3)/hmotnost (kg) > 5), požadavky na hmotnost nahradit rovnocenným požadavkem na objem (tj. 1 kg se nahradí 1 dm^3).

ČÁST II

METODY ODBĚRU VZORKŮ

Použijí se metody odběru vzorků stanovené v části II přílohy I prováděcího nařízení (EU) 2023/2782.

Na odběr vzorků u brambor a výrobků z brambor (glykoalkaloidy) a medu (pyrrolizidinové alkaloidy) se však použije část B přílohy nařízení (ES) č. 333/2007.

PŘÍLOHA II

Kritéria pro přípravu vzorků a pro metody analýzy používané pro kontrolu množství rostlinných toxinů v potravinách

1. ÚVOD – předběžná opatření

Vzhledem k tomu, že distribuce rostlinných toxinů je obecně nehomogenní, vzorky musí být připraveny, a zejména homogenizovány mimořádně pečlivě.

Kompletní vzorek obdržený laboratoří musí být homogenizovaný, pokud homogenizaci provádí laboratoř.

2. ZPRACOVÁNÍ VZORKU OBDRŽENÉHO LABORATOŘÍ

Každý laboratorní vzorek se důkladně promísí (a v případě potřeby se i jemně rozemele) postupem, u něhož bylo prokázáno, že jím lze dosáhnout úplné homogenizace.

Pokud se maximální limit vztahuje na sušinu, stanoví se obsah sušiny produktu u části homogenizovaného vzorku metodou, u níž bylo prokázáno, že umožňuje přesné stanovení obsahu sušiny.

3. REPLICITNÍ VZORKY

Replicitní vzorky pro účely vymáhání, obhajoby a pro referenční účely se odeberou z homogenizovaného materiálu, pokud tento postup není v rozporu s předpisy členských států týkajícími se práv provozovatele potravinářského podniku.

4. METODY ANALÝZY, KTERÉ MÁ LABORATOŘ POUŽÍT, A POŽADAVKY NA ŘÍZENÍ LABORATOŘE

4.1. **Obecné požadavky**

Potvrzující metody analýzy používané pro účely kontroly potravin musí být v souladu s ustanoveními bodů 1 a 2 přílohy III nařízení (EU) 2017/625.

Kdykoli je to možné, měla by být pravdivost metody pravidelně ověřována analýzou certifikovaného referenčního materiálu a/nebo úspěšnou účastí na zkouškách způsobilosti.

4.2. **Zvláštní požadavky**

4.2.1. *Zvláštní požadavky na potvrzující metody*

4.2.1.1 Pracovní kritéria

Pro potvrzující metody platí tato pracovní kritéria:

Výtěžnost: průměrná výtěžnost by se měla pohybovat mezi 70 a 120 %.

Průměrná výtěžnost je průměrná hodnota z replicitních vzorků získaná během validace při určování parametrů preciznosti RSDr a $RSDw_R$. Toto kritérium se vztahuje na všechny koncentrace a všechny jednotlivé toxiny.

Ve výjimečných případech může být přijatelná i průměrná výtěžnost pohybující se mimo výše uvedené rozmezí, ale musí se nacházet v rozmezí 50–130 % a je přijatelná pouze tehdy, jsou-li splněna kritéria preciznosti pro RSDr a $RSDw_R$.

Preciznost

RSDr musí činit ≤ 20 %.

RSDwR musí činit ≤ 20 %.

RSDR by měla činit ≤ 25 %.

Tato kritéria se vztahují na všechny koncentrace.

Pokud laboratoř předloží důkazy o tom, že kritérium RSDwR je splněno, není nutné předkládat důkazy pro kritérium RSDr, jelikož soulad s RSDwR zaručuje splnění kritéria RSDr.

Pokud se maximální limit vztahuje na sumu toxinů, platí kritéria preciznosti jak pro sumu, tak pro jednotlivé toxiny.

Mez stanovitelnosti

Pokud byl v tabulce 1 níže stanoven specifický požadavek na mez stanovitelnosti (LOQ) rostlinného toxinu, musí mít daná metoda LOQ na této hodnotě nebo nižší.

Tabulka 1

Požadavky na LOQ pro určité rostlinné toxiny

Rostlinný toxin	Poznámky	Potravina	Požadavek na LOQ (μg/kg) nebo (μg/l)
Pyrrolizidinové alkaloidy	Požadavek na LOQ pro jednotlivé pyrrolizidinové alkaloidy	Sušený výrobek	≤ 10
		Tekutý výrobek	≤ 0,15
Tropanové alkaloidy	Požadavek na LOQ zvlášť pro atropin a skopolamin	Obilné příkrmy pro kojence a malé děti	≤ 1
		Obiloviny a výrobky z obilovin	≤ 2
		Bylinné čaje (sušený výrobek)	≤ 5
		Bylinné čaje (v tekuté formě)	≤ 0,05
Opiové alkaloidy	Požadavek na LOQ zvlášť pro morfin a kodein	Pekárenské výrobky	≤ 500

Ve všech ostatních případech platí toto:

LOQ: musí činit ≤ 0,5*ML a měla by být pokud možno nižší (≤ 0,2*ML).

Pokud se maximální limit vztahuje na sumu toxinů, musí LOQ jednotlivých toxinů činit ≤ 0,5*ML/n, přičemž n je počet toxinů zahrnutých do definice ML.

Identifikace

Pro identifikaci se použijí kritéria stanovená v Pokynech k identifikaci mykotoxinů a rostlinných toxinů v potravinách a krmivech ([1]).

4.2.1.2. Rozšíření rozsahu působnosti metody

4.2.1.2.1 Rozšíření rozsahu působnosti na další rostlinné toxiny:

Když se do rozsahu působnosti stávající potvrzující metody doplňují další analyty, musí se provést úplná validace, aby se prokázala vhodnost metody.

4.2.1.2.2 Rozšíření na další komodity:

Pokud je známo nebo se předpokládá, že potvrzující metoda je použitelná i na další komodity, ověří se její platnost pro tyto další komodity. Patří-li nová komodita do skupiny komodit (viz tabulka 2 v této příloze), u nichž již proběhla počáteční validace, postačuje omezená dodatečná validace.

4.2.2. *Zvláštní požadavky na semikvantitativní screeningové metody*

4.2.2.1. Rozsah působnosti

Tento oddíl se vztahuje na bioanalytické metody založené na imunitním rozpoznávání nebo vázání na receptor (například test ELISA, testovací proužky, pomůcky k měření s bočním průtokem, imunosenzory) a fyzikálně-chemické metody založené na chromatografii nebo na přímé detekci hmotnostní spektrometrií (např. hmotnostní spektrometrie vnitřního prostředí). Jiné metody (např. tenkovrstvá chromatografie) nejsou vyloučeny za předpokladu, že vzniklé signály přímo souvisejí s příslušnými rostlinnými toxiny a umožňují použít níže popsanou zásadu.

([1]) K dispozici na adrese: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-10/cs_contaminants_sampling_guid-doc-ident-mycotoxins.pdf

Zvláštní požadavky se vztahují na metody, u nichž je výsledek měření číselná hodnota, například (relativní) odezva ze čtečky testovacího proužku, signál z LC-MS atd., a kde se uplatňují běžné statistiky.

Tyto požadavky se nevztahují na metody, které neposkytují číselné hodnoty (např. pouze linie, jež je přítomna, nebo nepřítomna), u nichž jsou nutné odlišné validační přístupy. Zvláštní požadavky pro tyto metody jsou uvedeny v bodě 4.2.3.

Tento dokument popisuje postupy validace screeningových metod pomocí mezilaboratorní validace, ověření účinnosti dané metody validované pomocí mezilaboratorní zkoušky a vnitrolaboratorní validaci screeningové metody.

4.2.2.2. Postup validace

Cílem validace je prokázat vhodnost screeningové metody pro daný účel. Provádí se stanovením mezní hodnoty a míry falešně negativních a falešně podezřelých vzorků. V těchto dvou parametrech jsou obsaženy pracovní charakteristiky, jako je detekční schopnost, selektivita a preciznost.

Screeningové metody mohou být validovány pomocí mezilaboratorní nebo vnitrolaboratorní validace. Pokud jsou již k dispozici údaje z mezilaboratorní validace pro určité kombinace rostlinných toxinů/matric/STC, postačuje ověření účinnosti metody v laboratoři uplatňující příslušnou metodu.

4.2.2.2.1 Počáteční vnitrolaboratorní validace

Rostlinné toxiny

Validace se provede pro každý jednotlivý rostlinný toxin v rámci rozsahu působnosti. U bioanalytických metod, jež poskytují u některých skupin rostlinných toxinů (např. pyrrolizidinové alkaloidy) kombinovanou odezvu, musí být prokázána použitelnost a uvedena omezení daného testu v rámci rozsahu působnosti metody. Nežádoucí křížová reaktivita se nepovažuje za zvýšení míry falešně negativních vzorků cílových rostlinných toxinů, ale může zvýšit míru falešně podezřelých vzorků. Toto nežádoucí zvýšení se sníží pomocí potvrzující analýzy, která zajistí jednoznačnou identifikaci a kvantifikaci rostlinných toxinů.

Matrice

Počáteční validace se provede pro každou komoditu nebo pro každou skupinu komodit, je-li známo, že je daná metoda použitelná pro více komodit. V druhém případě se z uvedené skupiny vybere jedna reprezentativní a relevantní komodita (viz tabulka 2).

Soubor vzorků

Minimální počet různých vzorků požadovaných pro validaci je 20 homogenních negativních kontrolních vzorků a 20 homogenních pozitivních kontrolních vzorků, které obsahují rostlinný toxin na úrovni STC, analyzovaných za podmínek vnitrolaboratorní reprodukovatelnosti ($RSDw_R$) po dobu 5 různých dnů. Do validačního souboru mohou být doplněny další soubory 20 vzorků obsahujících rostlinný toxin v jiném množství, aby se zjistilo, do jaké míry lze danou metodou rozlišovat jednotlivé koncentrace rostlinných toxinů.

Koncentrace

Pro každou úroveň STC, která má být použita při běžné aplikaci, musí být provedena validace.

4.2.2.2.2 Počáteční validace prostřednictvím kolaborativních zkoušek

Validace prostřednictvím kolaborativních zkoušek se provede v souladu s normou ISO 5725:1994 nebo Mezinárodním harmonizovaným protokolem IUPAC nebo jiným mezinárodně uznávaným protokolem o kolaborativních zkouškách, který vyžaduje, aby byly zahrnuty platné údaje z nejméně osmi různých laboratoří. Jediným dalším rozdílem oproti vnitrolaboratorní validaci musí být to, že ≥ 20 vzorků z každé komodity/úrovně může být rovnoměrně rozděleno mezi zúčastněné laboratoře, přičemž minimální počet je dva vzorky na laboratoř.

4.2.2.3. Stanovení mezní hodnoty a míry falešně podezřelých výsledků u slepých vzorků

(Relativní) odezvy u negativních kontrolních a pozitivních kontrolních vzorků se použijí jako základ pro výpočet požadovaných parametrů.

Screeningové metody s odezvou úměrnou koncentraci rostlinného toxinu

U screeningových metod s odezvou úměrnou koncentraci rostlinného toxinu platí:

$$mezní\ hodnota = R_{STC} - hodnota\ t_{0,05} * SD_{STC}$$

R_{STC} = střední hodnota odezvy u pozitivních kontrolních vzorků (na úrovni STC)

hodnota t: jednostranná hodnota t u 5 % míry falešně negativních výsledků (viz tabulka 3)

SD_{STC} = standardní odchylka

Screeningové metody s odezvou nepřímo úměrnou koncentraci rostlinného toxinu

Podobně se u screeningových metod s odezvou nepřímo úměrnou koncentraci rostlinného toxinu určuje mezní hodnota jako:

$$mezní\ hodnota = R_{STC} + hodnota\ t_{0,05} * SD_{STC}$$

Při použití této specifické hodnoty t ke stanovení mezní hodnoty je míra falešně negativních výsledků standardně stanovena na 5 %.

Hodnocení vhodnosti pro daný účel

Výsledky negativních kontrolních vzorků se použijí pro odhad odpovídající míry falešně podezřelých výsledků. Hodnota t se vypočte podle případu, kdy výsledek negativního kontrolního vzorku přesahuje mezní hodnotu, a proto se chybně klasifikuje jako podezřelý.

hodnota t $= (\text{mezní hodnota} - \text{střed}_{\text{slepý}})/SD_{\text{slepý}}$

pro screeningové metody s odezvou úměrnou koncentraci rostlinného toxinu

nebo

hodnota t $= (\text{střed}_{\text{slepý}} - \text{mezní hodnota})/SD_{\text{slepý}}$

pro screeningové metody s odezvou nepřímo úměrnou koncentraci rostlinného toxinu

Ze získané hodnoty t se na základě stupňů volnosti vypočtených z určitého počtu experimentů může pravděpodobnost falešně podezřelých vzorků pro jednostrannou distribuci buď vypočíst (např. tabulková funkce „TDIST“), nebo převzít z tabulky pro distribuci t (viz tabulka 3).

Odpovídající hodnota jednostranné distribuce t určuje míru falešně podezřelých výsledků.

Tato koncepce je popsána podrobně i s příkladem v Analytical and Bioanalytical Chemistry DOI 10.1007/s00216-013-6922-1.

4.2.2.4. Rozšíření rozsahu působnosti metody

4.2.2.4.1 Rozšíření rozsahu působnosti na další rostlinné toxiny:

Když se do rozsahu působnosti stávající screeningové metody doplňují nové rostlinné toxiny, musí se provést úplná validace, aby se prokázala vhodnost metody.

4.2.2.4.2 Rozšíření na další komodity:

Pokud je známo nebo se předpokládá, že daná screeningová metoda je použitelná i na další komodity, musí se ověřit její platnost pro tyto další komodity. Patří-li nová komodita do skupiny komodit (viz tabulka 2 v této příloze), u nichž již proběhla počáteční validace, postačuje omezená dodatečná validace. Pro tento účel se musí analyzovat nejméně 10 homogenních negativních kontrolních vzorků a 10 homogenních pozitivních kontrolních vzorků (na úrovni STC) za podmínek vnitrolaboratorní reprodukovatelnosti. Všechny pozitivní kontrolní vzorky musí přesahovat mezní hodnotu. V případě, že toto kritérium není splněno, musí se provést úplná validace.

4.2.2.5. Ověřování metod, které již byly validovány prostřednictvím kolaborativních zkoušek

U screeningových metod, které již byly úspěšně validovány prostřednictvím kolaborativních zkoušek, je třeba ověřit účinnost. K tomu se musí analyzovat nejméně 6 negativních kontrolních vzorků a 6 pozitivních kontrolních vzorků (na úrovni STC). Všechny pozitivní kontrolní vzorky musí přesahovat mezní hodnotu. V případě, že toto kritérium není splněno, musí laboratoř provést analýzu hlavních příčin, aby určila, proč nemůže splnit specifikaci získanou při kolaborativní zkoušce. Až po přijetí nápravných opatření musí znovu ověřit účinnost metody ve své laboratoři. Pokud laboratoř není schopna ověřit výsledky kolaborativní zkoušky, bude muset stanovit vlastní mezní hodnotu pomocí úplné vnitrolaboratorní validace.

4.2.2.6. Kontinuální ověřování metody/průběžná validace metody

Po počáteční validaci se další údaje z validace získávají tak, že se do každé partie vzorků podrobených screeningu zahrnou alespoň dva pozitivní kontrolní vzorky. Jeden pozitivní kontrolní vzorek musí být známý vzorek (například vzorek použitý při počáteční validaci) a druhý musí být jiná komodita z téže skupiny komodit (pokud se analyzuje pouze jedna komodita, použije se místo něj jiný vzorek této komodity). Zařazení negativního kontrolního vzorku je nepovinné. Výsledky získané pro tyto dva pozitivní kontrolní vzorky se doplní do stávajícího validačního souboru.

Nejméně jednou ročně se opětovně určí mezní hodnota a znovu se posoudí platnost metody (opětovné hodnocení dostupných údajů o kvalitě/kontrole kvality získaných v posledním roce). Kontinuální ověřování metody slouží několika účelům, jako je mimo jiné:

— kontrola kvality pro partii vzorků podrobených screeningu,

— poskytování informací o spolehlivosti metody za podmínek v laboratoři, která metodu uplatňuje,

— odůvodnění použitelnosti metody u různých komodit,

— možnost upravit mezní hodnoty v případě postupných posunů v průběhu času.

4.2.2.7. Zpráva o validaci

Zpráva o validaci musí obsahovat:

— prohlášení o STC,

— prohlášení o stanovené mezní hodnotě,

Poznámka: Mezní hodnota musí mít stejný počet platných číslic jako STC. Číselné hodnoty použité k výpočtu mezní hodnoty musí mít alespoň o jednu platnou číslici víc než STC.

— prohlášení o vypočtené míře falešně podezřelých vzorků,

— prohlášení o tom, jak byla míra falešně podezřelých vzorků vygenerována.

Poznámka: V prohlášení o vypočtené míře falešně podezřelých vzorků se uvede, zda je metoda vhodná pro daný účel, a rovněž počet slepých vzorků (nebo vzorků s nízkou úrovní kontaminace), které budou předmětem ověřování.

Tabulka 2

Skupiny komodit pro validaci potvrzujících a screeningových metod

Skupiny komodit	Kategorie komodit	Typické reprezentativní komodity zahrnuté do dané kategorie
Vysoký obsah vody	Nápoje Ovoce a zelenina Cereální nebo ovocné kaše Čerstvé kuchyňské byliny	Bylinné čaje (v tekuté formě), listy brutnáku lékařského, brambory, kaše pro kojence a malé děti
Vysoký obsah oleje	Ořechy Olejnatá semena a výrobky z nich Olejnaté plody a výrobky z nich	Mandle, meruňková jádra, řepka olejka, bavlníkové semeno, lněné semeno, semena lupiny, maková semena, semena konopí atd. Oleje a pasty
Vysoký obsah škrobu a/nebo bílkovin a nízký obsah vody a tuku	Obilná zrna a výrobky z nich Dietetické výrobky	Kukuřice, pohanka, proso, čirok, maniokmouka, výrobky z brambor Chléb, pekárenské výrobky, krekry, snídaňové cereálie, těstoviny Sušené prášky pro přípravu stravy pro kojence a malé děti
Vysoký obsah kyselin a vody (*)	Výrobky z citrusů	
„Náročné nebo jedinečné komodity“ (**)		Pyl a výrobky z pylu, doplňky stravy, bylinné čaje (sušený výrobek), čaj (sušený výrobek) Koření, lékořice
Vysoký obsah cukru, nízký obsah vody	Sušené ovoce	Fíky, rozinky, korintky, sultánky, med
Mléko a mléčné výrobky	Mléko Sýry Mléčné výrobky (např. sušené mléko)	Kravské, kozí a buvolí mléko Sýr z kravského, kozího mléka Jogurt, smetana

(*) Pokud se používá tlumivý roztok ke stabilizaci změn pH během extrakce, lze tuto skupinu komodit sloučit do jedné skupiny komodit „vysoký obsah vody“.

(**) „Náročné nebo jedinečné komodity“ musí být plně validovány jen tehdy, pokud se analyzují často. Analyzují-li se jen příležitostně, může se validace omezit pouze na kontrolu oznamovacích mezí za použití obohacených slepých výtažků.

Tabulka 3

Jednostranná hodnota t u 5 % míry falešně negativních vzorků

Stupně volnosti	Počet opakování	Hodnota 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. *Požadavky na kvalitativní screeningové metody (metody, které neposkytují číselné hodnoty)*

Různé normalizační orgány (např. AOAC, ISO) v současnosti pracují na vývoji pokynů pro validaci binárních testovacích metod. Organizace AOAC vypracovala pokyny pro validaci binárních testovacích metod. Tento dokument lze považovat za obraz současného stavu techniky v oblasti validace binárních testovacích metod. Metody, jež poskytují výsledky v binární podobě (např. vizuální kontrola testovacích proužků), by proto měly být validovány podle Mezinárodních pokynů AOAC pro validaci kvalitativních binárních chemických metod ([2]).

Lze však použít i jiné uznávané pokyny pro validaci, jako je přístup stanovený v ISO/TS 23758:2021 | IDF/RM 251 Pokyny pro validaci kvalitativních screeningových metod pro detekci reziduí veterinárních léčivých přípravků v mléce a mléčných výrobcích.

4.3. **Odhad nejistoty měření, výpočet výtěžnosti a uvádění výsledků** ([3])

4.3.1. *Potvrzující metody*

([2]) K dispozici na adrese: https://academic.oup.com/jaoac/article-pdf/97/5/1492/32425003/jaoac1492.pdf

([3]) Více podrobností o postupech pro odhad nejistoty měření a pro posouzení výtěžnosti lze nalézt ve zprávě „Report on the relationship between analytical results, measurement uncertainty, recovery factors and the provisions of EU food and feed legislation" – https://food.ec.europa.eu/system/files/2016-10/cs_contaminants_sampling_analysis-report_2004_en.pdf

Výsledek analýzy musí být uveden takto:

a) Je-li to vhodné a relevantní, musí být korigovaný na výtěžnost a případná korekce musí být uvedena. Výtěžnost musí být uvedena, pokud není vnitřní korekce na zkreslení součástí postupu. Korekce na výtěžnost není nutná v případě, že výtěžnost je v rozmezí 90–110 %.

b) Ve tvaru „x +/– U“, kde „x“ je výsledek analýzy a „U“ je rozšířená nejistota měření při analýze s použitím faktoru pokrytí 2, který odpovídá hladině spolehlivosti přibližně 95 %.

Jako možnost může být uvedena standardní rozšířená nejistota měření na úrovni 50 %, a sice tehdy, pokud laboratoř splňuje všechny požadavky na preciznost uvedené v bodě 4.2. Konkrétní laboratoř to může prokázat splněním kritérií pro opakovatelnost (RSD_r) a vnitrolaboratorní reprodukovatelnost ($RSD_{wR,}$) spolu s úspěšnou účastí na programech zkoušení způsobilosti (pokud je vhodný program zkoušení způsobilosti k dispozici), přičemž střední hodnota z $|z| \leq 2$ prokazuje, že je splněna požadovaná reprodukovatelnost (RSD_R) (na základě cílové standardní odchylky 25 %).

V případě, že byl stanoven maximální limit pro sumu toxinů, musí být uvedeny výsledky analýzy všech jednotlivých toxinů.

Korekce na výtěžnost se v příslušném případě provede pro každý z jednotlivých toxinů před součtem koncentrací.

Pro ověření souladu se sumárním ML se použije dolní mez sumy, což znamená, že výsledky pro jednotlivé toxiny, které jsou na úrovni < LOQ, se pro výpočet sumy nahradí nulou.

Tato pravidla interpretace výsledků analýzy týkající se přijetí, nebo odmítnutí šarže se použijí na výsledky analýzy získané ze vzorku pro účely úřední kontroly. V případě analýzy pro účely obhajoby nebo pro referenční účely se použijí vnitrostátní předpisy. Zejména pak platí, že pokud:

z výsledku analýzy vzorku pro účely úřední kontroly vyplývá s přihlédnutím k rozšířené nejistotě měření nade vši pochybnost nesoulad a

z výsledku analýzy vzorku pro účely obhajoby vyplývá nesoulad, ale nikoli nade vši pochybnost, s větší rozšířenou nejistotou měření, než je nejistota v rámci úřední kontroly,

pak výsledek analýzy vzorku pro účely obhajoby nemůže nahradit nesoulad zjištěný u vzorku pro účely úřední kontroly.

4.3.2. *Screeningové metody*

Výsledek screeningu se vyjádří jako vyhovující nebo podezřelý jako nevyhovující.

Výrazem „podezřelý jako nevyhovující“ se rozumí, že vzorek překračuje mezní hodnotu a může obsahovat rostlinný toxin na vyšší úrovni, než je STC. V případě jakéhokoli podezřelého výsledku se provede potvrzující analýza za účelem jednoznačné identifikace a kvantifikace rostlinného toxinu.

Výrazem „vyhovující“ se rozumí, že obsah rostlinného toxinu ve vzorku je s 95 % hladinou spolehlivosti < STC (tj. existuje 5 % pravděpodobnost, že vzorky budou nesprávně hlášeny jako negativní). Výsledek analýzy se uvede jako „< úroveň STC“ a specifikuje se úroveň STC.

4.4. **Normy kvality pro laboratoře**

Laboratoř musí splňovat ustanovení čl. 37 odst. 4 a 5 nařízení (EU) 2017/625.