

**ПРАВИЛНИК
О ИЗМЈЕНАМА И ДОПУНАМА ПРАВИЛНИКА О
МЕТОДАМА УЗОРКОВАЊА И АНАЛИЗА ЗА
СЛУЖБЕНУ КОНТРОЛУ КОЛИЧИНЕ
МИКОТОКСИНА У ХРАНИ**

Члан 1.

У Правилнику о методама узорковања и анализа за службену контролу количине микотоксина у храни ("Службени гласник БиХ", бр. 37/09 и 68/12), у Анексу I. тачки 2.2., табела 1. замјењује се табелом:

"Табела 1. Подјела серија на подсерије зависно од производа и масе серије"

Производ	Тежина серије (тоне)	Тежина или број подсерија	Нема појединачних узорака	Тежина групног узорка (у кг)
Житарике и производи од житарица	> 300 и < 1 500	3 подсерије	100	10
	≥ 50 и ≤ 300	100 тона	100	10
	< 50	-	3-100 ¹	1-10

Члан 2.

У Анексу I, у тачки 2.3. на крају друге алинеје додаје се текст:

"За серије > 500 тона број појединачних узорака предвиђен је у тачки 12.2. Анекса I."

Фуснота ⁽¹⁾ мијења се и гласи:

⁽¹⁾ Узорковање тих серија изводи се у складу са правилима утврђенима у дијелу Ј. Смјернице за узорковање великих серија наводе се у смјерницама које су доступне на следећем линку: <http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/guidance-sampling-final.pdf>

Правила узорковања, која у складу с BAS EN ISO 24333:2011 или правилима узорковања ГАФТА-е бр. 124 примјењују субјекти у пословању са храном како би осигурали усклађеност с одредбама у законодавству идентична су правилима узорковања утврђеним дијелом Ј.

У погледу узорковања серија на присуство токсина *Fusarium* пљесни, правила узорковања, која у складу са EN ISO 24333:2009 или правилима узорковања ГАФТА-е бр. 124 примјењују субјекти у пословању са храном како би осигурали усклађеност с одредбама у законодавству, идентична су правилима узорковања утврђеним у дијелу Б."

Члан 3.

У Анексу I, у тачки 4.2. након прве реченице додаје се текст:

"Ова метода узорковања примјењује се и на службену контролу максимално дозвољених количина прописаних за охратоксин А, афлатоксин Б1 и укупне афлатоксине у зачинама чије су честице релативно велике (величина честица упоредива са кикирикијем или већа, нпр. мушкатни орашчић)."

Члан 4.

У Анексу I, у тачки 5, прва реченица замјењује се текстом:

"Ова метода узорковања примјењује се на службену контролу максимално дозвољених количина прописаних за охратоксин А, афлатоксин Б1 и укупне афлатоксине у зачинама, осим у случајевима зачина чије су честице релативно велике (хетерогена дистрибуција контаминације микотоксином)."

На основу члана 17. став 3. и члана 72. Закона о храни ("Службени гласник БиХ", број 50/04) и члана 17. Закона о Савјету министара Босне и Херцеговине ("Службени гласник БиХ", бр. 30/03, 42/03, 81/06, 76/07, 81/07, 94/07 и 24/08), Савјет министара Босне и Херцеговине, на приједлог Агенције за безбједност хране Босне и Херцеговине, у сарадњи са надлежним органима ентитета и Брчко Дистрикта Босне и Херцеговине, на 106. сједници, одржаној 22. јуна 2017. године, донио је

¹ Зависно од тежине серије – видјети табелу 2

Члан 5.

У Анексу I, у тачки 9. наслов и прва реченица замјенјују се текстом:

"9. МЕТОДЕ УЗОРКОВАЊА ЗА ЧВРСТЕ ПРОИЗВОДЕ ОД ЈАБУКА

Ова метода узорковања примјењује се на службену контролу максимално дозвољених количина прописаних за патулин у чврстим производима од јабука, укључујући чврсте производе од јабука за дојенчад и малу дјецу."

У тачки 9.1, иза текста: "наведен је у Табели 1." брише се сљедећи текст:

"Ако се ради о течним производима, серија се мора потпуно измијешати у оној мјери у којој је то могуће било ручним или механичким путем непосредно прије узорковања. У том случају, подразумијева се хомогена дистрибуција патулина у датој серији. Довољно је узети три појединачна узорка из серије да би се добио групни узорак."

Члан 6.

У Анексу I, иза тачке 11.3. додају се нове тачке 12. и 13. које гласе:

"12. МЕТОДА УЗОРКОВАЊА ЗА ВРЛО ВЕЛИКЕ СЕРИЈЕ ИЛИ СЕРИЈЕ КОЈЕ СЕ СКЛАДИШТЕ ИЛИ ПРЕВОЗЕ ТАКО ДА УЗОРКОВАЊЕ У ЧИТАВОЈ СЕРИЈИ НИЈЕ МОГУЋЕ**12.1. Општи принципи**

Ако начин превоза или складиштења серије онемогућава узимање појединачних узорака у читавој серији, узорковање тих серија треба по могућности вршити када је серија у протоку (динамичко узорковање).

У случају великих складишта намијењених складиштењу хране, субјекте треба подстицати да у складиште уграде опрему којом се омогућавају (аутоматско) узорковање читаве складиштене серије.

Када се примјењују поступци узорковања на начин предвиђен у дијелу 12, субјекте у пословању са храном или његове представнике треба обавијестити о поступцима узорковања. Ако субјекат у пословању са храном или његов представник доведе у питање тај поступак узорковања, субјекат у пословању са храном или његов представник омогућава надлежном органу спровођење узорковања у читавој серији на сопствени трошак.

Дозвољава се узорковање дијела серије уз услов да количина узоркованог дијела износи најмање 10% серије коју треба узорковати. Ако је дио једне серије хране једнаког разреда или описа узоркован те се утврди да не задовољава захтјеве прописа, претпоставља се да ни цијела серија не задовољава те захтјеве, осим ако се даљом детаљном анализом утврди да нема доказа да остатак серије не задовољава захтјеве.

Релевантне одредбе попут масе појединачног узорка предвиђене у другим дијеловима ове тачке примјењују се на узорковање врло великих серија или серија које се складиште или превозе тако да узорковање у читавој серији није могуће.

12.2. Број појединачних узорака које треба узети у случају врло великих серија

Кад се узоркују велики дијелови (узорковани дијелови > 500 тона), број појединачних узорака које треба узети = 100 појединачних узорака + $\sqrt{\text{тона}}$. Међутим, у случају кад је серија мања од 1 500 тона и може се подијелити на подсерије у складу са табелом 1. тачке 2. овог анекса те уз услов да је подсерије могуће физички одвојити, треба узети број појединачних узорака предвиђен у тачки 2.

12.3. Велике серије које се превозе бродом**12.3.1. Динамичко узорковање великих серија које се превозе бродом**

Узорковање великих серија у бродовима, по могућности, обавља се док је производ у протоку (динамичко узорковање).

Узорковање се обавља у бродском складишту (субјекат који се може физички одвојити). Међутим, бродска складишта се дјелимично празне једна за другим тако да почетно физичко одвајање више не постоји након преноса у складишне објекте. Узорковање се стога може обавити и на основу почетног физичког одвајања или на основу одвајања након преноса у складишне објекте.

Истовар брода може трајати неколико дана. Обично се узорковање мора обавити у редовним интервалима за све вријеме трајања истовара. Међутим, није увијек могуће или прикладно да службени инспектор присуствује узорковању за све вријеме трајања истовара. Стога је дозвољено извршити узорковање дијела серије (узорковани дио). Број појединачних узорака одређује се узимањем у обзир величине узоркованог дијела.

Присуство инспектора је потребно чак и када је службени узорак узет аутоматски. Међутим, ако се аутоматско узорковање врши на основу унапријед задатих параметара које није могуће мијењати током узорковања, а појединачни узорци се скуљају у запечаћени пријемни контејнер чиме се спречава свака могућа превара, присуство инспектора је потребно само на почетку узорковања, при свакој промјени контејнера за узорак и на крају узорковања.

12.3.2. Статичко узорковање серија које се превозе бродом

Ако се врши статичко узорковање, примјењује се идентичан поступак који је предвиђен за складишне објекте (силосе) којима се приступа одозго (видјети тачку 12.5.1).

Узорковање се мора извршити на приступачном дијелу (одозго) серије/бродског складишта. Број појединачних узорака одређује се узимањем у обзир величине узоркованог дијела.

12.4. Узорковање великих серија које се складиште у складиштима

Узорковање се мора извршити на приступачном дијелу серије. Број појединачних узорака одређује се узимањем у обзир величине узоркованог дијела.

12.5. Узорковање складишних објеката (силоса)**12.5.1. Узорковање силоса којима се (једноставно) приступа одозго**

Узорковање се мора извршити на приступачном дијелу серије. Број појединачних узорака одређује се узимањем у обзир величине узоркованог дијела.

12.5.2. Узорковање силоса којима се не приступа одозго (затворени силоси)**12.5.2.1. Силоси којима се не приступа одозго (затворени силоси) појединачне величине > 100 тона**

Храна складиштена у тим силосима не може се узорковати на статички начин. Стога, ако се храна у силосу мора узорковати и не постоји могућност премјештања пошиљке, потребно је са субјектом склопити договор у складу с којим је он или она дужан да обавијести инспектора о томе када ће се силос истоварити, дјелимично или потпуно, како би се омогућило узорковање у тренутку када је храна у протоку.

12.5.2.2. Силоси којима се не приступа одозго (затворени силоси) појединачне величине < 100 тона

Супротно одредби тачке 12.1. (узорковани дио најмање 10%), поступак узорковања укључује испуштање у пријемни контејнер количине од 50 кг до 100 кг и узимање узорка из њега. Величина групног узорка у складу је са читавом серијом, а број појединачних узорака односи се на количину хране пуштену из силоса у пријемни контејнер за узорковање.

12.6. Узорковање хране у расутом стању у великим затвореним контејнерима

Те серије често се могу узорковати само након истовара. У одређеним случајевима није могуће обавити истовар на мјесту утовара или контроле те стога узорковање треба обављати при истовару тих контејнера. Субјекат мора обавијестити инспектора о мјесту и времену истовара контејнера.

13. МЕТОДА УЗОРКОВАЊА ДОДАТАКА ИСХРАНИ ЧИЈА ЈЕ ОСНОВА РИЖА КОЈА ЈЕ ФЕРМЕНТИРАЛА ПОМОЋУ ЦРВЕНЕ ПЛИЈЕСНИ *MONASCUS PURPUREUS*

Ова метода узорковања примјењује се на службену контролу максимално дозвољених количина утврђених за цитринин у додацима исхрани чија је основа рижа која је ферментирала помоћу црвене плијесни *Monascus purpureus*.

Поступак узорковања и величина узорка

Поступак узорковања заснива се на претпоставци да се додаци исхрани чија је основа рижа која је ферментирала помоћу црвене плијесни *Monascus purpureus* стављају на тржиште у малопродајним паковањима која уобичајено садржавају од 30 до 120 капсула по малопродајном паковању.

Величина серије (број малопродајних паковања)	Број малопродајних паковања које треба узети за узорак	Величина узорка
1-50	1	Све капсуле
51-250	2	Све капсуле
251-1 000	4	Из сваког малопродајног паковања узетог за узорак половина капсула

> 1 000	4 + 1 малопродајно паковање на 1.000 малопродајних паковања с највише 25 малопродајних паковања	≤ 10 малопродајних паковања: из сваког малопродајног паковања половина капсула > 10 малопродајних паковања: из сваког малопродајног паковања узима се идентичан број капсула како би се добио узорак истоврсног садржаја као 5 малопродајних паковања."
---------	---	--

Члан 7.

У Анексу II, тачке 4.2. "Општи захтјеви", 4.3. "Посебни захтјеви" и 4.4. "Процјена мјерне несигурности, израчунавање искоришћења (енгл. *Recovery*) и извјештавање о резултатима" мијењају се и гласе:

" 4.2. Општи захтјеви

Потврдне методе анализе које се употребљавају у сврхе контроле хране у складу су с одредбама тач. 1. и 2. Анекса II Правилника о службеним контролама које се врше ради верификације поступања у складу с одредбама прописа о храни и храни за животиње те прописа о здрављу и добробити животиња ("Службени гласник БиХ", број 5/13).

4.3. Посебни захтјеви**4.3.1. Посебни захтјеви у погледу потврних метода****4.3.1.1. Критеријуми ефикасности**

Препоручује се примјена потпуно валидираних потврних метода (тј. метода које су валидирани међулабораторијским испитивањем релевантних матрица) према потреби и доступности. Могуће је примјењивати и друге одговарајуће валидирани потврдне методе (нпр. методе које су валидирани у лабораторији на релевантним матрицама које припадају групи производа од интереса), уз услов да испуњавају критеријуме ефикасности утврђене следећим табелама.

Ако је могуће, валидацијом метода које су валидирани у лабораторији обухвата се сертификовани референтни материјал.

Критеријуми ефикасности за афлатоксине

Критеријум	Распон концентрације	Препоручена вриједност	Највећа дозвољена вриједност
Слијепа проба	Све	Занемариво	-
Искоришћење - афлатоксин М1	0,01-0,05 мг/кг	од 60 до 120 %	
	≥ 0,05 мг/кг	од 70 до 110 %	
Искоришћење - афлатоксини Б ₁ , Б ₂ , Г ₁ , Г ₂	< 1,0 мг/кг	од 50 до 120 %	
	1-10 мг/кг	од 70 до 110 %	
	≥ 10 мг/кг	80 до 110 %	
Обновљивост RSDR	Све	Добијена помоћу Хорвицове једначине (*), (**)	2 × вриједност добијена помоћу Хорвицове једначине (*), (**)
Поновљивост RSD _G може се израчунати као 0,66 пута Обновљивост RSDR при концентрацији од интереса			

Напомена:

-Вриједности које треба примјенити на Б₁ и на збир Б₁ + Б₂ + Г₁ + Г₂

-Ако треба изразити зброј појединих афлатоксина Б₁ + Б₂ + Г₁ + Г₂, тада одговор сваког на аналитички систем мора бити или познат или једнак.

(б) Критеријуми ефикасности за охратоксин А

Ниво µg/kg	Охратоксин А		
	RSD _F %	RSD _R %	Искоришћење %
< 1	≤ 40	≤ 60	од 50 до 120
≥ 1	≤ 20	≤ 30	од 70 до 110

(ц) Критеријуми ефикасности за патулин

Ниво µg/kg	Патулин		
	RSD _f %	RSD _R %	Искоришћење %
≤ 20	≤ 30	≤ 40	од 50 до 120
20-50	≤ 20	≤ 30	од 70 до 105
> 50	≤ 15	≤ 25	од 75 до 105

(д) Критеријуми ефикасности за деоксиниваленол

Ниво µg/kg	Деоксиниваленол		
	RSD _f %	RSD _R %	Искоришћење %
> 100-≤ 500	≤ 20	≤ 40	од 60 до 110
> 500	≤ 20	≤ 40	од 70 до 120

(е) Критеријуми ефикасности за зеараленон

Ниво µg/kg	Зеараленон		
	RSD _f %	RSD _R %	Искоришћење %
≤ 50	≤ 40	≤ 50	од 60 до 120
> 50	≤ 25	≤ 40	од 70 до 120

(ф) Критеријуми ефикасности за фумонизин В₁ и В₂ засебно

Ниво µg/kg	Фумонизин В ₁ и В ₂ засебно		
	RSD _f %	RSD _R %	Искоришћење %
≤ 500	≤ 30	≤ 60	од 60 до 120
> 500	≤ 20	≤ 30	од 70 до 110

(г) Критеријуми ефикасности за токсине Т-2 и НТ-2 засебно

Ниво µg/kg	Токсини Т-2 и НТ-2 засебно		
	RSD _f %	RSD _R %	Искоришћење %
15-250	≤ 30	≤ 50	од 60 до 130
> 250	≤ 25	≤ 40	од 60 до 130

(х) Критеријуми ефикасности за цитринин

Ниво µg/kg	Цитринин			
	RSD _f %	Препоручени RSD _R %	Највиши дозвољени RSD _R %	Искоришћење %
Sve	0,66 × RSD _f	Добијена помоћу Хорвицове једначине (*), (**)	2 × вриједност добијена помоћу Хорвицове једначине (*), (**)	од 70 до 120

(и) Напомене уз критеријуме ефикасности за микотоксине:

- Границе детекције коришћених метода нису наведене јер су вриједности прецизности дате код концентрације од интереса.
- Вриједности прецизности рачунају се из Хорвицове једначине, а посебно из оригиналне Хорвицове једначине (за концентрације $1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138$) (*) те из преиначене Хорвицове једначине (за концентрације $C < 1,2 \times 10^{-7}$) (**).

(*) Хорвицова једначина за концентрације $1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138$:

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

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

(**) Преиначена Хорвицова једначина (*) за концентрације $C < 1,2 \times 10^{-7}$:

$$RSD_R = 22 \%$$

(извор: M. Thompson, Analyst, 2000, 125, стр. 385-386)

при чему је:

- RSD_R релативна стандардна девијација израчуната из резултата добијених уз услове обновљивости $[(sR /) \times 100]$,

- С омјер концентрације (тј. 1 = 100 g/100 g, 0,001 = 1 000 mg/kg).

Ово је генерализована једначина прецизности која се показала као независна од анализе и матрице, већ искључиво зависи од концентрације за већину рутинских метода анализе.

4.3.1.2. Приступ, спремност за сврху (енгл. *Fitness for purpose*)

За методе које су валидиране у лабораторији може се, као алтернатива, употребљавати приступ, спремност за сврху (***) како би се оцијенила њихова погодност за коришћење током службене контроле. Методе погодне за коришћење током службене контроле морају дати резултате са стандардном мјерном несигурношћу (у) која је мања од максималне стандардне мјерне несигурности израчунате примјеном формуле у наставку:

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

при чему је:

- Uf максимална стандардна мјерна несигурност (µg/kg),
- LOD граница детекције методе (µg/kg),
- α константа, бројчани фактор који се употребљава зависно од вриједности С. Вриједности које треба употребљавати утврђене су у табели у наставку,

- С концентрација од интереса (µg/kg).

Ако метода анализе даје резултате са мјерном несигурношћу мањом од максималне стандардне несигурности, метода се сматра једнако погодном као и она која задовољава критеријуме ефикасности из тачке 4.3.1.1.

Табела

Нумеричке вриједности које треба употребљавати за α као константу у формули утврђеној овом тачком, зависно од концентрације од интереса

C (µg/kg)	α
≤ 50	0,2
51-500	0,18
501-1 000	0,15
1 001-10 000	0,12
> 10 000	0,1

(***) Извор: M. Thompson i R. Wood, Accred. Qual. Assur, 2006, 10, стр. 471-478.

4.3.2. Посебни захтјеви у погледу полуквантитативних оријентационих метода

4.3.2.1. Област примјене

Облашћу примјене обухваћене су биоаналитичке методе које се заснивају на имунолошком препознавању или везивању на рецепторе (попут ELISA-е, биохемијских трака за тестирање енгл. *dip-sticks*, имунохроматографских тестова енгл. *lateral flow*, имуносензора) те физиохемијске методе које се заснивају на хроматографији или на директној детекцији помоћу масене спектрометрије (нпр. масена спектрометрија у амбијенталном окружењу). Друге методе (нпр. танкослојна хроматографија) не искључују се уз услов да су добијени сигнали директно повезани са микотоксинима од интереса те да се њима дозвољава примјењивост принципа описаног у овом документу.

Посебни захтјеви се примјењују у погледу метода чији је резултат мјерења нумеричка вриједност, на примјер (релативни) одговор добијен помоћу читача биохемијске траке, сигнал из везаног система течне хроматографије - масене спектрометрије (LC-MS) итд. и да се примјењују уобичајени статистички подаци.

Захтјеви се не примјењују у погледу метода којима се не добија нумеричка вриједност (нпр. када је ријеч само о црти која је присутна или није присутна), а у погледу њих захтијевају се другачији приступи валидацији. Посебни захтјеви у погледу ових метода наведени су у тачки 4.3.3.

Овим документом описују се поступци валидације оријентационих метода помоћу унутарлабораторијске валидације, провјере ефикасности методе валидиране помоћу унутарлабораторијске вјежбе те валидације оријентационе методе у једној лабораторији.

4.3.2.2. Појмови

Оријентациона циљна концентрација (STC): концентрација од интереса за детекцију микотоксина у узорку. Када је сврха испитивања усклађености са регулаторним дозвољеним количинама, STC је једнак највећем примјењивом нивоу. За остале потребе или када није утврђен највећи ниво, STC се унапријед одређује у лабораторији.

Оријентациона метода је метода која се употребљава за одабир оних узорака чије количине микотоксина са одређеном сигурношћу прелазе оријентациону циљну концентрацију (STC). За потребе оријентације у погледу микотоксина постојање 95-постотне сигурности сматра се спремним за сврху. Резултат оријентационе анализе изражава се као „негативан“ или „сумњив“. Оријентационим методама омогућена је јефтина анализа великог броја узорака те се тако повећава могућност откривања нових појава високе изложености и ризика за здравље потрошача. Ове методе се заснивају на биоаналитичким методама LC-MS (течна хроматографија - масена спектрометрија) или HPLC (течна хроматографија високе дјелотворности). Резултате добијене из узорака који прелазе граничну вриједност (енгл. *cut-off value*) провјерава се спровођењем потпуне поновне анализе оригиналног узорка помоћу потврдне методе.

„Негативни узорак“ је узорак чији је удио микотоксина у узорку < STC са сигурношћу од 95% (тј. постоји 5-постотна могућност да су узорци нетачно приказани као негативни).

„Лажно негативни узорак“ је узорак чији је удио микотоксина у узорку > STC, но утврђен је као негативан.

„Сумњиви узорак“ (оријентациони позитиван) јесте узорак који прелазе граничну вриједност (видјети у наставку) те може садржавати веће количине микотоксина него STC. У случају сумњивог резултата покреће се потврдна

анализа ради једнозначног утврђивања микотоксина и његове квантификације.

„Лажно сумњиви узорак“ је негативни узорак који је утврђен као сумњив.

„Потврдне методе“ су методе којима се добијају потпуни или допунски подаци чиме се омогућава утврђивање микотоксина и недвосмислено квантификовање при количини од интереса.

Ниво граничне вриједности: одговор, сигнал или концентрација добијени оријентационом методом, изнад које се узорак разврстава као „сумњив“. Гранична вриједност одређује се током валидације те се њоме у обзир узима варијабилност мјерења.

Негативни контролни узорак (слијепа проба матрице) јесте узорак за који је познато да у њему нема⁽¹⁾ микотоксина за оријентацију, нпр. претходно је утврђена довољна осјетљивост примјеном потврдне методе. Ако није могуће добити слијепи узорак, тада се може употребљавати материјал са најнижом доступном количином, све док се на основу те количине долази до закључка да је оријентациона метода спремна за сврху.

Позитивни контролни узорак је узорак који садржава микотоксин у оријентационој циљној концентрацији, нпр. сертификовани референтни материјал, материјал познатог садржаја (нпр. испитни материјал из испитивања способности) или на другачији начин довољно обиљежен помоћу потврдне методе. Ако не постоји ниједна од претходно наведених могућности, може се узети мјешавина узорака различитих нивоа контаминације или обogaћени узорак припремљен у лабораторији који је довољно обиљежен уз услов да се може доказати да је ниво контаминације провјерен.

4.3.2.3. Поступак валидације

Циљ валидације је доказивање спремности оријентационе методе за сврху. То се постиже одређивањем граничне вриједности и одређивањем процента лажно негативних и лажно сумњивих резултата. У ова два параметра уграђене су карактеристике ефикасности као што су осјетљивост, селективност и прецизност.

Оријентационе методе могуће је валидирати у лабораторији односно у једној лабораторији. Ако су већ доступни подаци унутарлабораторијске валидације за одређене комбинације микотоксина/матрице/STC-а, довољно је урадити провјеру ефикасности методе у лабораторији која примјењује методу.

4.3.2.3.1. Почетна валидација помоћу валидације у једној лабораторији

Микотоксини:

За сваки појединачни микотоксин из области примјене врши се валидација. У случају биоаналитичких метода којима се добија комбиновани одговор за одређену групу микотоксина (нпр. афлатоксини B₁, B₂, G₁ и G₂; фумонизини B₁ и B₂) мора се доказати примјењивост те се у област примјене методе морају навести ограничења у погледу испитивања. Не сматра се да се нежељеном унакрсном реактивношћу (нпр. DON-3-глукозид, 3- или 15-ацетил-DON у имунолошким методама испитивања DON-а) повећава проценат лажно негативних резултата у погледу циљних микотоксина, но може доћи до повећања процента лажно сумњивих резултата. Нежељено повећање опада спровођењем потврдне анализе ради једнозначног утврђивања микотоксина и њихове квантификације.

Матрице:

Почетну валидацију треба урадити за сваки производ, односно, ако је познато да се метода може примјенити на више производа, за сваку групу производа. У потоњем случају из те групе одабире се један репрезентативни и релевантни производ (видјети табелу А).

Скуп узорака:

Минималан број различитих узорака који је нужен за спровођење валидације јесте 20 хомогених негативних контролних узорака и 20 хомогених позитивних контролних узорака који садржавају микотоксин у оријентационој циљној концентрацији, а који се анализира при условима средње прецизности (RSD_{R_i}) током пет различитих дана. Друга опција је могућност додавања скупу за валидацију додатног скупа од 20 узорака који садржавају другачије количине микотоксина ради добијања увида у то у којој мјери се методом могу разликовати различите концентрације микотоксина.

Концентрација:

У погледу сваке оријентационе циљне концентрације коју треба употребљавати за рутинску примјену мора се спровести валидација.

4.3.2.3.2. Почетна валидација међулабораторијским испитивањем

Валидација међулабораторијским испитивањем врши се у складу са међународно признатим протоколом о међулабораторијским испитивањима (нпр. ISO 5725:1994 или IUPAC - Међународно усклађени протокол) на основу којег се захтијева укључивање важећих података из најмање осам различитих лабораторија. Осим тога, једина разлика у односу на валидацију у једној лабораторији огледа се у томе да се ≥ 20 узорака по производу/количини може уједначено подијелити међу лабораторијама које учествују, уз услов да једна лабораторија обрађује најмање два узорка.

4.3.2.4. Одређивање граничног нивоа и процента лажно сумњивих резултата слијених узорака

Као основ за израчунавање тражених параметара узимају се (релативни) одговори у случају негативних и позитивних контролних узорака.

Оријентационе методе код којих је одговор пропорционалан концентрацији микотоксина

На оријентационе методе код којих је одговор пропорционалан концентрацији микотоксина примјењује се следеће:

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

R_{STC} = средњи одговор позитивних контролних узорака (при оријентационој циљној концентрацији)

t -вриједност: једносмјерна t -вриједност код којих је постотак лажно негативних резултата 5 % (видјети табелу Б)

SD_{STC} = стандардна девијација оријентационих метода код којих је одговор обрнуто пропорционалан концентрацији микотоксина

Слично томе, за оријентационе методе код којих је одговор обрнуто пропорционалан концентрацији микотоксина гранична вриједност одређује се као:

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

Примјеном ове специфичне t -вриједности ради утврђивања граничне вриједности унапријед је задат проценат лажно негативних резултата и износи 5%.

Оцјена спремности за сврху

Резултати добијени на основу негативних контролних узорака употребљавају се за процјену одговарајућег процента лажно сумњивих резултата. T -вриједност се израчунава у случају кад је резултат негативног контролног узорка већи од граничне вриједности те је тако погрешно разврстан као сумњив.

t -вриједност = (гранична вриједност - средња вриједност_{слијена проба})/ $SD_{\text{слијена проба}}$ за оријентационе методе код којих је одговор пропорционалан концентрацији микотоксина

или

t -вриједност = (средња вриједност_{слијена проба} - гранична вриједност)/ $SD_{\text{слијена проба}}$ за оријентационе методе код којих је одговор обрнуто пропорционалан концентрацији микотоксина

Из добијене t -вриједности, на основу степена слободе израчунаних из бројних експеримената, може се израчунати могућност појаве лажно сумњивих узорака за једносмјерну расподелу (нпр. функција прорачунске табеле „TDIST“) или преузети из табеле t -расподјеле.

Одговарајућом вриједношћу једносмјерне t -расподјеле одређује се проценат лажно сумњивих резултата.

Овај концепт је детаљно описан уз навођење примјера у часопису *Analytical and Bioanalytical Chemistry DOI 10.1007/s00216-013-6922-1*.

4.3.2.5. Проширење области примјене методе**4.3.2.5.1. Проширење области примјене на друге микотоксине:**

Када се области примјене постојеће оријентационе методе додају нови микотоксини, нужно је спровести потпуну валидацију ради доказивања погодности методе.

4.3.2.5.2. Проширење на друге производе

Ако је оријентациона метода позната или се очекује да ће бити примјењива на друге производе, провјерава се поузданост њене примјене на те друге производе. Све док нови производ припада групи производа (видјети табелу А) за коју је већ извршена почетна валидација, довољно је извршити додатну ограничену валидацију. За то је потребно анализирати минимално 10 хомогених негативних и 10 хомогених позитивних контролних узорака (при оријентационој циљној концентрацији), уз услове средње прецизности. Позитивни су контролни узорци изнад граничне вриједности. Ако се не испуни овај критеријум, неопходно је обавити потпуну валидацију.

4.3.2.6. Провјера метода које су већ валидиране међулабораторијским испитивањима

У погледу оријентационих метода које су већ успјешно валидиране међулабораторијским испитивањима провјерава се њихова ефикасност. За то је потребно анализирати минимално шест негативних контролних и шест позитивних контролних узорака (при оријентационој циљној концентрацији). Позитивни су контролни узорци изнад граничне вриједности. Ако се не испуни овај критеријум, лабораторија мора урадити анализу основног узрока како би утврдио разлог због којег не могу задовољити спецификације које су добијене међулабораторијским испитивањем. Тек након предузимања поправних радњи у сопственој лабораторији поново се провјерава ефикасност методе. У случају да лабораторија није у могућности да провјери резултате међулабораторијског испитивања, треба да утврди своје граничне вриједности спроводећи цјеловиту валидацију у једној лабораторији.

4.3.2.7. Постојана провјера методе/непрекидна валидација методе

Након почетне валидације додатни подаци о валидацији добијају се укључењем најмање два позитивна контролна узорка у сваку серију узорака који се провјеравају. Један позитивни контролни узорак је познат узорак (нпр. један коришћен током почетне валидације), други је од различитог производа из исте групе производа (у случају кад се анализира само један производ, употребљава се други узорак тог производа). Не постоји обавеза укључивања негативног контролног узорка. Резултати добијени за два позитивна контролна узорка додају се постојећем скупу за валидацију.

Најмање једном годишње поново се утврђује гранична вриједност, а поузданост методе поново се оцјењује. Постојана провјера методе служи различитим сврхама:

- контроли квалитета серије узорака која се провјерава,
- достављању података о отпорности методе при условима у лабораторији која примјењује методу,
- оправданости примјењивости методе на различите производе,
- допуштању прилагођавања граничних вриједности у случају поступних одступања током времена.

4.3.2.8. Извјештај о валидацији

Извјештај о валидацији садржи:

- изјаву о оријентационој циљној концентрацији (STC),
- изјаву о добијеној граничној вриједности,

Напомена: Гранична вриједност мора имати једнак број значајних знаменки као и STC. Нумеричке вриједности које се употребљавају за израчун граничне вриједности морају имати најмање једну значајну цифру више од STC-а.

- изјаву о израчунатом проценту лажно сумњивих резултата,
- изјаву о начину добијања процента лажно сумњивих резултата.

Напомена: Изјавом о израчунатом проценту лажно сумњивих резултата назначаваче се да ли је метода спремна за сврху с обзиром на то да назначаваче број слијепих (или низак ниво контаминације) узорака који подлијежу провјери.

Табела А

Групе производа у поређењу с којима се вреднују оријентационе методе

Групе производа	Категорије производа	Типични репрезентативни производи обухваћени категоријом
Висок удιο воде	Воћни сокови	Сок од јабуке, сок од грожђа
	Алкохолна пића	Вино, пиво, јабуковача
	Корјенасто и гомољасто поврће	Свјежи ђумбир
Висок удιο масти	Житарице или воћни пире	Пире за дојенчад и малу дјецу
	Орашати плодови	Орах, љешник, кестен
	Уљарице и њихови производи	Уљана репица, сунцокрет, памуково сјеме, соја, кикирики, еусам итд.
Висок удιο скроба и/или протеина те низак удιο воде и масти	Уљасто воће и њихови производи	Уља и пасте (нпр. маслац од кикирикија, тахина)
	Зрна житарица и њихови производи	Пшеница, раж, јечам, кукуруз, пиринач, зоб Интегрални хљеб, хљеб од бијелог брашна, крекери, житарице за доручак, тјестенина
Висок удιο киселине и висок удιο воде (2)	Производи за посебне медицинске потребе	Суви прашчи за припрему хране за дојенчад и малу дјецу
	Цитрусни производи	

„Компликовани или јединствени производи“ (2)		Какао и његови производи, копра и њени производи, кафа, чај Зачини, сладић
Висок удιο шећера, низак удιο воде	Сушено воће	Смокве, грожђице (од бијелог грожђа, од бијелог грожђа без сјеменки, од црног грожђа без сјеменки)
Млијеко и млијечни производи	Млијеко	Кравље, козје и бивоље млијеко
	Сир	Крављи, козји сир
	Млијечне прерађевине (нпр. млијеко у праху)	Јогурт, павлака

Табела Б

Једносмјерна т-вриједност за постотак лажно негативних резултата од 5%

Степени слободе	Број понављања	т-вриједност (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

4.3.3. Захтјеви у погледу квалитативних оријентационих метода (методе које не дају нумеричке вриједности)

Израдом смјерница за валидацију бинарних испитних метода тренутно се баве разна тијела за нормизацију (нпр. AOAC, ISO). Недавно је AOAC о овој теми припремио смјернице. Тај документ може се сматрати најновијим важећим документом у тој области. Стога методе које дају бинарне резултате (нпр. визуелни преглед биохемијске траке за тестирање) треба валидирати у складу с тим смјерницама ¹.

4.4. Пројена мјерне несигурности, израчун искоришћења и извјештавање о резултатима (4)

4.4.1. Потврдне методе

Резултат анализе мора се приказати на следећи начин:

- с корекцијом за искоришћење, при чему се наводи ниво искоришћења. Корекција за искоришћење није потребна ако је проценат искоришћења од 90% до 110%;
- као $x \pm U$, при чему је x резултат анализе, а U проширена мјерна несигурност уз употребу фактора покривања 2, чиме се постиже ниво поузданости од око 95%.

За храну животињског поријекла, узимање у обзир мјерне несигурности може се спровести и утврђивањем границе одлучивања ($CC\alpha$) у складу са Правилником о

¹ http://www.aoac.org/imis15_prod/AOAC_Docs/ISPAM/Qual_Chem_Guideline_Final_Approved_031412.pdf

спровођењу аналитичких метода и тумачењу резултата ("Службени гласник БиХ", број 95/10). (- у случају супстанце са утврђеном дозвољеном границом).

Међутим, ако је резултат анализе знатно (> 50%) нижи од највећег нивоа или много виши од највећег нивоа (тј. више од 5 пута већи од највећег нивоа) и уз услов да су коришћени примјерени поступци за обезбјеђивање квалитета, а сврха анализе је само провјера усклађености са законским одредбама, резултат анализе може се приказати без корекције за искоришћење и у тим случајевима се корекција за искоришћење и мјерна несигурност могу изоставити.

Тренутна правила тумачења резултата анализе с обзиром на прихватање или одбацивање серије примјењују се на аналитички резултат добијен на узорку за службену контролу. У случају анализе у сврху одбране или арбитраже, примјењују се посебна правила.

4.4.2. Оријентационе методе

Резултат оријентационе методе исказује се тако да је узорак усклађен или да постоји сумња о његовој неусклађености.

„Сумња о неусклађености” значи да узорак прелази граничну вриједност те може садржавати веће количине микотоксина него STC. У случају сумњивог резултата покреће се потврдна анализа ради једнозначног утврђивања микотоксина и његове квантификације.

„Усклађен” значи да је удио микотоксина у узорку < STC са 95-постотном сигурношћу (тј. постоји 5-постотна могућност да су узорци нетачно приказани као негативни). Резултат анализе приказује се као „< нивоа STC-а”, при чему је ниво STC-а наведен.

(¹) Сматра се да у узорцима нема аналита ако количина присутна у узорку не прелази више од једне петине оријентационе циљне концентрације (STC). Ако је могуће квантификовати количину помоћу потврдне методе, мора се у обзир узети количина ради оцјене валидације.

(²) Ако се током екстракције за стабилизацију рН промјена употребљава пуферски раствор, могуће је припојити ову групу производа једној групи производа „Висок удио воде”.

(³) „Компликоване или јединствене производе” треба потпуно валидирати само ако се често анализирају. Ако се само повремено анализирају, валидација се може свести на провјеру нивоа извјештавања уз примјену обогаћених екстраката слијепе пробе.

(⁴) Више појединости о поступцима за процјену мјерне несигурности и поступцима за оцјену искоришћења може се пронаћи у Извјештају о односу између аналитичких резултата, мјерне несигурности, фактора искоришћења и одредаба законодавства ЕУ о храни и храни за животиње” - http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/report-sampling_analysis_2004_en.pdf

Члан 8.

Овај правилник ступа на снагу осмог дана од дана објављивања у "Службеном гласнику БиХ".

СМ број 173/17
22. јуна 2017. године
Сарајево

Предсједавајући
Савјета министара БиХ
Др **Денис Звиздић**, с. р.