



2023/2783

15.12.2023

REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2023/2783 DELLA COMMISSIONE

del 14 dicembre 2023

relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo dei tenori di tossine vegetali negli alimenti e che abroga il regolamento (UE) 2015/705

(Testo rilevante ai fini del SEE)

LA COMMISSIONE EUROPEA,

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

visto il regolamento (UE) 2017/625 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 15 marzo 2017, relativo ai controlli ufficiali e alle altre attività ufficiali effettuati per garantire l'applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi, delle norme sulla salute e sul benessere degli animali, sulla sanità delle piante nonché sui prodotti fitosanitari, recante modifica dei regolamenti (CE) n. 999/2001, (CE) n. 396/2005, (CE) n. 1069/2009, (CE) n. 1107/2009, (UE) n. 1151/2012, (UE) n. 652/2014, (UE) 2016/429 e (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio, dei regolamenti (CE) n. 1/2005 e (CE) n. 1099/2009 del Consiglio e delle direttive 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE e 2008/120/CE del Consiglio, e che abroga i regolamenti (CE) n. 854/2004 e (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, le direttive 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE e 97/78/CE del Consiglio e la decisione 92/438/CEE del Consiglio (regolamento sui controlli ufficiali) ⁽¹⁾, in particolare l'articolo 34, paragrafo 6,

considerando quanto segue:

- (1) Il regolamento (UE) 2023/915 della Commissione ⁽²⁾ stabilisce i tenori massimi di alcune tossine vegetali negli alimenti.
- (2) Il campionamento contribuisce in maniera cruciale alla precisione della determinazione dei tenori di tossine vegetali in una determinata partita, poiché le tossine vegetali all'interno di una partita possono essere distribuite in modo eterogeneo. È pertanto opportuno stabilire metodi di campionamento per il controllo ufficiale dei tenori di tossine vegetali negli alimenti.
- (3) Il regolamento di esecuzione (UE) 2023/2782 della Commissione ⁽³⁾ stabilisce i metodi di campionamento da utilizzare per il controllo ufficiale dei tenori di micotossine negli alimenti. Dato che sia le tossine vegetali sia le micotossine sono distribuite in modo eterogeneo all'interno delle partite, è opportuno applicare tali metodi di campionamento anche per quanto riguarda le tossine vegetali.
- (4) I controlli ufficiali possono essere effettuati su alimenti per i quali non sono stati stabiliti tenori massimi specifici per le tossine vegetali e per i quali non è stata stabilita una procedura di campionamento specifica. È pertanto opportuno stabilire criteri per determinare quale procedura di campionamento dovrebbe essere applicata in tali casi.
- (5) Occorre inoltre stabilire i criteri di rendimento generali che il metodo di analisi dovrebbe rispettare per far sì che i laboratori di controllo utilizzino metodi di analisi con livelli di rendimento comparabili. Poiché il laboratorio di riferimento dell'Unione europea per le micotossine e le tossine vegetali ha determinato i criteri di rendimento analitico per l'analisi delle tossine vegetali negli alimenti e che abroga il regolamento (CE) n. 401/2006 (GU L, 2023/2782, 15.12.2023, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/2782/oj).

⁽¹⁾ GU L 95 del 7.4.2017, pag. 1.

⁽²⁾ Regolamento (UE) 2023/915 della Commissione, del 25 aprile 2023, relativo ai tenori massimi di alcuni contaminanti negli alimenti e che abroga il regolamento (CE) n. 1881/2006 (GU L 119 del 5.5.2023, pag. 103).

⁽³⁾ Regolamento di esecuzione (UE) 2023/2782 della Commissione, del 14 dicembre 2023, relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo dei tenori di micotossine negli alimenti e che abroga il regolamento (CE) n. 401/2006 (GU L, 2023/2782, 15.12.2023, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/2782/oj).

- (6) Il regolamento (UE) 2015/705 della Commissione ⁽⁴⁾ stabilisce i metodi di campionamento e i criteri di rendimento per i metodi di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di acido erucico negli alimenti. Poiché i metodi di campionamento e i criteri di rendimento analitico stabiliti nel presente regolamento sono adeguati anche per il controllo della tossina vegetale acido erucico negli alimenti, a fini di semplificazione è opportuno abrogare il regolamento (UE) 2015/705.
- (7) È necessario concedere ai laboratori di controllo il tempo sufficiente per ottemperare alle nuove prescrizioni introdotte dal presente regolamento. È pertanto opportuno prevedere un periodo di tempo ragionevole prima dell'applicazione del presente regolamento.
- (8) Al fine di garantire la continuità nell'esecuzione dei controlli ufficiali e delle altre attività normative in materia di tenori massimi di tossine vegetali e di concedere il tempo sufficiente per la nuova validazione dei metodi di analisi, è opportuno prevedere che i metodi di analisi validati prima della data di applicazione del presente regolamento possano rimanere in uso per un periodo definito.
- (9) Le misure di cui al presente regolamento sono conformi al parere del comitato permanente per le piante, gli animali, gli alimenti e i mangimi,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

Ai fini del presente regolamento si applicano le definizioni di cui all'articolo 1 del regolamento di esecuzione (UE) 2023/2782.

Articolo 2

- (1) Il campionamento per il controllo dei tenori di tossine vegetali negli alimenti è effettuato conformemente ai metodi di cui all'allegato I.
- (2) Qualora un alimento non possa essere classificato in una categoria di alimenti per la quale è stata stabilita una procedura di campionamento nell'allegato I, la procedura di campionamento è determinata tenendo conto delle dimensioni delle particelle di tale alimento o della similarità di tale alimento con un prodotto che può essere classificato in una delle categorie di alimenti di cui all'allegato I.
- (3) Qualora un alimento non possa essere classificato in nessuna delle categorie di alimenti di cui all'allegato I e a condizione che vi siano prove del fatto che le tossine vegetali sono in esso distribuite in modo omogeneo, tale alimento è sottoposto a campionamento utilizzando il metodo di campionamento di cui all'allegato, parte B, del regolamento (CE) n. 333/2007 della Commissione ⁽⁵⁾.

Articolo 3

La preparazione dei campioni e i metodi di analisi utilizzati per il controllo dei tenori di tossine vegetali nei prodotti alimentari rispettano i criteri di cui all'allegato II.

Articolo 4

Il regolamento (UE) 2015/705 è abrogato. I riferimenti al regolamento abrogato si intendono fatti al presente regolamento di esecuzione.

⁽⁴⁾ Regolamento (UE) 2015/705 della Commissione, del 30 aprile 2015, che stabilisce i metodi di campionamento e i criteri di rendimento per i metodi di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di acido erucico negli alimenti e che abroga la direttiva 80/891/CEE della Commissione (GU L 113 dell'1.5.2015, pag. 29).

⁽⁵⁾ Regolamento (CE) n. 333/2007 della Commissione, del 28 marzo 2007, relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo dei tenori di oligoelementi e di contaminanti da processo nei prodotti alimentari (GU L 88 del 29.3.2007, pag. 29).

Articolo 5

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Esso si applica a decorrere dal 1° aprile 2024. I metodi di analisi che sono stati validati prima della data di applicazione del presente regolamento possono tuttavia rimanere in uso fino al 1° luglio 2028, anche se non rispettano tutte le prescrizioni specifiche di cui all'allegato II, punto 4.2, del presente regolamento.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 14 dicembre 2023

Per la Commissione
La presidente
Ursula VON DER LEYEN

ALLEGATO I

METODI DI CAMPIONAMENTO PER IL CONTROLLO DEI TENORI DI TOSSINE VEGETALI NEGLI ALIMENTI

PARTE I

DISPOSIZIONI GENERALI**A.1. Disposizioni generali***A.1.1. Personale*

Il prelievo deve essere effettuato da personale designato dall'autorità competente dello Stato membro.

A.1.2. Materiale da sottoporre a campionamento

Ciascuna partita da analizzare deve essere oggetto di campionamento separato. Conformemente alle disposizioni specifiche di campionamento per le diverse tossine vegetali, le grandi partite devono essere suddivise in sottopartite, che sono oggetto di campionamento separato.

A.1.3. Precauzioni necessarie

Nel corso del prelievo e della preparazione dei campioni occorre adottare alcune precauzioni per evitare qualsiasi alterazione che possa:

- modificare il tenore di tossine vegetali e compromettere la determinazione analitica o la rappresentatività del campione globale;
- compromettere la sicurezza alimentare delle partite da campionare.

Occorre inoltre prendere tutte le misure necessarie a garantire la sicurezza del personale che procede al prelievo dei campioni.

A.1.4. Campioni elementari

I campioni elementari devono essere prelevati per quanto possibile in vari punti distribuiti in tutta la partita o la sottopartita. Qualsiasi deroga a tale norma deve essere segnalata nel verbale di cui al punto A.1.8 del presente allegato.

A.1.5. Preparazione del campione globale

Il campione globale deve essere ottenuto riunendo i campioni elementari.

A.1.6. Campioni replicati

I campioni replicati a fini di applicazione della normativa o nel quadro di controversie o procedure arbitrali devono essere prelevati dal campione globale omogeneizzato, a condizione che tale procedura sia conforme alla legislazione vigente nello Stato membro in materia di diritti degli operatori del settore alimentare.

A.1.7. Confezionamento e invio dei campioni

Ogni campione deve essere collocato in un recipiente pulito, di materiale inerte, che lo protegga adeguatamente da qualsiasi fattore di contaminazione e dai danni che potrebbero essere causati dal trasporto. Occorre adottare tutte le precauzioni necessarie per evitare alterazioni della composizione del campione durante il trasporto o la conservazione.

A.1.8. Sigillatura ed etichettatura dei campioni

Ogni campione prelevato per usi ufficiali deve essere sigillato sul luogo del prelievo e identificato secondo le prescrizioni vigenti nello Stato membro.

Per ciascun prelievo di campione deve essere redatto un verbale di campionamento che consenta di identificare con certezza la partita campionata e che indichi la data e il luogo del campionamento, nonché qualsiasi informazione supplementare utile all'analista.

A.2. Diversi tipi di partite

I prodotti alimentari possono essere commercializzati alla rinfusa, in contenitori o in confezioni individuali (sacchi, confezioni al dettaglio/individuali ecc.). Il metodo di campionamento può essere applicato ai prodotti immessi in commercio alla rinfusa, in contenitori o in confezioni individuali (sacchi, confezioni al dettaglio/individuali o qualsiasi altro tipo).

Fatte salve le disposizioni specifiche di campionamento di altre parti del presente allegato, come guida per il calcolo della frequenza di campionamento delle partite immesse in commercio in confezioni individuali (sacchi, confezioni al dettaglio/individuali ecc.) deve essere usata la formula seguente:

$$\text{frequenza di campionamento } n = \frac{\text{peso della partita} \times \text{peso del campione elementare}}{\text{peso del campione globale} \times \text{peso di una confezione individuale}}$$

— peso: espresso in kg;

— frequenza di campionamento: ogni n confezioni individuali deve essere prelevato un campione elementare (i numeri decimali dovrebbero essere approssimati all'unità più vicina).

A.3. Campionamento di prodotti con un elevato rapporto volume/peso

Ad eccezione dei prodotti alimentari che rientrano nell'allegato I, parte II, parti L e M, del regolamento di esecuzione (UE) 2023/2782, nel caso di campionamenti di prodotti alimentari che presentano un volume elevato rispetto al loro peso (ossia volume (dm³)/peso (kg) > 5) i requisiti di peso possono essere sostituiti da requisiti di volume equivalenti (ossia 1 kg sostituito da 1 dm³).

PARTE II**METODI DI CAMPIONAMENTO**

Si applicano i metodi di campionamento di cui all'allegato I, parte II, del regolamento di esecuzione (UE) 2023/2782.

Per il campionamento delle patate e dei prodotti a base di patate (glicocaloidi) e del miele (alcaloidi pirrolizidinici) si applica tuttavia l'allegato, parte B, del regolamento (CE) n. 333/2007.

ALLEGATO II

Criteria da applicare alla preparazione dei campioni e ai metodi di analisi da utilizzare per il controllo dei tenori di tossine vegetali negli alimenti

1. INTRODUZIONE Precauzioni

Poiché in genere la distribuzione delle tossine vegetali non è omogenea, i campioni devono essere preparati (e soprattutto omogeneizzati) con la massima cura.

Qualora l'omogeneizzazione sia effettuata dal laboratorio, quest'ultimo deve omogeneizzare il campione completo così come è stato ricevuto.
2. TRATTAMENTO DEL CAMPIONE RICEVUTO IN LABORATORIO

Ciascun campione di laboratorio deve essere accuratamente mescolato utilizzando un metodo, compresa se necessario la macinatura fine, che garantisca un'omogeneizzazione completa.

Se il tenore massimo si riferisce alla materia secca, il contenuto di materia secca del prodotto deve essere determinato su una parte del campione omogeneizzato, utilizzando un metodo che si sia dimostrato in grado di determinare con precisione il contenuto di materia secca.
3. CAMPIONI REPLICATI

I campioni replicati a fini di applicazione della normativa o nel quadro di controversie o procedure arbitrali devono essere prelevati dal materiale omogeneizzato, a condizione che tale procedura sia conforme alla legislazione vigente nello Stato membro in materia di diritti degli operatori del settore alimentare.
4. METODO DI ANALISI CHE I LABORATORI DEVONO UTILIZZARE E PRESCRIZIONI RELATIVE AI CONTROLLI DI LABORATORIO
 - 4.1. **Prescrizioni generali**

I metodi di analisi di conferma utilizzati per il controllo alimentare devono essere conformi alle disposizioni dell'allegato III, punti 1 e 2, del regolamento (UE) 2017/625.

Ove possibile, l'esattezza del metodo dovrebbe essere verificata mediante analisi di un materiale di riferimento certificato e/o esito positivo di prove valutative svolte con regolarità.
 - 4.2. **Prescrizioni specifiche**
 - 4.2.1. *Prescrizioni specifiche per i metodi di conferma*
 - 4.2.1.1. Criteri di rendimento

Per i metodi di conferma si applicano i criteri di rendimento elencati in appresso.

Recupero: il recupero medio dovrebbe essere compreso tra il 70 e il 120 %.

Il recupero medio è il valore medio delle repliche ottenuto durante la validazione al momento della determinazione dei parametri di precisione RSD_r e RSD_{wR}. Il criterio si applica a tutte le concentrazioni e a tutte le singole tossine.

In casi eccezionali possono essere accettabili recuperi medi al di fuori del suddetto intervallo, a condizione che tali recuperi siano compresi tra il 50 e il 130 % e che siano rispettati i criteri di precisione per RSD_r e RSD_{wR}.

Precisione

La RSD_r deve essere ≤ 20 %.

La RSD_{wR} deve essere ≤ 20 %.

La RSD_r dovrebbe essere ≤ 25 %.

Tali criteri si applicano a tutte le concentrazioni.

Se un laboratorio fornisce la prova del rispetto del criterio RSD_{wR} non occorre fornire detta prova per il criterio RSD_r in quanto il rispetto della RSD_{wR} garantisce il rispetto del criterio RSD_r.

Se il tenore massimo si applica a una somma di tossine, i criteri di precisione si applicano sia alla somma sia alle singole tossine.

Limite di quantificazione

Quando nella tabella 1 è fissato un requisito specifico per il LOQ di una tossina vegetale, il metodo deve avere un LOQ pari o inferiore a tale valore.

Tabella 1

Requisiti di LOQ per determinate tossine vegetali

Tossina vegetale	Osservazioni	Alimento	Requisito di LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) o ($\mu\text{g}/\text{l}$)
Alcaloidi pirrolizidinici	Requisito di LOQ per i singoli alcaloidi pirrolizidinici	Prodotto essiccato	≤ 10
		Prodotto liquido	$\leq 0,15$
Alcaloidi tropanici	Requisito di LOQ per l'atropina e la scopolamina separatamente	Alimenti trasformati a base di cereali destinati ai lattanti e ai bambini nella prima infanzia	≤ 1
		Cereali e prodotti a base di cereali	≤ 2
		Infusioni di erbe (prodotto essiccato)	≤ 5
		Infusioni di erbe (liquide)	$\leq 0,05$
Alcaloidi oppiacei	Requisito di LOQ per la morfina e la codeina separatamente	Prodotti da forno	≤ 500

In tutti gli altri casi si applica quanto segue:

LOQ: deve essere $\leq 0,5 \cdot$ tenore massimo e dovrebbe essere preferibilmente più basso ($\leq 0,2 \cdot$ tenore massimo).

Se il tenore massimo si applica a una somma di tossine, il LOQ delle singole tossine deve essere $\leq 0,5 \cdot$ tenore massimo/n, dove n è il numero di tossine incluse nella definizione di tenore massimo.

Identificazione

Per l'identificazione si applicano i criteri stabiliti nel documento di orientamento sull'identificazione delle micotossine e delle tossine vegetali negli alimenti e nei mangimi ⁽¹⁾.

4.2.1.2. Estensione dell'ambito di applicazione del metodo

4.2.1.2.1. Estensione dell'ambito di applicazione ad altre tossine vegetali

Quando analiti supplementari sono inseriti nell'ambito di applicazione di un metodo di conferma esistente, occorre eseguire una validazione completa finalizzata a dimostrare l'idoneità del metodo.

4.2.1.2.2. Estensione ad altri prodotti

Se il metodo di conferma è notoriamente o presumibilmente applicabile ad altri prodotti, la validità per detti prodotti è soggetta a verifica. Se il nuovo prodotto appartiene ad un gruppo di prodotti (cfr. tabella 2 nel presente allegato) per i quali è già stata eseguita una validazione iniziale, è sufficiente eseguire un'ulteriore validazione limitata.

4.2.2. Prescrizioni specifiche per i metodi di screening semiquantitativi

4.2.2.1. Ambito di applicazione

La presente sezione riguarda i metodi bioanalitici basati sul riconoscimento immunologico o sul legame ai recettori (quali ELISA, sistemi dip-stick, dispositivi a flusso laterale, immunosensori) e i metodi fisico-chimici basati sulla cromatografia o sulla rilevazione diretta mediante spettrometria di massa (ad esempio la spettrometria di massa a pressione atmosferica). Non si esclude l'impiego di altri metodi (ad esempio la cromatografia su strato sottile) a condizione che i segnali generati siano direttamente connessi alle tossine vegetali di interesse e permettano l'applicazione del principio di seguito descritto.

(1) Disponibile all'indirizzo: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-10/cs_contaminants_sampling_guid-doc-ident-mycotoxins.pdf.

Le prescrizioni specifiche si applicano ai metodi aventi come risultato della misurazione un valore numerico come ad esempio una risposta (relativa) da un lettore dip-stick, un segnale proveniente dal sistema LC-MS ecc., a cui si applicano le statistiche normali.

Le prescrizioni non si applicano ai metodi che non forniscono valori numerici (come ad esempio l'assenza o presenza di un'unica linea), che richiedono strategie di validazione differenti. Prescrizioni specifiche per detti metodi sono indicate al punto 4.2.3.

Il presente documento descrive le procedure per la validazione dei metodi di screening mediante una validazione interlaboratorio, la verifica del rendimento di un metodo validato mediante una prova interlaboratorio e la validazione di un metodo di screening eseguita da un singolo laboratorio.

4.2.2.2. Procedura di validazione

La validazione è finalizzata a dimostrare l'idoneità allo scopo del metodo di screening. Ciò avviene mediante la determinazione del valore soglia, nonché del tasso di falsi negativi e falsi sospetti. Nei due parametri di cui sopra sono integrate caratteristiche di rendimento quali la capacità di rilevazione, la selettività e la precisione.

I metodi di screening possono essere validati mediante una validazione interlaboratorio o eseguita da un singolo laboratorio. Se si dispone già di dati di validazione interlaboratorio per una certa combinazione di tossina vegetale/matrice/STC, è sufficiente la verifica del rendimento del metodo da parte di un laboratorio che lo applica.

4.2.2.2.1. Validazione iniziale eseguita da un singolo laboratorio

Tossine vegetali

La validazione deve essere eseguita per ogni singola tossina vegetale rientrante nell'ambito di applicazione. Nel caso di metodi bioanalitici che forniscono una risposta combinata per un certo gruppo di tossine vegetali (ad esempio gli alcaloidi pirrolizidinici), si deve dimostrare l'applicabilità nonché indicare i limiti del test nell'ambito di applicazione del metodo. La cross-reattività indesiderata non è ritenuta responsabile dell'aumento del tasso di falsi negativi per quanto riguarda le tossine vegetali bersaglio ma può far aumentare il tasso di falsi sospetti. Tale aumento indesiderato deve essere ridotto mediante un'analisi di conferma per identificare in modo univoco e quantificare le tossine vegetali.

Matrici

Occorre eseguire una validazione iniziale per ciascun prodotto o per ciascun gruppo di prodotti qualora il metodo sia notoriamente applicabile a più prodotti. In quest'ultimo caso si deve procedere alla selezione all'interno del gruppo di un prodotto rappresentativo e pertinente (cfr. tabella 2).

Insieme di campioni

Il numero minimo di campioni differenti necessari per la validazione è costituito da 20 campioni di controllo negativi omogenei e da 20 campioni di controllo positivi omogenei contenenti tossine vegetali alla STC e analizzati in condizioni di riproducibilità intra-laboratorio (RSD_{wR}) in 5 giorni diversi. Al fine di determinare in quale misura il metodo è in grado di distinguere le diverse concentrazioni di tossine vegetali è possibile aggiungere ulteriori insiemi di 20 campioni contenenti tenori diversi di tossine vegetali.

Concentrazione

Si deve eseguire una validazione per ogni STC destinata all'impiego nell'applicazione ordinaria.

4.2.2.2.2. Validazione iniziale mediante studi collaborativi

La validazione mediante studi collaborativi deve essere eseguita conformemente alla norma ISO 5725:1994, al protocollo armonizzato internazionale dell'Unione internazionale di chimica pura e applicata (IUPAC) o a un altro protocollo riconosciuto a livello internazionale per quanto riguarda gli studi collaborativi che prescrive l'inserimento di dati validi provenienti da almeno otto laboratori distinti. L'unica altra differenza rispetto alle validazioni eseguite da un singolo laboratorio consiste nella possibilità di suddividere 20 o più campioni per prodotti/tenore in modo equo tra i laboratori partecipanti, a ciascuno dei quali è assegnato un minimo di due campioni.

4.2.2.3. Determinazione del valore soglia e del tasso di risultati falsi sospetti in campioni bianchi

Le risposte (relative) concernenti i campioni di controllo negativi e positivi devono essere impiegate come base per il calcolo dei parametri richiesti.

Metodi di screening la cui risposta è proporzionale alla concentrazione di tossine vegetali

Per i metodi di screening la cui risposta è proporzionale alla concentrazione di tossine vegetali si applica la seguente formula:

$$\text{Valore soglia} = R_{STC} - \text{valore } t_{0,05} * SD_{STC}$$

R_{STC} = risposta media dei campioni di controllo positivi (alla STC)

valore t: valore t a una coda per un tasso di risultati falsi negativi del 5 % (cfr. tabella 3)

SD_{STC} = deviazione standard

Metodi di screening la cui risposta è inversamente proporzionale alla concentrazione di tossine vegetali

Analogamente, per quanto concerne i metodi di screening la cui risposta è inversamente proporzionale alla concentrazione di tossine vegetali, il valore soglia è determinato in base alla seguente formula:

$$\text{Valore soglia} = R_{STC} + \text{valore } t_{0,05} * SD_{STC}$$

L'utilizzo di questo specifico valore t per la determinazione del valore soglia fa sì che il tasso di risultati falsi negativi sia automaticamente fissato al 5 %.

Valutazione dell'idoneità allo scopo

I risultati ottenuti dai campioni di controllo negativi sono impiegati nella stima del corrispondente tasso di risultati falsi sospetti. Il valore t è calcolato in base alla situazione in cui un campione di controllo negativo risulti al di sopra del valore soglia e pertanto venga erroneamente classificato come sospetto.

$$\text{valore } t = (\text{valore soglia} - \text{media}_{\text{bianco}}) / SD_{\text{bianco}}$$

per i metodi di screening la cui risposta è proporzionale alla concentrazione di tossine vegetali;

oppure

$$\text{valore } t = (\text{media}_{\text{bianco}} - \text{valore soglia}) / SD_{\text{bianco}}$$

per i metodi di screening la cui risposta è inversamente proporzionale alla concentrazione di tossine vegetali.

Dato il valore t ottenuto, basato sui gradi di libertà calcolati in base al numero di esperimenti, è possibile procedere al calcolo della probabilità di campioni falsi sospetti per una distribuzione a una coda (ad esempio mediante la funzione «TDIST» nel foglio di calcolo) o alla sua estrazione da una tabella di distribuzione di t (cfr. tabella 3).

Il corrispondente valore di distribuzione di t a una coda indica il tasso di risultati falsi sospetti.

Questo concetto è descritto dettagliatamente in un esempio contenuto in Analytical and Bioanalytical Chemistry, DOI 10.1007/s00216-013-6922-1.

4.2.2.4. Estensione dell'ambito di applicazione del metodo

4.2.2.4.1. Estensione dell'ambito di applicazione ad altre tossine vegetali

Quando nuove tossine vegetali sono inserite nell'ambito di applicazione di un metodo di screening esistente, occorre eseguire una validazione completa finalizzata a dimostrare l'idoneità del metodo.

4.2.2.4.2. Estensione ad altri prodotti

Se il metodo di screening è notoriamente o presumibilmente applicabile ad altri prodotti, la validità per detti prodotti è soggetta a verifica. Se il nuovo prodotto appartiene ad un gruppo di prodotti (cfr. tabella 2 nel presente allegato) per i quali è già stata eseguita una validazione iniziale, è sufficiente eseguire un'ulteriore validazione limitata. A tal fine devono essere analizzati in condizioni di riproducibilità intra-laboratorio almeno 10 campioni di controllo negativi omogenei e di 10 campioni di controllo positivi omogenei (alla STC). Tutti i campioni di controllo positivi devono essere superiori al valore soglia. Qualora questo criterio non sia soddisfatto è necessaria una validazione completa.

4.2.2.5. Verifica dei metodi già validati mediante studi collaborativi

Nel caso di metodi di screening già validati con successo mediante uno studio collaborativo interlaboratorio, si deve eseguire la verifica del rendimento del metodo. A tal fine devono essere analizzati almeno 6 campioni di controllo negativi e 6 campioni di controllo positivi (alla STC). Tutti i campioni di controllo positivi devono essere superiori al valore soglia. Qualora questo criterio non sia soddisfatto, il laboratorio deve eseguire un'analisi delle cause d'origine al fine di individuare i motivi della non conformità alle specifiche, a differenza di quanto rilevato nell'ambito dello studio collaborativo. Solo dopo aver adottato azioni correttive, il laboratorio può eseguire una nuova verifica in ambito interno del rendimento del metodo. Qualora il laboratorio non sia in grado di verificare i risultati dello studio collaborativo, esso dovrà determinare un proprio valore soglia mediante una validazione completa eseguita da un singolo laboratorio.

4.2.2.6. Metodo di verifica continua/metodo di validazione in corso

Dopo la validazione iniziale si procede all'acquisizione di ulteriori dati di validazione includendo almeno due campioni di controllo positivi in ciascun gruppo di campioni esaminati. Un campione di controllo positivo deve essere un campione noto (ad esempio un campione utilizzato nella validazione iniziale) mentre l'altro deve essere un prodotto diverso appartenente allo stesso gruppo di prodotti (in caso di analisi di un solo prodotto è invece utilizzato un campione diverso dello stesso prodotto). L'impiego di un campione di controllo negativo è facoltativo. I risultati ottenuti dall'analisi dei due campioni di controllo positivi sono aggiunti all'insieme di validazione esistente.

Almeno una volta all'anno si eseguono la rideterminazione del valore soglia e una nuova valutazione della validità del metodo (nuova valutazione dei dati di garanzia della qualità/controllo della qualità disponibili ottenuti nell'ultimo anno). Il metodo di verifica continua ha diverse finalità, tra cui:

- controllare la qualità del gruppo di campioni esaminati;
- fornire informazioni sulla robustezza del metodo alle condizioni presenti nel laboratorio dove questo è applicato;
- giustificare l'applicabilità del metodo a prodotti diversi;
- consentire l'adeguamento dei valori soglia in caso di deviazioni graduali nel corso del tempo.

4.2.2.7. Rapporto di validazione

Il rapporto di validazione deve contenere:

- una dichiarazione relativa alla STC;
- una dichiarazione relativa al valore soglia determinato;

Nota: il valore soglia deve possedere un numero di cifre significative pari a quello della STC. I valori numerici impiegati nel calcolo del valore soglia devono possedere almeno una cifra significativa in più rispetto alla STC.

- una dichiarazione sul tasso di falsi sospetti calcolato;
- una dichiarazione sulle modalità di determinazione del tasso di falsi sospetti.

Nota: la dichiarazione sul tasso di falsi sospetti calcolato indica se il metodo è idoneo allo scopo poiché specifica il numero di campioni bianchi (o a basso livello di contaminazione) che saranno sottoposti a verifica.

Tabella 2

Gruppi di prodotti da impiegare per la validazione dei metodi di conferma e di screening

Gruppi di prodotti	Categorie di prodotti	Prodotti tipicamente rappresentativi inclusi nella categoria
Ad elevato contenuto d'acqua	Bevande Ortofrutticoli Purea a base di frutta o cereali Erbe aromatiche fresche	Infusioni di erbe (liquide), foglie di borragine, patate, purea destinata ai lattanti e ai bambini nella prima infanzia
Ad elevato contenuto di oli	Frutta a guscio Semi oleosi e prodotti derivati Frutti oleosi e prodotti derivati	Mandorle, semi di albicocca, colza, semi di cotone, semi di lino, semi di lupino, semi di papavero, semi di canapa ecc. Oli e paste
Ad elevato contenuto di amido e/o proteine e a scarso contenuto di acqua e lipidi	Chicchi di cereali e prodotti derivati Prodotti dietetici	Granturco, grano saraceno, miglio, sorgo, farina di manioca, prodotti a base di patate Pane, prodotti da forno, cracker, cereali da colazione, pasta Polveri essiccate per la preparazione di alimenti per i lattanti e i bambini nella prima infanzia
Ad elevato contenuto acido e contenuto d'acqua (*)	Agrumi e prodotti a base di agrumi	
«Prodotti difficili o unici» (**)		Polline e prodotti a base di polline, integratori alimentari, infusioni di erbe (prodotto essiccato), tè (prodotto essiccato) Spezie, liquirizia
Ad elevato contenuto di zuccheri e a scarso contenuto d'acqua	Frutta secca	Fichi, uva passa, uva di Corinto, uva sultanina, miele
Latte e prodotti a base di latte	Latte Formaggio Prodotti lattiero-caseari (ad esempio, latte in polvere)	Latte di vacca, capra e bufala Formaggio vaccino e caprino Yogurt, panna

(*) In caso di impiego di un tampone per la stabilizzazione delle variazioni del pH in fase di estrazione, questo gruppo di prodotti può essere assimilato in un unico gruppo di prodotti denominato «Ad elevato contenuto d'acqua».

(**) I «prodotti difficili o unici» devono essere unicamente sottoposti a validazione completa nel caso in cui siano frequentemente analizzati. Se sono unicamente analizzati occasionalmente, la validazione può essere limitata al solo controllo dei valori di notifica mediante l'impiego di estratti di bianchi addizionati.

Tabella 3

Valore t a una coda per un tasso di falsi negativi del 5 %

Gradi di libertà	Numero delle repliche	Valore 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. *Prescrizioni relative ai metodi di screening qualitativi (metodi che non forniscono valori numerici)*

Vari organismi di normalizzazione (ad esempio AOAC e ISO) si stanno attualmente occupando dell'elaborazione di orientamenti per la validazione di metodi di test binari. L'AOAC ha redatto un documento di orientamento sulla validazione di metodi di test binari. Tale documento può essere considerato come l'attuale «stato dell'arte» nel campo della validazione di metodi di test binari. I metodi che forniscono risultati binari (ad esempio l'esame visivo dei test dip-stick) devono pertanto essere validati conformemente agli orientamenti «Guidelines for Validation of Qualitative Binary Chemistry Methods» dell'AOAC International ⁽²⁾.

È tuttavia possibile utilizzare altri orientamenti di validazione riconosciuti, quali l'approccio di cui al documento ISO/TS 23758:2021 | IDF/RM 251 «Guidelines for the validation of qualitative screening methods for the detection of residues of veterinary drugs in milk and milk products».

4.3. **Stima dell'incertezza di misura, calcolo del tasso di recupero e comunicazione dei risultati ⁽³⁾**

4.3.1. *Metodi di conferma*

⁽²⁾ Disponibili all'indirizzo: <https://academic.oup.com/jaoac/article-pdf/97/5/1492/32425003/jaoac1492.pdf>.

⁽³⁾ Per maggiori dettagli sulle procedure relative alla stima dell'incertezza di misura e alla valutazione del tasso di recupero si rinvia al documento «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.

Il risultato analitico deve essere indicato come segue:

- a) con correzione per recupero, ove opportuno e pertinente, che qualora sia applicata deve essere indicata. Il tasso di recupero deve essere indicato a meno che la correzione intrinseca per distorsione non faccia parte della procedura. La correzione per recupero non è necessaria se il tasso di recupero è compreso tra il 90 e il 110 %;
- b) nella forma «x +/- U», dove x è il risultato analitico e U è l'incertezza di misura analitica estesa, calcolata per mezzo di un fattore di copertura 2 il cui livello di confidenza è pari al 95 % circa.

È possibile indicare un'incertezza di misura estesa predefinita del 50 %, a condizione che il laboratorio soddisfi tutte le prescrizioni di precisione di cui al punto 4.2. Un singolo laboratorio può dimostrarlo mediante il rispetto dei criteri di ripetibilità (RSD_r) e di riproducibilità intra-laboratorio (RSD_{WR}), integrato dalla partecipazione con esito positivo a programmi di prove valutative (a meno che vi sia indisponibilità di programmi di prove valutative adeguati), in quanto un punteggio z medio $|z| \leq 2$ dimostra che la riproducibilità (RSD_R) richiesta è soddisfatta (sulla base di una deviazione standard bersaglio del 25 %).

Se il tenore massimo è stato fissato per la somma delle tossine, devono essere indicati i risultati analitici di tutte le singole tossine.

La correzione per recupero, se del caso, deve essere effettuata per ciascuna delle singole tossine prima della sommatoria delle concentrazioni.

Per la verifica della conformità al tenore massimo somma si deve applicare un approccio lower bound, il che significa che i risultati per le singole tossine che sono < LOQ devono essere sostituiti da zero per il calcolo della somma.

Le presenti norme di interpretazione del risultato analitico ai fini dell'accettazione o del rifiuto della partita si applicano al risultato analitico ottenuto dal campione destinato al controllo ufficiale. Per le analisi effettuate nel quadro di controversie o procedure arbitrali si applicano le norme nazionali. In particolare se:

il risultato analitico del campione di controllo ufficiale indica una non conformità oltre ogni ragionevole dubbio, tenendo conto dell'incertezza di misura estesa, e

il risultato analitico del campione per la difesa in caso di controversia indica una non conformità ma non al di là di ogni ragionevole dubbio, con una maggiore incertezza di misura estesa rispetto a quella del controllo ufficiale, allora il risultato analitico del campione per la difesa in caso di controversia non può sostituire la non conformità accertata per il campione di controllo ufficiale.

4.3.2. *Metodi di screening*

Il risultato dello screening deve essere espresso come conforme o sospetto non conforme.

«Sospetto non conforme»: il campione supera il valore soglia e può contenere una tossina vegetale a un tenore più alto rispetto alla STC. In caso di risultato sospetto è avviata un'analisi di conferma per identificare in modo univoco e quantificare le tossine vegetali.

«Conforme»: il contenuto di tossine vegetali nel campione è inferiore alla STC con un livello di confidenza del 95 % (cioè, vi è il 5 % di probabilità che i campioni siano erroneamente classificati come negativi). Il risultato analitico è espresso come «inferiore al valore della STC» con riferimento al valore di STC specificato.

4.4. **Norme di qualità applicabili ai laboratori**

I laboratori devono essere conformi alle disposizioni dell'articolo 37, paragrafi 4 e 5, del regolamento (UE) 2017/625.