KOMMISSIONENS GENNEMFØRELSESFORORDNING (EU) 2021/808

af 22. marts 2021

om analysemetoders ydeevne med hensyn til restkoncentrationer af farmakologisk virksomme stoffer, der anvendes i dyr bestemt til fødevareproduktion, om fortolkningen af resultater, om de metoder, der skal anvendes til prøveudtagning, og om ophævelse af beslutning 2002/657/EF og 98/179/EF

(EØS-relevant tekst)

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

under henvisning til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) 2017/625 af 15. marts 2017 om offentlig kontrol og andre officielle aktiviteter med henblik på at sikre anvendelsen af fødevare- og foderlovgivningen og reglerne for dyresundhed og dyrevelfærd, plantesundhed og plantebeskyttelsesmidler, om ændring af Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 999/2001, (EF) nr. 396/2005, (EF) nr. 1069/2009, (EF) nr. 1107/2009, (EU) nr. 1151/2012, (EU) nr. 652/2014, (EU) 2016/429 og (EU) 2016/2031, Rådets forordning (EF) nr. 1/2005 og (EF) nr. 1099/2009 samt Rådets direktiv 98/58/EF, 1999/74/EF, 2007/43/EF, 2008/119/EF og 2008/120/EF og om ophævelse af Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 854/2004 og (EF) nr. 882/2004, Rådets direktiv 89/608/EØF, 89/662/EØF, 90/425/EØF, 91/496/EØF, 96/23/EF, 96/93/EF og 97/78/EF og Rådets afgørelse 92/438/EØF (forordningen om offentlig kontrol) ([1]), særlig artikel 34, stk. 6, og

ud fra følgende betragtninger:

(1) Ved forordning (EU) 2017/625 er der fastsat regler for offentlig kontrol og andre officielle aktiviteter, som medlemsstaternes kompetente myndigheder gennemfører for at verificere, at EU-lovgivningen er overholdt for så vidt angår blandt andet fødevaresikkerheden i alle produktions-, forarbejdnings- og distributionsled. Den indeholder særlige regler om offentlig kontrol i forbindelse med stoffer, hvis anvendelse kan medføre restkoncentrationer i fødevarer og foder, og der fastsættes generelle krav til de metoder, der skal anvendes til prøveudtagning og laboratorieanalyser og -undersøgelser i forbindelse med offentlig kontrol og andre officielle aktiviteter.

(2) Ved Kommissionens beslutning 2002/657/EF ([2]) er der fastsat krav til analysemetoders ydeevne og fortolkning af resultater af analyser af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og animalske produkter, og ved Kommissionens beslutning 98/179/EF ([3]) er der fastsat nærmere bestemmelser om officiel prøveudtagning til kontrol af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf. Begge beslutninger blev vedtaget på grundlag af Rådets direktiv 96/23/EF ([4]), som blev ophævet ved forordning (EU) 2017/625. I lyset af ny videnskabelig udvikling bør disse regler ajourføres, og de bør integreres i den ramme for offentlig kontrol, der er fastlagt ved forordning (EU) 2017/625.

(3) I henhold til artikel 1, stk. 2, i beslutning 2002/657/EF finder nævnte beslutning ikke anvendelse på stoffer, som der er fastsat nærmere bestemmelser for i andre EU-forskrifter. Disse stoffer er mykotoksiner i fødevarer, dioxiner og dioxinlignende polychlorerede biphenyler (PCB'er) i fødevarer og bly, cadmium, kviksølv og benzo(a)pyren i fødevarer. Mykotoksiner i fødevarer skal opfylde kravene i Kommissionens forordning (EF) nr. 401/2006 ([5]) om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af indholdet af mykotoksiner i fødevarer. Kommissionens forordning (EU) 2017/644 ([6]) om prøveudtagnings- og analysemetoder til kontrol af indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og

([1]) EUT L 95 af 7.4.2017, s. 1.

([2]) Kommissionens beslutning 2002/657/EF af 14. august 2002 om gennemførelsesbestemmelser til Rådets direktiv 96/23/EF for så vidt angår analysemetoders ydeevne og fortolkning af resultater (EFT L 221 af 17.8.2002, s. 8).

([3]) Kommissionens beslutning 98/179/EF af 23. februar 1998 om nærmere bestemmelser for officiel prøveudtagning til kontrol af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf (EFT L 65 af 5.3.1998, s. 31).

([4]) Rådets direktiv 96/23/EF af 29. april 1996 om de kontrolforanstaltninger, der skal iværksættes for visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf og om ophævelse af direktiv 85/358/EØF og 86/469/EØF og beslutning 89/187/EØF og 91/664/EØF (EFT L 125 af 23.5.1996, s. 10).

([5]) Kommissionens forordning (EF) nr. 401/2006 af 23. februar 2006 om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af indholdet af mykotoksiner i fødevarer (EUT L 70 af 9.3.2006, s. 12).

([6]) Kommissionens forordning (EU) 2017/644 af 5. april 2017 om prøveudtagnings- og analysemetoder til kontrol af indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer og om ophævelse af forordning (EU) nr. 589/2014 (EUT L 92 af 6.4.2017, s. 9).

ikke-dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer finder anvendelse, når det drejer sig om dioxiner og dioxinlignende PCB'er. Bestemmelser om prøveudtagning og analyse i forbindelse med offentlig kontrol af bly, cadmium, kviksølv og benzo(a)pyren i fødevarer er fastsat ved Kommissionens forordning (EF) nr. 333/2007 ([7]).

(4) Af hensyn til klarheden og retssikkerheden bør de bestemmelser, der gælder for prøveudtagning og analyse af farmakologisk virksomme stoffer, samles i én retsakt, som det er tilfældet med mykotoksiner, dioxiner, dioxinlignende PCB'er, bly, cadmium, kviksølv og benzo(a)pyren i fødevarer.

(5) Beslutning 98/179/EF og 2002/657/EF bør derfor ophæves og erstattes af nærværende forordning.

(6) I henhold til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 1831/2003 ([8]) kan coccidiostatika og histomonostatika anvendes som fodertilsætningsstoffer, og derfor finder Kommissionens forordning (EF) nr. 152/2009 ([9]) om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af foder anvendelse på analyser af indholdet af dem i foder. Nærværende forordning bør imidlertid anvendes, når der analyseres foder som led i opfølgning i forbindelse med undersøgelser af kilden til ikke-overensstemmende prøver i tilfælde af mistanke om eller konstateret manglende overholdelse af EU's regler vedrørende anvendelse eller restkoncentrationer af farmakologisk virksomme stoffer, der er tilladt i veterinærlægemidler eller som fodertilsætningsstoffer, eller af EU's regler vedrørende anvendelse eller restkoncentrationer af forbudte eller ikke-godkendte farmakologisk virksomme stoffer.

(7) For at sikre kontinuitet i gennemførelsen af offentlig kontrol og andre officielle aktiviteter vedrørende restkoncentrationer af farmakologisk virksomme stoffer og for at undgå, at alle metoder skal valideres igen med det samme, kan metoder, der er valideret inden datoen for denne forordnings ikrafttræden, fortsat anvendes i en begrænset periode, jf. dog kravene i punkt 2 og 3 i bilag I til afgørelse 2002/657/EF. Medlemsstaterne bør derfor have tilstrækkelig tid til at anvende kravene i denne forordning på alle analysemetoder.

(8) Foranstaltningerne i denne forordning er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Komité for Planter, Dyr, Fødevarer og Foder —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

Artikel 1

Genstand og anvendelsesområde

Ved denne forordning fastsættes der regler om de analysemetoder, der skal anvendes til prøveudtagning og laboratorieanalyser i forbindelse med restkoncentrationer af farmakologisk virksomme stoffer i levende dyr bestemt til fødevareproduktion samt deres kropsdele og væsker, ekskrementer, væv, animalske produkter, animalske biprodukter, foder og vand. Den fastsætter også regler for fortolkning af analyseresultater af disse laboratorieanalyser.

Denne forordning finder anvendelse på offentlig kontrol med henblik på at verificere overholdelsen af kravene vedrørende forekomst af restkoncentrationer af farmakologisk virksomme stoffer.

([7]) Kommissionens forordning (EF) nr. 333/2007 af 28. marts 2007 om prøveudtagnings- og analysemetoder til kontrol af indholdet af sporstoffer og procesforureninger i fødevarer (EUT L 88 af 29.3.2007, s. 29).

([8]) Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 1831/2003 af 22. september 2003 om fodertilsætningsstoffer (EUT L 268 af 18.10.2003, s. 29).

([9]) Kommissionens forordning (EF) nr. 152/2009 af 27. januar 2009 om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af foder (EUT L 54 af 26.2.2009, s. 1).

Artikel 2

Definitioner

I denne forordning finder definitionerne i artikel 2 i Kommissionens delegerede forordning (EU) 2019/2090 ([10]), i Kommissionens forordning (EU) 2019/1871 ([11]), i artikel 2 i Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 470/2009 ([12]) og i Rådets forordning (EØF) nr. 315/93 ([13]) anvendelse.

Desuden forstås ved:

1) »absolut genfinding«: udbyttet af den sidste fase af en analyseproces for en analysand divideret med mængden af analyt i den oprindelige prøve, udtrykt i procent

2) »nøjagtighed«: graden af overensstemmelse mellem et testresultat og den accepterede reelle referenceværdi, bestemt ved at anslå korrekthed og præcision ([14])

3) »alfa(α)-fejl«: sandsynligheden for, at den testede prøve er i overensstemmelse med kravene, selv om der er fremkommet et ikke-overensstemmende målingsresultat

4) »analyt«: den komponent i et system, der skal analyseres

5) »godkendt stof«: et farmakologisk virksomt stof, der er godkendt til anvendelse på dyr bestemt til fødevareproduktion i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 2001/82/EF ([15])

6) »beta(β)-fejl«: sandsynligheden for, at den testede prøve reelt ikke er i overensstemmelse med kravene, selv om der er fremkommet et overensstemmende målingsresultat

7) »systematisk fejl«: forskellen mellem testresultatets anslåede værdi og en accepteret referenceværdi

8) »kalibreringsstandard«: en sporbar reference for målinger, der repræsenterer mængden af det pågældende stof på en måde, der binder dets værdi til et referencegrundlag

9) »certificeret referencemateriale« (CRM): et referencemateriale, der ledsages af dokumentation udstedt af et organ med delegerede opgaver, og som indeholder en eller flere specificerede værdier af egenskaber med tilhørende usikkerheder og sporbarhed ved anvendelse af gyldige procedurer ([16])

10) »co-kromatografi«: en teknik, hvor et ukendt stof påføres et kromatografisk underlag sammen med et eller flere kendte forbindelser med forventning om, at de ukendte og kendte stoffers relative opførsel vil bidrage til identifikationen af det ukendte stof

11) »ringtest«: analyse af den eller de samme prøver ved hjælp af samme metode til bestemmelse af metodens ydeevnekarakteristika i forskellige laboratorier, hvor undersøgelsen gør det muligt at beregne den tilfældige målefejl og laboratoriets systematiske fejl ved den anvendte metode

([10]) Kommissionens delegerede forordning (EU) 2019/2090 af 19. juni 2019 om supplerende regler til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) 2017/625 for så vidt angår tilfælde af mistanke om eller konstateret manglende overholdelse af EU's regler vedrørende anvendelse eller restkoncentrationer af farmakologisk virksomme stoffer, der er tilladt i veterinærlægemidler eller som fodertilsætningsstoffer, eller af EU's regler vedrørende anvendelse eller restkoncentrationer af forbudte eller ikkegodkendte farmakologisk virksomme stoffer (EUT L 317 af 9.12.2019, s. 28).

([11]) Kommissionens forordning (EU) 2019/1871 af 7. november 2019 om referencegrundlag for tiltag for så vidt angår ikketilladte farmakologisk virksomme stoffer, som forekommer i animalske fødevarer, og om ophævelse af beslutning 2005/34/EF (EUT L 289 af 8.11.2019, s. 41).

([12]) Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 470/2009 af 6. maj 2009 om fællesskabsprocedurer for fastsættelse af grænseværdier for restkoncentrationer af farmakologisk virksomme stoffer i animalske fødevarer, om ophævelse af Rådets forordning (EØF) nr. 2377/90 og om ændring af Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 2001/82/EF og Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 726/2004 (EUT L 152 af 16.6.2009, s. 11).

([13]) Rådets forordning (EØF) nr. 315/93 af 8. februar 1993 om fællesskabsprocedurer for forurenende stoffer i levnedsmidler (EFT L 37 af 13.2.1993, s. 1).

([14]) ISO 3534-1: 2006 Statistik — Ordliste og symboler — Del 1: Generelle statistiske termer og termer for sandsynlighedsteori (kapitel 1).

([15]) Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 2001/82/EF af 6. november 2001 om oprettelse af en fællesskabskodeks for veterinærlægemidler (EFT L 311 af 28.11.2001, s. 1).

([16]) JCGM 200:2008, International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM), Third Edition 2008: https://www.iso.org/sites/JCGM/VIM-JCGM200.htm (Chapter 5 Measurement standards (Etalons)).

12) »verifikationsmetode«: en metode, der giver fuldstændig eller supplerende information, så stoffet kan identificeres entydigt og om nødvendigt kvantificeres på en af følgende måder:

a) på maksimalgrænseværdien for restkoncentration eller maksimalgrænseværdien for godkendte stoffer

b) på referencegrundlaget for tiltag (RPA) for forbudte eller ikke-godkendte stoffer, for hvilke der er fastlagt et referencegrundlag for tiltag

c) på en koncentration, der er så lav, som det med rimelighed er opnåeligt, for forbudte eller ikke-godkendte stoffer, for hvilke der ikke er fastlagt et referencegrundlag for tiltag

13) »dækningsfaktor (k)«: et tal, der udtrykker det ønskede konfidensniveau, og som er forbundet med den ekspanderede måleusikkerhed

14) »beslutningsgrænse for verifikation (CCα)«: den grænse, på og over hvilken det med en fejlsandsynlighed på α kan konkluderes, at en prøve ikke er i overensstemmelse med kravene, og værdien 1-α betyder statistisk sikkerhed i procent for, at den tilladte grænse er overskredet

15) »detektionsevne (CCß) ved screening«: det mindste indhold af analytten, som kan påvises eller kvantificeres i en prøve med en fejlsandsynlighed på ß:

a) for forbudte eller ikke-godkendte farmakologisk virksomme stoffer er CCβ den laveste koncentration, hvor en metode med statistisk sikkerhed på 1-β kan påvise eller kvantificere prøver, der indeholder restkoncentrationer af forbudte eller ikke-godkendte stoffer

b) for godkendte stoffer er CCβ den koncentration, hvor metoden kan påvise koncentrationer under den tilladte grænse med en statistisk sikkerhed på 1-β

16) »spiket prøvemateriale«: en prøve, hvortil der er tilsat en kendt mængde af den analyt, der skal påvises eller kvantificeres.

17) »laboratoriesammenligning«: tilrettelæggelse, udførelse og evaluering af test af den eller de samme prøver foretaget af to eller flere laboratorier i overensstemmelse med forud fastsatte betingelser med henblik på at evaluere testenes ydeevne enten ved en ringtest eller en præstationsprøvning

18) »intern standard (IS)«: et stof, der ikke er indeholdt i prøven, og som har fysisk-kemiske egenskaber, der i så høj grad som muligt svarer til egenskaberne hos den analyt, der skal identificeres eller kvantificeres

19) »det relevante niveau«: den koncentration af stof eller analyt i en prøve, der er af betydning for at bestemme, om lovgivningen overholdes med hensyn til:

a) maksimalgrænseværdien for restkoncentration eller maksimalgrænseværdien for godkendte stoffer, jf. Kommissionens forordning (EF) nr. 124/2009 ([17]) og Kommissionens forordning (EU) nr. 37/2010 ([18])

b) referencegrundlag for tiltag vedrørende forbudte eller ikke-godkendte stoffer, for hvilke der er fastlagt et referencegrundlag for tiltag, jf. forordning (EU) 2019/1871

c) en koncentration, der er så lav, som det analytisk er opnåeligt, for forbudte eller ikke-godkendte stoffer, for hvilke der ikke er fastlagt et referencegrundlag for tiltag

20) »laveste kalibrerede niveau« (LCL): den laveste koncentration, som målesystemet er blevet kalibreret på

21) »matrix«: det materiale, som en prøve udtages af

22) »matrixeffekt«: forskellen i den analytiske respons mellem en standard opløst i opløsningsmidlet og en matrixtilpasset standard enten uden korrektion ved hjælp af en intern standard eller med korrektion ved hjælp af en intern standard

([17]) Kommissionens forordning (EF) nr. 124/2009 af 10. februar 2009 om fastsættelse af maksimalgrænseværdier for tilstedeværelsen af coccidiostatika eller histomonostatika i fødevarer som følge af uundgåeligt overslæb af disse stoffer til foder, som de ikke er beregnet til (EUT L 40 af 11.2.2009, s. 7).

([18]) Kommissionens forordning (EU) nr. 37/2010 af 22. december 2009 om farmakologisk virksomme stoffer og disses klassifikation med hensyn til maksimalgrænseværdier for restkoncentrationer i animalske fødevarer (EUT L 15 af 20.1.2010, s. 1).

23) »matrixtilpasset standard«: en matrixblindprøve (dvs. analytfri), hvortil analytten tilsættes i en række koncentrationer efter prøvebehandlingen

24) »matrixspiket standard«: en matrixblindprøve (dvs. analytfri), som inden ekstraktion med opløsningsmiddel og prøvebehandling tilsættes analytten i en række koncentrationer

25) »målestørrelse«: den givne størrelse, som skal måles

26) »måleusikkerhed«: en ikke-negativ parameter, der er knyttet til måleresultatet, og som karakteriserer spredningen af værdier, som med rimelighed kan tilskrives målestørrelsen, baseret på de anvendte oplysninger

27) »kriterier for metodens ydeevne«: krav til karakteristika for metodens ydeevne, ifølge hvilket det kan konkluderes, at analysemetoden er egnet til den påtænkte anvendelse og genererer pålidelige resultater

28) »præcision«: graden af overensstemmelse mellem uafhængige testresultater fremkommet under forud fastsatte betingelser og udtrykt som standardafvigelsen eller variationskoefficienten for testresultaterne

29) »kvalitativ metode«: en analysemetode, der påviser eller identificerer et stof eller en gruppe af stoffer på grundlag af de kemiske, biologiske eller fysiske egenskaber

30) »kvantitativ metode«: en analysemetode, der bestemmer mængden eller massefraktionen af et stof, således at den kan udtrykkes som en numerisk værdi i relevante enheder

31) »genfinding«: mængden af en genfindingskorrigeret analyt divideret med den spikede mængde af analytten i matrixprøven, udtrykt i procent

32) »genfindingskorrektion«: anvendelse af interne standarder, anvendelse af en matrixkalibreringskurve samt anvendelse af en genfindingskorrektionsfaktor samt en kombination af disse metoder

33) »referencemateriale«: et materiale, der er tilstrækkeligt homogent og stabilt med hensyn til en eller flere specificerede egenskaber, og som er fundet egnet til den påtænkte anvendelse i en måleproces eller ved undersøgelse af nominelle egenskaber ([19])

34) »relativ matrixeffekt«: forskellen i det analytiske respons mellem en standard opløst i opløsningsmidlet og en matrixtilpasset standard med korrektion ved hjælp af en intern standard

35) »repeterbarhed«: præcision under betingelser, hvor der opnås uafhængige testresultater med den samme metode på identiske prøveemner på det samme laboratorium af den samme person med det samme udstyr inden for korte tidsintervaller

36) »reproducerbarhed«: præcision under betingelser, hvor der opnås uafhængige testresultater med den samme metode på identiske prøveemner på forskellige laboratorier af forskellige personer med forskelligt udstyr ([20])

37) »robusthed«: en analysemetodes følsomhed over for ændringer i forsøgsbetingelserne, hvorunder metoden kan anvendes, som den foreligger eller med nærmere angivne mindre ændringer

38) »screeningsmetode«: en metode, der anvendes til screening af et stof eller en klasse af stoffer på det relevante niveau

39) »screeningsmålkoncentration« (STC): den koncentration, der er lavere end eller lig med CCβ, ved hvilken en screeningstest kategoriserer prøven som potentielt ikke-overensstemmende »screeningspositiv« og udløser en verifikationstest

40) »selektivitet«: en metodes evne til at skelne mellem den analyt, der måles, og andre stoffer

41) »enkelt-laboratorieundersøgelse« eller »validering på ét laboratorium«: en analytisk undersøgelse, der kun inddrager ét laboratorium, ved anvendelse af én metode til at analysere samme eller forskellige testmaterialer under forskellige betingelser i tidsperioder med en længde, der begrundes

([19]) Codex Alimentarius-Kommissionen, De Forenede Nationers Fødevare- og Landbrugsorganisation, Guidelines on analytical terminology (CAC/GL 72-2009).

([20]) ISO 5725-1:1994, Nøjagtighed (korrekthed og præcision) af målemetoder og resultater — Del 1: Generelle principper og definitioner (kapitel 3).

42) »standardaddition«: en procedure, hvor en del af prøven analyseres uden videre, og der tilsættes kendte mængder af standardanalytten til de øvrige testportioner inden analyse

43) »standardanalyt«: en analyt med kendt og certificeret indhold og renhed, der anvendes som referencemateriale i analysen

44) »stof«: et stof med konstant sammensætning, der er karakteriseret ved de enheder, det er sammensat af, og ved bestemte fysiske egenskaber

45) »testportion«: den mængde materiale, der udtages af den prøve, som testes eller observeres

46) »korrekthed«: graden af overensstemmelse mellem den gennemsnitsværdi, der er fremkommet ved en lang række testresultater, og en accepteret referenceværdi

47) »enheder«: de enheder, der er beskrevet i ISO 80000 ([21]) og i direktiv 80/181/EØF ([22])

48) »validering«: demonstration — ved hjælp af undersøgelse og tilvejebringelse af faktiske kendsgerninger — af, at de særlige krav til en specifik påtænkt anvendelse er opfyldt ([23]), ved hjælp af en enkelt-laboratorieundersøgelse eller en ringtest

49) »intern reproducerbarhed« eller »intermediær præcision/intern reproducerbarhed«: målepræcision under en række interne laboratorieforhold i et specifikt laboratorium.

Artikel 3

Analysemetoder

Medlemsstaterne sikrer, at de prøver, der udtages i henhold til artikel 34 i forordning (EU) 2017/625, analyseres ved hjælp af metoder, der opfylder følgende krav:

1) de er dokumenteret i testvejledninger, helst i overensstemmelse med bilag til ISO 78-2:1999 Kemi — Udformning af standarder — Del 2: Kemiske analysemetoder ([24])

2) de opfylder de kriterier for metodeydeevne og andre krav til analysemetoder, der er fastsat i kapitel 1 i bilag I til denne forordning

3) de er valideret i overensstemmelse med kravene i kapitel 2 og 4 i bilag I til denne forordning

4) de gør det muligt at håndhæve de referencegrundlag for tiltag, der er fastsat i forordning (EU) 2019/1871, at identificere forekomsten af forbudte og ikke-godkendte stoffer og at håndhæve maksimalgrænseværdier (ML'er), der er fastsat på grundlag af forordning (EØF) nr. 315/93 og forordning (EF) nr. 124/2009, og maksimalgrænseværdier for restkoncentrationer (MRL'er), der er fastsat på grundlag af forordning (EF) nr. 1831/2003 og (EF) nr. 470/2009.

Artikel 4

Kvalitetskontrol

Medlemsstaterne sikrer kvaliteten af resultaterne af analyser, der udføres i henhold til forordning (EU) 2017/625, navnlig ved at overvåge test eller kalibreringsresultater i overensstemmelse med ISO/IEC 17025: 2017 Generelle krav til prøvnings- og kalibreringslaboratoriers kompetence, og med kravene til kvalitetskontrol under rutinemæssige analyser som fastsat i kapitel 3 i bilag I til nærværende forordning.

([21]) ISO 80000-1:2009 Fysiske størrelser og enheder — Del 1: Generelt.
([22]) Rådets direktiv 80/181/EØF af 20. december 1979 om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om måleenheder og om ophævelse af direktiv 71/354/EØF (EFT L 39 af 15.2.1980, s. 40).
([23]) EN ISO/IEC 17025:2017 Generelle krav til prøvnings- og kalibreringslaboratoriers kompetence (kapitel 3).
([24]) ISO 78-2: 1999 Kemi — Udformning af standarder — Del 2: Kemiske analysemetoder (bilag).

Artikel 5

Fortolkning af resultater

1) Resultatet af en analyse anses for ikke at opfylde kravene, hvis det er lig med eller over beslutningsgrænsen for verifikation (CCα).

2) For godkendte stoffer, for hvilke der er fastsat en MRL eller en ML, er beslutningsgrænsen for verifikation (CCα) den koncentration, på eller over hvilken det med en statistisk sikkerhed på den numeriske værdi 1-α kan bestemmes, at den tilladte grænseværdi er overskredet.

3) For ikke-godkendte eller forbudte stoffer eller for godkendte stoffer, for hvilke der ikke er fastsat nogen MRL eller ML i en specifik art eller et specifikt produkt, er beslutningsgrænsen for verifikation (CCα) den laveste koncentration, på hvilken det med en statistisk sikkerhed på den numeriske værdi 1-α kan bestemmes, at den pågældende analyt forekommer.

4) For ikke-godkendte eller forbudte farmakologisk virksomme stoffer må α-fejlen højst udgøre 1 %. For alle andre stoffer må α-fejlen højst udgøre 5 %.

Artikel 6

Prøveudtagningsmetoder

Medlemsstaterne sikrer, at prøver udtages, håndteres og mærkes i overensstemmelse med de detaljerede prøveudtagningsmetoder, der er fastsat i bilag II til denne forordning.

Artikel 7

Ophævelse og overgangsforanstaltninger

Beslutning 2002/657/EF og 98/179/EF ophæves med virkning fra datoen for denne forordnings ikrafttræden.

Indtil den 10. juni 2026 finder kravene i punkt 2 og 3 i bilag I til beslutning 2002/657/EF dog fortsat anvendelse på metoder, der er valideret inden datoen for denne forordnings ikrafttræden.

Artikel 8

Ikrafttræden

Denne forordning træder i kraft på tyvendedagen efter offentliggørelsen i *Den Europæiske Unions Tidende*.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 22. marts 2021.

På Kommissionens vegne
Ursula VON DER LEYEN
Formand

BILAG I

KAPITEL 1

KRITERIER FOR METODENS YDEEVNE OG ANDRE KRAV TIL ANALYSEMETODER

1.1. **Krav til screeningsmetoder**

1.1.1. *Kategorier af egnede screeningsmetoder*

Kvalitative, semi-kvantitative eller kvantitative metoder anvendes som egnede screeningsmetoder.

1.1.2. Krav til biologiske, biokemiske eller fysisk-kemiske screeningsmetoder

For forbudte eller ikke-godkendte stoffer skal CCβ være så lavt, som det med rimelighed er opnåeligt, og under alle omstændigheder være lavere end referencegrundlaget for tiltag (RPA) for stoffer, for hvilke der er fastsat RPA'er i henhold til forordning (EU) 2019/1871.

For godkendte farmakologisk virksomme stoffer skal CCβ være lavere end MRL eller ML.

Analysemetoder må kun anvendes til screening, hvis det kan godtgøres på en dokumenteret, sporbar måde, at de er validerede og har en falsk overensstemmende andel på højst 5 % (β-fejl). Hvis der er mistanke om et ikke-overensstemmende resultat, skal resultatet verificeres ved en verifikationsmetode.

Kvantitative screeningsmetoder, der anvendes til både screening og verifikation, skal opfylde de samme krav til nøjagtighed, interval og præcision som beskrevet i punkt 1.2.2.1 og 1.2.2.2.

1.2. **Krav til verifikationsmetoder**

1.2.1. *Generelle krav til verifikationsmetoder*

For forbudte eller ikke-godkendte stoffer skal CCα være så lav, som det med rimelighed er opnåeligt. For forbudte eller ikke-godkendte stoffer, for hvilke der er fastsat en RPA i henhold til forordning (EU) 2019/1871, skal CCα være lavere end eller lig med referencegrundlaget for tiltag.

For godkendte stoffer skal CCα være højere end, men så tæt som muligt på MRL eller ML.

Til verifikationsformål må der kun anvendes analysemetoder, for hvilke det på en dokumenteret, sporbar måde kan godtgøres, at de er validerede og har en falsk ikke-overensstemmende andel (α-fejl) på højst 1 % for forbudte eller ikke-godkendte stoffer eller på højst 5 % for godkendte stoffer.

Verifikationsmetoder skal give information om analyttens strukturelle kemiske sammensætning. Verifikationsmetoder, der udelukkende er baseret på kromatografisk analyse uden anvendelse af massespektrometrisk detektion, er derfor ikke i sig selv egnede som verifikationsmetoder for forbudte eller ikke-godkendte farmakologisk virksomme stoffer. Hvis massespektrometri ikke er egnet til godkendte stoffer, kan der anvendes andre metoder såsom HPLC-DAD og -FLD eller en kombination heraf.

Hvis verifikationsmetoden tilsiger det, tilsættes testportionen i begyndelsen af ekstraktionen en egnet intern standard. Afhængigt af hvad der er til rådighed, anvendes der enten isotopmærkede varianter af analytten, som er særligt egnede til massespektrometrisk detektion, eller analoge forbindelser, der strukturelt ligger tæt på analytten. Hvis der ikke kan anvendes en egnet intern standard, verificeres identifikationen af analytten ved co-kromatografi ([1]). I så fald må der kun fremkomme én top, og forøgelsen af tophøjden (eller arealet) er lig med mængden af tilsat analyt. Hvis dette ikke er praktisk muligt, anvendes matrixtilpassede eller matrixspikede standarder.

([1]) Ved »co-kromatografi« forstås en metode, hvor prøveekstraktet inden kromatografi deles i to dele. Den ene del kromatograferes uden videre. Den anden del blandes med den standardanalyt, der skal måles. Så kromatograferes blandingen. Mængden af tilsat standardanalyt skal svare til den skønnede mængde analyt i ekstraktet. Co-kromatografi anvendes til at forbedre identifikationen af en analyt, når man anvender kromatografiske metoder, navnlig hvis der ikke kan anvendes nogen egnet intern standard.

1.2.2. *Generelle ydeevnekriterier for verifikationsmetoder*

1.2.2.1. Korrekthed ved genfinding

Ved gentagne analyser af et certificeret referencemateriale skal afvigelsen af den eksperimentelt bestemte genfindingskorrigerede gennemsnitlige massefraktion fra den certificerede værdi være i overensstemmelse med de korrekthedsintervaller, der er anført i tabel 1.

Tabel 1

Kvantitative metoders minimumskorrekthed

Massefraktion	Interval
≤ 1 µg/kg	−50 % til +20 %
> 1 µg/kg til 10 µg/kg	−30 % til +20 %
≥ 10 µg/kg	−20 % til +20 %

Hvis der ikke er certificerede referencematerialer til rådighed, kan det accepteres, at målingernes korrekthed vurderes på andre måder, f.eks. ved at anvende materialer med tildelte værdier fra laboratoriesammenligninger eller ved tilsætning af kendte mængder af analytten/analytterne til en matrixblindprøve.

1.2.2.2. Præcision

Variationskoefficienten (CV) for gentagne analyser af et referencemateriale eller spiket materiale må under intern reproducerbarhedsbetingelser ikke overstige det niveau, der er beregnet efter Horwitz-ligningen: Ligningen er:

$CV = 2^{(1 - 0.5 \log C)}$

hvor C er massefraktionen udtrykt som en potens af 10 (f.eks. 1 mg/g = 10^{-3}). For massefraktioner under 120 µg/kg giver anvendelsen af Horwitz-ligningen uacceptabelt høje værdier. Den tilladte maksimale variationskoefficient må derfor ikke være større end værdierne i tabel 2.

Tabel 2

Acceptabel variationskoefficient

Massefraktion	**Reproducerbarheds-CV (%)**
> 1 000 µg/kg	16 (tilpasset efter Horwitz-ligningen)
> 120 µg/kg - 1 000 µg/kg	22 (tilpasset efter Horwitz-ligningen)
10-120 µg/kg	25 *
< 10 µg/kg	30 *

* * CV (%) er vejledende og bør være så lav, som det med rimelighed er opnåeligt.

For analyser udført under repeterbarhedsbetingelser må variationskoefficienten under repeterbarhedsforhold højst udgøre to tredjedele af værdierne i tabel 2.

1.2.3. *Krav til kromatografisk separation*

For væske- eller gaskromatografi (LC og GC) er den mindste acceptable retentionstid for den undersøgte analyt i alle tilfælde to gange retentionstiden svarende til kolonnens dødvolumen. Retentionstiden for analytten i ekstraktet skal svare til kalibreringsstandardens, en matrixtilpasset standards eller en matrixspiket standards med en tolerance på ± 0,1 minut. Ved hurtig kromatografi, hvor retentionstiden er under 2 minutter, accepteres en afvigelse på mindre end 5 % af retentionstiden. Hvis der anvendes en intern standard, skal forholdet mellem

analyttens kromatografiske retentionstid og den interne standards, dvs. analyttens relative retentionstid, svare til den tid, som kalibreringsstandarden, den matrixtilpassede standard eller den matrixspikede standard har, med en afvigelse på højst 0,5 % for gaskromatografi og 1 % for væskekromatografi for metoder, der er valideret fra datoen for denne forordnings ikrafttræden.

1.2.4. *Specifikke ydeevnekriterier for massespektrometri*

1.2.4.1. Massespektrometrisk detektion

Massespektrometrisk detektion skal udføres ved hjælp af nogle af følgende muligheder:

1. full scan-massespektre
2. selected ion monitoring (SIM)
3. sekventiel massespektrometri (MS^n), såsom måling af udvalgte reaktioner (SRM)
4. en kombination af massespektrometri (MS) eller sekventiel massespektrometri (MS^n) med relevante ioniseringsformer.

Både massespektrometri med lav opløsning (LRMS, ved enhedsmasseopløsning) og massespektrometri med høj opløsning (HRMS), herunder f.eks. dobbeltfokuserende sektorinstrumenter, Time of Flight-instrumenter (TOF) og Orbitrap-instrumenter, er hensigtsmæssige.

Til verifikation af en analyts identitet ved højtopløsende massespektrometri (HRMS) skal masseafvigelsen for alle diagnostiske ioner være under 5 ppm (eller i tilfælde af $m/z < 200$ under 1 mDa). På grundlag heraf bør den faktiske opløsningsevne vælges som egnet til formålet, og opløsningsevnen skal typisk være større end 10 000 for hele masseintervallet ved 10 % dal eller 20 000 ved fuld bredde i halv tophøjde (FWHM).

Når der foretages massespektrometrisk bestemmelse ved registrering af full scan-spektre (både LRMS og HRMS), er det kun diagnostiske ioner med en relativ intensitet på over 10 % i referencespektret for kalibreringsstandarden, den matrixtilpassede standard eller den matrixspikede standard, der er egnede. Diagnostiske ioner skal omfatte molekylar-ionen (hvis den er til stede ved en intensitet på ≥ 10 % af basistoppen) og karakteristiske fragment-ioner eller produkt-ioner.

Valg af prækursor-ion: Når der foretages massespektrometrisk bestemmelse ved fragmentering efter udvælgelse af prækursor-ion, foretages selektionen af prækursor-ion ved enhedsmasseopløsning eller bedre. Den valgte prækursor-ion skal være molekylar-ionen, karakteristiske addukter af molekylar-ionen, karakteristiske produkt-ioner eller en af deres isotop-ioner. Hvis prækursorselektionen har et masseselektionsvindue på mere end én dalton (f.eks. i tilfælde af datauafhængig opsamling (Data Independent Acquisition)), betragtes teknikken som en full-scan-verifikationsanalyse.

Fragment-ioner og produkt-ioner: De valgte diagnostiske produkt- eller fragment-ioner skal være diagnostisk fragment for den målte analyt/det målte produkt. Ikke-selektive overgangsprodukter (f.eks. tropylium-kation eller tab af vand) udelades, hvis det er muligt. Diagnostiske ioners hyppighed bestemmes ud fra toppens areal eller højden af de integrerede ekstraherede ionkromatogrammer. Dette gælder også, når der anvendes full scan-målinger til identifikation. Signal-til-støj-forholdet (S/N-forholdet) for alle diagnostiske ioner skal være større end eller lig med tre til en (3:1).

Relative intensiteter: De diagnostiske ioners relative intensiteter (ion-forholdet) udtrykkes som en procentdel af intensiteten af den hyppigste ion eller det hyppigste overgangsprodukt. Ionforholdet bestemmes ved at sammenligne spektre eller ved at integrere signalerne fra de ekstraherede ionkromatogrammer. Ionforholdet for den analyt, der skal verificeres, skal svare til ionforholdet for de matrixtilpassede standarder, matrixspikede standarder eller standardopløsninger ved sammenlignelige koncentrationer, målt under samme betingelser, inden for ± 40 % relativ afvigelse.

For alle massespektrometriske analyser bestemmes mindst ét ionforhold. Disse skal helst være ioner, der opnås inden for en enkelt scanning, men ionerne kan også stamme fra forskellige scanninger i samme injektion (dvs. full scan og fragmenteringsscanning).

1.2.4.2. Identifikation

Der anvendes et system med identifikationspoint til at udvælge passende opsamlingsmetoder og evalueringskriterier. Til bekræftelse af identiteten af stoffer i en matrix, for hvilken der er fastsat en MRL (godkendt anvendelse), kræves der mindst 4 identifikationspoint. For ikke-godkendte eller forbudte stoffer kræves der 5 identifikationspoint. Et point kan stamme fra den kromatografiske separation. Tabel 3 viser, hvor mange identifikationspoint hver af teknikkerne giver. For at kvalificere sig til de identifikationspoint, der kræves til verifikation, kan der tilføjes identifikationspoint, der stammer fra forskellige teknikker.

1. Alle massespektrometriske analyser skal kombineres med en separationsteknik, der giver tilstrækkelig separationsevne og selektivitet til den specifikke anvendelse. Egnede separationsteknikker er bl.a. væskekromatografi, gaskromatografi, kapillarelektroforese (CE) og superkritisk væske-kromatografi (SFC). Hvis der er tale om en analyt, der præsenterer en isobar- eller isomerforbindelse, er det obligatorisk at acceptere retentionstiden (dvs. ± 0,5 % ved GC og ± 1 % ved LC og SFC) for at bekræfte dens identitet.

2. Der kan kombineres højst tre forskellige metoder for at opnå mindsteantallet af identifikationspoint.

3. Forskellige ioniseringsmåder (f.eks. elektronionisering og kemisk ionisering) betragtes som forskellige teknikker.

Tabel 3

Identifikationspoint pr. teknik

Teknik	Identifikationspoint
Separation (GC, LC, SFC, CE)	1
LR-MS-ion	1
Valg af prækursor-ion i masseområde < ± 0,5 Da	1 (indirekte)
LR-MS^n-produkt-ion	1,5
LR-MS-ion	1,5
HR-MS^n-produkt-ion	2,5

Tabel 4

Eksempler på antallet af identifikationspoint for forskellige teknikker og kombinationer heraf (n = et helt tal)

Teknik	Separation	Antal ioner	Identifikationspoint
GC-MS (EI eller CI)	GC	n	1 + n
GC-MS (EI og CI)	GC	2 (EI) + 2 (CI)	1 + 4 = 5
GC-MS (EI eller CI) 2 derivater	GC	2 (derivat A) + 2 (derivat B)	1 + 4 = 5
LC-MS	LC	n (MS)	1 + n
GC- eller LC-MS/MS	GC eller LC	1 prækursor + 2 produkter	1 + 1 + 2 × 1,5 = 5
GC- eller LC-MS/MS	GC eller LC	2 prækursor + 2 produkter	1 + 2 + 2 × 1,5 = 6
GC- eller LC-MS^3	GC eller LC	1 prækursor + 1 MS^2-produkt + 1 MS^3-produkt	1 + 1 + 1,5 + 1,5 = 5
GC- eller LC-HRMS	GC eller LC	n	1 + n × 1,5

GC- eller LC-HRMS/MS	GC eller LC	1 prækursor (< ± 0,5 Da masseområde) + 1 produkt	1 + 1 + 2,5 = 4,5
GC- eller LC-HRMS og HRMS/MS	GC eller LC	1 full scan-ion + 1 HRMS-produkt-ion [a]	1 + 1,5 + 2,5 = 5
GC- og LC-MS	GC og LC	2 ioner (GCMS) + 1 ion (LCMS)	1 + 1 + 2 + 1 + 1 = 6

[a] [a] Der opnås ikke yderligere identifikationspoint for valg af prækursor-ion, hvis denne prækursor-ion er den samme ion (eller en addukt eller isotop) som den HRMS-ion, der overvåges i full scan.

1.2.5. *Specifikke ydeevnekriterier til bestemmelse af en analyt ved hjælp af væskekromatografi med andre detektionsteknikker end massespektrometri*

Kun for godkendte stoffer kan følgende teknikker anvendes som alternativ til massespektrometribaserede metoder, forudsat at de relevante kriterier for disse teknikker er opfyldt:

1. full-scan-diodearray-detektion-spektrofotometri (DAD), hvis anvendt sammen med HPLC

2. fluorescensdetektion-spektrofotometri (FLD), hvis anvendt sammen med HPLC.

Væskekromatografi i kombination med UV/VIS-detektion (én bølgelængde) er ikke i sig selv egnet som verifikationsmetode.

1.2.5.1. Ydeevnekriterier for full-scan-diodearray-spektrofotometri

Ydeevnekriterierne for kromatografisk separation i kapitel 1.2.3 skal være opfyldt.

Absorptionsmaksima i analyttens UV-spektrum skal være på de samme bølgelængder som kalibreringsstandardens i matrix med en maksimumsmargen, der afhænger af detektionssystemets opløsning. Ved diodearray-detektion ligger denne maksimumsmargen typisk inden for ± 2 nm. Analyttens spektrum over 220 nm må for de dele af de to spektre, hvor den relative absorbans er større end eller lig med 10 %, ikke være synligt forskelligt fra kalibreringsstandardens. Dette kriterium er opfyldt, når de samme maksima er til stede, samtidig med at forskellen mellem de to spektre ikke på noget punkt er større end 10 % af kalibreringsstandardens absorbans. Hvis biblioteksøgning med EDB og overensstemmelsesprøvning anvendes, skal sammenligningen af spektrumsdata i de officielle prøver med kalibreringsopløsningens spektrumsdata overstige en kritisk faktor for overensstemmelse. Faktoren bestemmes for hver analyt under valideringsprocessen på grundlag af spektre, som ovenstående kriterier er opfyldt for. Variation i spektrene, som skyldes prøvematrixen og detektorydeevnen, skal efterprøves.

1.2.5.2. Ydeevnekriterier for fluorescensdetektion-spektrofotometri

Ydeevnekriterierne for kromatografisk separation i kapitel 1.2.3 skal være opfyldt.

Ekscitations- og emissionsbølgelængderne i kombination med de kromatografiske betingelser skal udvælges, så virkningerne af interfererende komponenter i blindprøveekstrakter minimeres. Der bør være mindst 50 nanometer mellem ekscitations- og emissionsbølgelængderne.

Det nærmeste top-maksimum i kromatogrammet skal være adskilt fra den top, der tilskrives analytten, med mindst én hel topbredde på 10 % af analyttens maksimale højde.

Dette gælder for molekyler med naturlig fluorescens og for molekyler med fluorescens, der skyldes enten transformering eller derivatisering.

KAPITEL 2

VALIDERING

2.1. Ydeevnekarakteristika, der skal bestemmes for analysemetoder

Ved validering af metoden skal det godtgøres, at analysemetoden er i overensstemmelse med de kriterier, der gælder for de relevante ydeevnekarakteristika. Forskellige kontrolformål forudsætter forskellige kategorier af metoder. Tabel 5 viser, hvilke ydeevnekarakteristika der skal verificeres for hvilken type metode, og der redegøres nærmere for hver parameter i dette kapitel.

Tabel 5

Klassificering af analysemetoder efter de ydeevnekarakteristika, der skal bestemmes

Metode	Verifikation		Screening		
	Kvalitativ	Kvantitativ	Kvalitativ	Semikvantitativ	Kvantitativ
Stoffer	A	A, B	A, B	A, B	A, B
Identifikation i overensstemmelse med 1.2	x	x			
CCα	x	x			
CCβ	-		x	x	x
Korrekthed		x			x
Præcision		x		(x)	x
Relativ matrixeffekt/absolut genfinding *		x			x
Selektivitet/specificitet		x	x	x	x
Stabilitet #		x	x	x	x
Robusthed		x	x	x	x

x: Det skal ved valideringen godtgøres, at kravene til ydeevnekarakteristikken er opfyldt.
x) Præcisionskravene i kapitel 1.2.2.2 behøver ikke at være opfyldt for semikvantitative screeningsmetoder. Præcisionen skal dog bestemmes for at godtgøre metodens egnethed til at undgå falsk overensstemmende analyseresultater.
A: forbudte eller ikke-godkendte stoffer
B: godkendte stoffer
Hvis der foreligger stabilitetsdata for analytter i en matrix fra videnskabelig litteratur eller fra et andet laboratorium, er det ikke nødvendigt, at disse data igen bestemmes af det pågældende laboratorium. En henvisning til foreliggende stabilitetsdata for analytter i opløsning kan dog kun accepteres, hvis der anvendes identiske betingelser.
* Det er relevant for MS-metoder ved valideringen at godtgøre, at kravene til ydeevnekarakteristika er opfyldt. Metodens relative matrixeffekt bestemmes, hvis denne effekt ikke blev vurderet under valideringsproceduren. Metodens absolutte genfinding bestemmes, hvis der ikke anvendes en intern standard eller matrixtilpasset kalibrering.

2.2. Korrekthed, repeterbarhed og intern reproducerbarhed

I dette kapitel findes der eksempler på og referencer til valideringsprocedurer. Der kan anvendes andre procedurer til at påvise, at metoden opfylder ydeevnekriterierne, forudsat at de giver samme informationsniveau og -kvalitet.

2.2.1. *Konventionel validering*

Beregning af parametrene ifølge konventionelle metoder forudsætter, at der gennemføres en række individuelle forsøg. Hvert enkelt karakteristikum for metodens ydeevne skal bestemmes for alle større forandringer (jf. afsnit 2.4). Ved multimetoder kan flere analytter analyseres samtidig, hvis blot man forinden udelukker evt. relevante interferenser. Adskillige karakteristika for metodens ydeevne kan bestemmes på lignende måde. For at minimere arbejdsbyrden anbefales det derfor, at forsøg i så høj grad som muligt kombineres (f.eks. repeterbarhed og intern reproducerbarhed med specificitet, analyse af blindprøver for at bestemme beslutningsgrænsen til verifikation og test for specificitet).

2.2.1.1. Korrekthed på basis af certificeret referencemateriale

Bestemmelse af en analysemetodes korrekthed skal helst ske ved hjælp af certificeret referencemateriale (CRM). Proceduren er beskrevet i ISO 5725-4 (1994) ([2]).

Et eksempel:

1. Seks replikater af det pågældende CRM analyseres i overensstemmelse med metodens testvejledning.
2. Koncentrationen af den analyt, der forekommer i de seks replikater, bestemmes.
3. Der foretages en beregning af gennemsnit, standardafvigelse og variationskoefficient (%) for disse seks replikater.
4. Korrektheden beregnes ved at dividere den påviste gennemsnitskoncentration med den certificerede værdi (målt som koncentration) og gange med 100 for at udtrykke resultatet som en procentdel:

Korrekthed (%) = påvist gennemsnitskoncentration korrigeret for genfinding × 100/certificeret værdi.

2.2.1.2. Korrekthed på basis af spikede prøver

Hvis der ikke er certificeret referencemateriale til rådighed, skal metodens korrekthed bestemmes ved forsøg, hvor der anvendes en spiket matrixblindprøve som minimum i overensstemmelse med følgende skema:

1. For metoder, der er valideret fra datoen for denne forordnings ikrafttræden, udvælges blindmateriale, og der spikes til en koncentration på:
   a) 0,5 ([3]), 1,0 og 1,5 gange RPA eller
   b) 0,1 ([4]), 1,0 og 1,5 gange MRL eller ML for godkendte stoffer eller
   c) 1,0, 2,0 og 3,0 gange LCL for ikke-godkendte stoffer (for hvilke der ikke er fastsat nogen RPA).
2. På hvert niveau gennemføres analysen med seks replikater.
3. Prøverne analyseres.
4. Den påviste koncentration i hver prøve beregnes.
5. Korrektheden for hver prøve beregnes ved hjælp af ligningen nedenfor, og derefter beregnes den gennemsnitlige korrekthed og variationskoefficienten for de seks resultater for hvert koncentrationsniveau.

Korrekthed (%) = påvist gennemsnitskoncentration korrigeret for genfinding × 100/spikingniveau.

For metoder for godkendte stoffer, der er valideret før datoen for denne forordnings anvendelse, er det tilstrækkeligt at bestemme metodens korrekthed ved hjælp af 6 spikede delprøver ved 0,5, 1,0 og 1,5 gange MRL eller ML.

([2]) ISO 5725-4:2020, Nøjagtighed (korrekthed og præcision) af målemetoder og resultater — Del 4: Grundlæggende metoder til bestemmelse af en standardiseret målemetodes korrekthed (punkt 3).

([3]) Hvis validering af et ikke-godkendt farmakologisk virksomt stof med en koncentration på 0,5 gange RPA ikke med rimelighed er mulig, kan koncentrationen på 0,5 gange RPA erstattes af den laveste koncentration på mellem 0,5 og 1,0 gange RPA, som det med rimelighed er opnåelig.

([4]) Hvis validering af et specifikt farmakologisk virksomt stof med en koncentration på 0,1 gange MRL ikke med rimelighed er mulig, kan koncentrationen på 0,1 gange MRL erstattes af den laveste koncentration på mellem 0,1 og 0,5 gange MRL, som det med rimelighed er opnåelig.

2.2.1.3. Repeterbarhed

1. For metoder, der er valideret fra datoen for denne forordnings ikrafttræden, skal der laves en række prøver af identiske matrixblindprøver af samme art. De skal spikes med analytten for at give koncentrationer svarende til:

   a) 0,5 ([5]), 1,0 og 1,5 gange RPA eller

   b) 0,1 ([6]), 1,0 og 1,5 gange MRL eller ML for godkendte stoffer eller

   c) 1,0, 2,0 og 3,0 gange LCL for ikke-godkendte eller forbudte stoffer, hvis der ikke er fastsat nogen RPA.

2. På hvert niveau gennemføres analysen med mindst seks replikater.

3. Prøverne analyseres.

4. Den påviste koncentration i hver prøve beregnes.

5. Der foretages en beregning af gennemsnitskoncentration, standardafvigelse og variationskoefficient (%) i de spikede prøver.

6. Ovenstående trin gentages ved mindst to andre lejligheder.

7. De samlede middelkoncentrationer, standardafvigelser (ved at beregne gennemsnittet af standardafvigelsen i anden potens for de enkelte tilfælde og ved at tage kvadratroden heraf) og variationskoefficienter beregnes for de spikede prøver.

For metoder for godkendte stoffer, der er valideret før datoen for denne forordnings ikrafttræden, er det tilstrækkeligt at bestemme repeterbarheden ved hjælp af spikede matrixprøver ved 0,5, 1,0 og 1,5 gange MRL eller ML.

Alternativt kan beregningen af repeterbarhed udføres i henhold til ISO 5725-2: 2019 ([7]).

2.2.1.4. Intern reproducerbarhed

1. For valideringer, der foretages efter datoen for denne forordnings ikrafttræden, laves en række prøver af specificeret testmateriale (identiske eller forskellige matrixer), som spikes med analytten (analytterne), så de giver koncentrationer svarende til:

   a) 0,5 ([5]), 1,0 og 1,5 gange RPA eller

   b) 0,1 ([6]), 1,0 og 1,5 gange MRL eller ML for godkendte stoffer eller

   c) 1,0, 2,0 og 3,0 gange LCL for ikke-godkendte eller forbudte stoffer, hvis der ikke er fastsat nogen RPA.

2. På hvert koncentrationsniveau gennemføres analysen med mindst seks replikater af blindmateriale.

3. Prøverne analyseres.

4. Den påviste koncentration i hver prøve beregnes.

([5]) Hvis validering af et ikke-godkendt farmakologisk virksomt stof med en koncentration på 0,5 gange RPA ikke med rimelighed er mulig, kan koncentrationen på 0,5 gange RPA erstattes af den laveste koncentration på mellem 0,5 og 1,0 gange RPA, som det med rimelighed er opnåelig.

([6]) Hvis validering af et specifikt farmakologisk virksomt stof med en koncentration på 0,1 gange MRL ikke med rimelighed er mulig, kan koncentrationen på 0,1 gange MRL erstattes af den laveste koncentration på mellem 0,1 og 0,5 gange MRL, som det med rimelighed er opnåelig.

([7]) ISO 5725-2:2019, Nøjagtighed (korrekthed og præcision) af målemetoder og resultater — Del 2: Grundlæggende metode til bestemmelse af repeterbarhed og reproducerbarhed af standardiserede målemetoder (punkt 3).

5. Ovenstående trin gentages ved mindst to andre lejligheder med forskellige batcher af blindmateriale, forskellige personer og så mange forskellige betingelser som muligt, f.eks. forskellige batcher af reagenser, opløsningsmidler, forskellige rumtemperaturer, forskellige apparater eller en variation af andre parametre.

6. Der foretages en bestemmelse af gennemsnitskoncentration, standardafvigelse og variationskoefficient (%) i de spikede prøver.

For metoder for godkendte stoffer, der er valideret før datoen for denne forordnings ikrafttræden, er det tilstrækkeligt at bestemme den interne reproducerbarhed ved hjælp af spikede matrixprøver ved 0,5, 1,0 og 1,5 gange MRL eller ML.

Alternativt kan beregningen af intern reproducerbarhed/intermediær præcision også udføres i henhold til ISO 5725-2:2019, ISO 11843-1:1997 ([8]), Codex CAC/GL 59-2006 ([9]).

2.2.2. *Validering ifølge alternative modeller*

Beregning af parametrene ifølge alternative modeller forudsætter, at der gennemføres en forsøgsplan. Forsøgsplanen skal udarbejdes under hensyntagen til, hvor mange forskellige arter og faktorer undersøgelsen omfatter. Det første trin i hele valideringsproceduren er derfor at tage hensyn til de prøvepopulationer, der fremover vil blive analyseret i laboratoriet, med henblik på at bestemme de vigtigste arter og de faktorer, som kan påvirke måleresultaterne. Den faktorbaserede tilgang gør det muligt at vurdere måleusikkerheden for testresultaterne, som er opnået under forskellige testbetingelser på et givet laboratorium, f.eks. forskellige laboranter, forskellige instrumenter, forskellige reagenspartier, forskellige matrixer, forskellige forløbstider og forskellige assaytemperaturer. Efterfølgende skal koncentrationsintervallet vælges på en formålstilpasset måde i overensstemmelse med MRL eller ML for godkendte stoffer eller RPA eller LCL for forbudte eller ikke-godkendte stoffer.

Den faktorbaserede tilgang har til formål at fastlægge pålidelige præcisionsdata og måledata ved samtidig kontrolleret variation af de udvalgte faktorer. Den gør det muligt at evaluere den kombinerede virkning af faktorvirkninger og tilfældige virkninger. Forsøgsdesignet gør det også muligt at undersøge analysemetodens robusthed ([10]) og bestemme standardafvigelsen for intern reproducerbarhed på tværs af matrixerne.

I det følgende gives der et eksempel på en alternativ procedure, der anvender en ortogonal forsøgsdesignplan.

Der kan undersøges op til syv faktorer (støjfaktorer). Undersøgelsen er udformet på en sådan måde, at præcision, korrekthed (baseret på spikede prøver), følsomhed, måleusikkerhed og kritiske koncentrationer kan bestemmes samtidigt ved gennemførelse af forsøgsplanen.

Tabel 6

Eksempel på en ortogonal forsøgsdesignplan med 7 faktorer (I-VII) varieret på to niveauer (A/B) i en valideringsundersøgelse med otte kørsler (kombination af faktorniveau)

Faktor	I	II	III	IV	V	VI	VII
Kørsel 01	A	A	A	A	A	A	A
Kørsel 02	A	A	B	A	B	B	B
Kørsel 03	A	B	A	B	A	B	B
Kørsel 04	A	B	B	B	B	A	A

([8]) ISO 11843-1:1997 Detektionsevne — Del 1: Termer og definitioner.

([9]) Codex Alimentarius-Kommissionen, De Forenede Nationers Fødevare- og Landbrugsorganisation, Guidelines on estimation of uncertainty of results (CAC/GL 59-2006).

([10]) De ændringer i forsøgsbetingelserne, der er omhandlet deri, kan bestå af prøvematerialer, analytter, opbevaringsforhold, miljømæssige betingelser og/eller betingelser for prøveforberedelse. For alle forsøgsbetingelser, som kan fluktuere i praksis (f.eks. reagensernes stabilitet, prøvens sammensætning, pH, temperatur), skal alle variationer, som kan påvirke analyseresultatet, angives.

Kørsel 05	B	A	A	B	B	A	B
Kørsel 06	B	A	B	B	A	B	A
Kørsel 07	B	B	A	A	B	B	A
Kørsel 08	B	B	B	A	A	A	B

Metodens karakteristika beregnes som beskrevet i Jülicher et al. ([11]).

2.2.3. *Andre valideringsprocedurer*

Der kan anvendes andre procedurer til at påvise, at metoden opfylder kriterierne for ydeevnekarakteristikaene, forudsat at de giver samme informationsniveau og -kvalitet. Validering kan endvidere ske ved at gennemføre en laboratoriesammenligning, f.eks. som fastlagt af Codex Alimentarius, ISO eller IUPAC ([12]), eller ifølge alternative metoder, f.eks. enkeltlaboratorieundersøgelser eller validering på ét laboratorium ([13]). Hvis der anvendes alternative valideringsprocedurer, skal den tilgrundliggende model og fremgangsmåde samt de respektive forudsætninger, antagelser og formler beskrives i valideringsprotokollen, eller der skal i det mindste opgives referencer vedrørende deres tilgængelighed.

2.3. **Selektivitet/specificitet**

Evnen til at skelne mellem analytten og nært beslægtede stoffer bestemmes i videst muligt omfang. Interferens fra homologer, isomerer, nedbrydningsprodukter, endogene stoffer, analoger, metaboliske produkter af den relevante rest, af matrixforbindelser eller af andre potentielt interfererende stoffer skal bestemmes, og metoden skal om nødvendigt ændres for at undgå de identificerede interferenser. Til bestemmelse af metodens specificitet anvendes følgende metode:

1. Der udvælges en række kemisk beslægtede forbindelser eller andre stoffer, som kan forventes at forekomme med den relevante forbindelse, og som måske kan forekomme i prøverne, og det kontrolleres, om de kan interferere med analysen af målanalytten (-analytterne).

2. Et passende antal repræsentative blindprøver analyseres, f.eks. forskellige partier eller partier af forskellige dyrearter ($n \geq 20$), og der tjekkes for eventuelle interferenser (signaler, toppe, ionspor) i det pågældende område, hvor målanalytten forventes at eluere.

3. Repræsentative blindprøver spikes til en relevant koncentration med stoffer, der eventuelt kan interferere med identifikationen og/eller den kvantitative bestemmelse af analytten, og det undersøges, om det tilsatte stof:

   a) kan føre til en falsk identifikation

   b) hindrer identifikationen af målanalytten

   c) påvirker den kvantitative bestemmelse i betydelig grad.

2.4. **Robusthed**

Analysemetoden skal testes for dens fortsatte ydeevne under forskellige forsøgsbetingelser, som f.eks. omfatter forskellige prøveudtagningsbetingelser og små ændringer, der kan forekomme i rutinetest. For at teste metodens robusthed bør de ændringer, der indføres i forsøgsbetingelserne, være små. Omfanget af disse ændringer skal evalueres. Alle karakteristika for metodens ydeevne skal bestemmes for alle små ændringer, for hvilke det er godtgjort, at de har betydelig virkning på assayets resultater.

([11]) Jülicher, B., Gowik, P. and Uhlig, S. (1998) Assessment of detection methods in trace analysis by means of a statistically based in-house validation concept. Analyst, 120, 173

([12]) IUPAC (1995), Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, Pure & Applied Chem, 67, 331.

([13]) Gowik, P., Jülicher, B. and Uhlig, S. (1998) Multi-residue method for non-steroidal anti-inflammatory drugs in plasma using high performance liquid chromatography-photodiode-array detection. Method description and comprehensive in-house validation. J. Chromatogr., 716, 221.

2.5. **Stabilitet**

Stabiliteten af kalibreringsstandarden, matrixtilpassede standarder og/eller matrixspikede standarder og af analyt eller matrixbestanddele i prøven under opbevaring eller analyse skal bestemmes, da ustabilitet kan påvirke testresultaterne.

Almindeligvis er karakteristika for en analyts stabilitet under varierende opbevaringsforhold kendte. De forsøg, der udføres med henblik på overvågning af opbevaringsbetingelserne for standarder og prøver, der udføres som led i det normale laboratorieakkrediterings- og kvalitetskontrolsystem, kan give de krævede oplysninger. Hvis der foreligger stabilitetsdata for analytter i matrixen (f.eks. på grundlag af oplysninger fra EURL'erne, offentliggjorte data osv.), behøver de enkelte laboratorier ikke at bestemme disse data. En henvisning til foreliggende stabilitetsdata for analytter i opløsning og i matrix kan dog kun accepteres, hvis der anvendes identiske betingelser.

Hvis de krævede stabilitetsdata ikke foreligger, bør følgende metoder anvendes:

2.5.1. *Bestemmelse af analyttens stabilitet i opløsning*

1. Der tilberedes friske stamopløsninger af analytten (analytterne), og der fortyndes som angivet i testvejledningen for at give tilstrækkelige delprøver (f.eks. 40) af hver valgt koncentration. Prøverne forberedes af:

   a) opløsninger af den analyt, der anvendes til at spike

   b) analyseopløsninger, der anvendes til den endelige analyse

   c) enhver anden opløsning, der måtte være af interesse (f.eks. derivatiserede standarder).

2. Analytindhold i den nylavede opløsning måles i overensstemmelse med testvejledningen.

3. Passende mængder kommes i egnede beholdere, der mærkes og opbevares i overensstemmelse med lys- og temperaturforholdene i planen i tabel 7. Opbevaringstiden vælges under hensyntagen til den anvendte analysepraksis, ideelt set indtil de første nedbrydningstegn kan observeres ved identifikation og/eller kvantitativ bestemmelse. Hvis der ikke observeres nogen nedbrydning under stabilitetsundersøgelsen, er stabilitetsundersøgelsens lagringsvarighed lig med varigheden af opløsningens maksimale opbevaringsperiode.

4. Koncentrationen af analytten/analytterne i hver delprøve beregnes i forhold til koncentrationen af analytten i den nylavede opløsning ved hjælp af nedenstående formel:

$$\text{Resterende analyt (\%)} = C_i \times 100/C_{fresh}$$

C_i = koncentration på det givne tidspunkt

C_{fresh} = koncentration i nylavet opløsning.

Middelværdien af fem replikatopløsninger, der har været opbevaret, må ikke afvige mere end 15 % fra middelværdien af fem nylavede replikatopløsninger. Middelværdien af de fem nylavede opløsninger anvendes som grundlag for beregningen af den procentvise forskel.

Tabel 7

Plan for bestemmelse af en analyts stabilitet i opløsning

	–20 °C	+4 °C	+20 °C
Mørke	10 delprøver	10 delprøver	10 delprøver
Lys			10 delprøver

2.5.2. *Bestemmelse af analyttens/analytternes stabilitet i matrix*

1. Om muligt anvendes naturlige prøver. Hvis der ikke er naturlig matrix til rådighed, anvendes matrixblindprøve spiket med analytten.

2. Hvis der er naturlig matrix til rådighed, bestemmes koncentrationen i matrixen, mens matrixen endnu er ny. Yderligere delprøver af den homogeniserede matrix opbevares ved minus 20 °C eller derunder, hvis det kræves, og koncentrationerne af analytten bestemmes, så længe prøven opbevares i laboratoriet.

3. Hvis der ikke er naturlig matrix til rådighed, tages noget matrixblindprøve, der homogeniseres. Matrixen deles i fem delprøver. Hver delprøve spikes med analytten, som helst skal laves i en lille mængde i vandig opløsning. Den ene delprøve analyseres straks. De resterende delprøver opbevares ved mindst minus 20 ° C eller lavere, hvis det kræves, og de analyseres efter opbevaring efter kort, mellemlang og lang opbevaringstid under hensyntagen til de anvendte analysemetoder.

4. Den maksimale acceptable opbevaringstid og de optimale opbevaringsforhold registreres.

Middelværdien af fem replikatopløsninger, der har været opbevaret, må ikke afvige mere end metodens interne reproducerbarhed fra middelværdien af fem nylavede replikatopløsninger. Middelværdien af de fem nylavede opløsninger anvendes som grundlag for beregningen af den procentvise forskel.

2.6. **Beslutningsgrænse til verifikation (CCα)**

CCα bestemmes med henblik på verifikationsmetoder. CCα fastlægges ifølge betingelser, der er i overensstemmelse med kravene til identifikation eller til identifikation plus kvantitativ bestemmelse, jf. »Kriterier for metodens ydeevne og andre krav til analysemetoder«, jf. kapitel 1.

Til kontrol af prøvernes overensstemmelse er der allerede taget hensyn til den kombinerede standardmåleusikkerhed i CCα-værdien (beslutningsgrænsen til verifikation).

1. For ikke-godkendte eller forbudte farmakologisk virksomme stoffer beregnes CCα således:

   a) Metode 1: Ved kalibreringskurveproceduren ifølge ISO 11843-1:1997 ([14]) (hvor den betegnes som kritisk værdi af nettotilstandsvariablen). I så fald skal der anvendes blindmateriale, der spikes til og over RPA eller LCL i lige store spring. Prøverne analyseres. Efter identifikation plottes signalet, hvis det er muligt, eller den genberegnede koncentration i forhold til den tilsatte koncentration. Beslutningsgrænsen er lig med den modsvarende koncentration ved y-skæringspunktet plus 2,33 gange den interne reproducerbarheds standardafvigelse på skæringspunktet. Denne metode gælder kun for kvantitative assays. Beslutningsgrænser opnået ved denne fremgangsmåde kontrolleres ved at analysere matrixblindprøve spiket til den beregnede beslutningsgrænse.

   b) Metode 2: Ved analyse af mindst 20 repræsentative blindmaterialer pr. matrix med henblik på at kunne beregne signal-støj-forholdet i det tidsinterval, hvor analytten forventes. Som beslutningsgrænse kan anvendes tre gange signal-støj-forholdet. Dette gælder for kvantitative og kvalitative assays. Beslutningsgrænser opnået ved denne fremgangsmåde kontrolleres ved at analysere matrixblindprøve spiket til den beregnede beslutningsgrænse.

   c) Metode 3: CCα = LCL + k (ensidet, 99 %) × (kombineret) standardmåleusikkerhed på LCL.

      For ikke-godkendte eller forbudte farmakologisk virksomme stoffer, afhængigt af valideringsforsøget (og dets respektive frihedsgrader), kan t-fordelingen med rimelighed anvendes, eller — hvis normalfordelingen (ensidet, n = ∞) anvendes som grundlag — anvendes der en k-faktor på 2,33.

      Den interne reproducerbarhed og korrektheden er egnet til at fastlægge den (kombinerede) standardmåleusikkerhed, hvis den bestemmes under hensyntagen til alle relevante påvirkende faktorer.

   Metode 2 til beregning af CCα må kun anvendes indtil den 1. januar 2026, hvis der er tale om metoder, der er valideret inden datoen for denne forordnings ikrafttræden. For metoder, der er valideret efter denne forordnings ikrafttræden, må kun metode 1 eller 3 anvendes.

([14]) ISO 11843-1:1997 Detektionsevne — Del 1: Termer og definitioner.

2. For godkendte stoffer beregnes CCα således:

a) For godkendte stoffer i matrixer/art-kombinationer, for hvilke der er fastsat en MRL eller ML:

i) Metode 1: ved kalibreringskurveproceduren ifølge ISO 11843-1:1997 (hvor den betegnes som kritisk værdi af nettotilstandsvariablen). I så fald skal der anvendes blindmateriale, der spikes til og over MRL eller ML i lige store spring. Prøverne analyseres. Efter identifikation plottes signalet, hvis det er muligt, eller den genberegnede koncentration i forhold til den tilsatte koncentration. Beslutningsgrænsen (α = 5 %) er lig med den modsvarende koncentration ved MRL eller ML plus 1,64 gange den interne reproducerbarheds standardafvigelse på den tilladte grænseværdi.

ii) Metode 2: CCα = MRL (eller ML) + k (ensidet, 95 %) × (kombineret) standardmåleusikkerhed på MRL eller ML.

For godkendte stoffer, afhængigt af valideringsforsøget (og dets respektive frihedsgrader), kan t-fordelingen med rimelighed anvendes, eller — hvis normalfordelingen (ensidet, n = ∞) anvendes som grundlag — anvendes der en k-faktor på 1,64.

Den interne reproducerbarhed og korrektheden er egnet til at fastlægge den (kombinerede) standardmåleusikkerhed, hvis den bestemmes under hensyntagen til alle relevante påvirkende faktorer.

For farmakologisk virksomme stoffer, for hvilke MRL er fastsat for summen af forskellige stoffer, anvendes CCα for det stof, der har den højeste koncentration i prøven, som CCα til at vurdere summen af stoffer i den målte prøve.

b) For godkendte stoffer til matrixer/art-kombinationer, for hvilke der ikke er fastsat nogen MRL, må der ikke forekomme restkoncentrationer, medmindre der er foretaget en godkendt behandling i overensstemmelse med artikel 11 i direktiv 2001/82/EF. For godkendte stoffer, for hvilke der ikke er fastsat nogen MRL, anvendes den »kaskade-MRL«, der er fastsat i henhold til Kommissionens gennemførelsesforordning (EU) 2018/470 ([15]), til beregning af CCα. Metode 1 eller 2 i ovenstående afsnit anvendes, men ved »MRL« forstås »0,5 gange kaskade-MRL, idet målet er 0,1 gange kaskade-MRL, hvis det med rimelighed er opnåeligt«.

2.7. **Detektionsevne til screening (CCß)**

CCß bestemmes med henblik på screeningsmetoder. CCβ fastlægges som defineret under »Kriterier for metodens ydeevne og andre krav til analysemetoder«, jf. kapitel 1, og i overensstemmelse med kravene i tabel 5. Det er dog ikke nødvendigt at anvende de fulde krav til identifikation (jf. 1.2.3, 1.2.4, 1.2.5) for screeningsmetoder.

1. For ikke-godkendte eller forbudte farmakologisk virksomme stoffer skal der sikres β-fejl på højst 5 %. CCβ beregnes således:

a) Metode 1: Ved kalibreringskurveproceduren ifølge ISO 11843-1:1997 (hvor den betegnes som mindste påviselige værdi af nettotilstandsvariablen). I så fald skal der anvendes repræsentativt blindmateriale, der spikes til og under RPA eller, hvis der ikke er fastsat nogen RPA, omkring STC i lige store spring. Prøverne analyseres. Signalet plottes mod den tilsatte koncentration. Detektionsevnen er lig med den modsvarende koncentration ved STC plus 1,64 gange det gennemsnitlige målte indholds interne reproducerbarheds standardafvigelse ved STC Ekstrapolering langt under det laveste spikingniveau (< 50 % af det laveste spikingniveau) skal bekræftes ved forsøgsdata ved valideringen.

b) Metode 2: Undersøgelse af spiket blindmateriale ved koncentrationsniveauer på og over STC. For hvert koncentrationsniveau skal der analyseres 20 spikede blindprøver for at sikre et pålideligt grundlag for denne bestemmelse. Metodens detektionsevne lig med koncentrationsniveauet, hvor der kun resterer ≤ 5 % falsk overensstemmende resultater.

c) Metode 3: CCβ = STC + k (ensidet, 95 %) × (kombineret) standardmåleusikkerhed på eller over STC.

([15]) Kommissionens gennemførelsesforordning (EU) 2018/470 af 21. marts 2018 om detaljerede regler for den maksimalgrænseværdi for restkoncentrationer, der skal tages i betragtning i forbindelse med kontrollen af animalske fødevarer af dyr, som er blevet behandlet i EU efter artikel 11 i direktiv 2001/82/EF (EUT L 79 af 22.3.2018, s. 16).

For ikke-godkendte eller forbudte farmakologisk virksomme stoffer, afhængigt af valideringsforsøget (og dets respektive frihedsgrader), kan t-fordelingen med rimelighed anvendes, eller — hvis normalfordelingen (ensidet, n = ∞) anvendes som grundlag — anvendes der en k-faktor på 1,64.

Den interne reproducerbarhed og korrektheden er egnet til at fastlægge den (kombinerede) standardmåleusikkerhed, hvis den bestemmes under hensyntagen til alle relevante påvirkende faktorer.

2. For godkendte stoffer skal der sikres β-fejl på højst 5 %. CCβ beregnes således:

a) Metode 1: Ved kalibreringskurveproceduren ifølge ISO 11843-1:1997 (hvor den betegnes som mindste påviselige værdi af nettotilstandsvariablen). I så fald skal der anvendes repræsentativt blindmateriale, der spikes til og under den tilladte grænseværdi startende fra STC i lige store spring. Prøverne analyseres, og analytten/analytterne identificeres. Der foretages en beregning af det gennemsnitlige målte indholds standardafvigelse ved STC.

Detektionsevnen er lig med den modsvarende koncentration ved STC plus 1,64 gange det gennemsnitlige målte indholds interne reproducerbarheds standardafvigelse ved STC.

b) Metode 2: Undersøgelse af spiket blindmateriale ved koncentrationsniveauer under den tilladte grænseværdi. For hvert koncentrationsniveau skal der analyseres 20 spikede blindprøver for at sikre et pålideligt grundlag for denne bestemmelse. Metodens detektionsevne lig med koncentrationsniveauet, hvor der kun resterer ≤ 5 % falsk overensstemmende resultater.

c) Metode 3: CCβ = STC + k (ensidet, 95 %) × (kombineret) standardmåleusikkerhed på eller over STC.

For godkendte stoffer, afhængigt af valideringsforsøget (og dets respektive frihedsgrader), kan t-fordelingen med rimelighed anvendes, eller — hvis normalfordelingen (ensidet, n = ∞) anvendes som grundlag — anvendes der en k-faktor på 1,64 (uanset om der er tale om anvendelse af kaskade eller normal anvendelse af MRL).

Den interne reproducerbarhed og korrektheden er egnet til at fastlægge den (kombinerede) standardmåleusikkerhed, hvis den bestemmes under hensyntagen til alle relevante påvirkende faktorer.

For farmakologisk virksomme stoffer, for hvilke MRL er fastsat for summen af forskellige stoffer, anvendes CCβ for det stof, der har den højeste koncentration i prøven, som CCβ til at vurdere summen af stoffer i den målte prøve.

2.8. **Kalibreringskurver**

Hvis der anvendes kalibreringskurver til kvantitativ bestemmelse, gælder følgende:

1) Der bør anvendes mindst fem niveauer, helst med lige store spring, (inklusive nul) til kurven.

2) Kurvens måleområde beskrives.

3) Kurvens matematiske formel og dataenes goodness-of-fit til kurven (bestemmelseskoefficient R^2) beskrives.

4) Acceptområder for kurvens parametre beskrives.

For kalibreringskurver baseret på en standardopløsning, matrixtilpassede standarder eller matrixspikede standarder skal der angives acceptable intervaller for dem af kalibreringskurvens parametre, der kan variere fra serie til serie.

2.9. **Absolut genfinding**

Metodens absolutte genfinding bestemmes, hvis der ikke anvendes en intern standard eller matrixtilpasset kalibrering.

Når kravene til korrekthed, jf. tabel 1, er opfyldt, kan der anvendes en fast korrektionsfaktor. Ellers anvendes den genfindingsfaktor, der er opnået for den specifikke batch. Alternativt anvendes proceduren med standardaddition ([16]) eller en intern standard i stedet for at anvende en genfindingskorrektionsfaktor.

Den absolutte genfinding beregnes for mindst seks repræsentative matrixpartier.

En delprøve af matrixblindprøve spikes med analytten før ekstraktion, og en anden delprøve af matrixblindprøve spikes efter prøveforberedelse til et relevant koncentrationsniveau, og koncentrationen af analytten bestemmes.

Genfinding beregnes således:

Rec (analyt) = (matrix-spiket standard)/(matrix-tilpasset standard) × 100

2.10. **Relative matrixeffekter**

Den relative matrixeffekt bestemmes i alle tilfælde. Dette kan ske enten som led i valideringen eller ved særskilte forsøg. Beregningen af den relative matrixeffekt foretages for mindst 20 forskellige blindpartier (matrix/arter) afhængigt af metodens anvendelsesområde, f.eks. forskellige arter, der skal omfattes.

Matrixlindprøven bør spikes efter ekstraktion med analytten til RPA, MRL eller ML og bør analyseres sammen med en ren opløsning af analytten.

Den relative matrixeffekt eller matrixfaktor (MF) beregnes som:

$$\text{MF (standard)} = \frac{\text{peak area of MMS standard}}{\text{peak area of solution standard}}$$

$$\text{MF (IS)} = \frac{\text{peak area of MMS IS}}{\text{peak area of solution IS}}$$

$$\text{MF (standard normalised for IS)} = \frac{\text{MF (standard)}}{\text{MF (IS)}}$$

IS: intern standard

MMS: matrixtilpasset standard

Variationskoefficienten må ikke være større end 20 % for MF (standard normaliseret til IS).

KAPITEL 3

KVALITETSKONTROL VED RUTINEANALYSE — LØBENDE KONTROL AF METODENS YDEEVNE

Kravene til sikring af kvaliteten af analyseresultaterne i kapitel 7.7 i ISO/IEC 17025:2017 ([17]) skal overholdes.

I forbindelse med rutineanalyser er analyse af certificerede referencematerialer den foretrukne mulighed med henblik på at dokumentere metodens ydeevne. Da CRM, der indeholder de relevante analytter på de krævede koncentrationsniveauer, sjældent er tilgængelige, kan også referencematerialer, der er fremstillet og karakteriseret af EURL eller laboratorier, der er i besiddelse af en ISO/IEC 17043:2010 ([18])-akkreditering, anvendes som alternativ. Som et andet alternativ kan der anvendes internt referencemateriale, der kontrolleres regelmæssigt.

Den løbende kontrol af metodens ydeevne under rutinemæssige analyser bør udføres i screeningsfasen og i verifikationsfasen.

([16]) Mængden af tilsat standardanalyt kan f.eks. være to til fem gange større end den skønnede mængde analyt i prøven. Denne procedure tager sigte på at bestemme indholdet af en analyt i en prøve under hensyntagen til genfinding ved analysen.

([17]) ISO/IEC 17025: 2017 Generelle krav til prøvnings- og kalibreringslaboratoriers kompetence (kapitel 7.7).

([18]) ISO/IEC 17043:2010 Overensstemmelsesvurdering — Generelle krav til præstationsprøvning.

1. I screeningsfasen:

   For hver serie (batch) af analyser analyseres et sæt af følgende kvalitetskontrolprøver samtidigt:

   a) kontrolprøve for instrumentets systemegnethed, ideelt set metodespecifik

   b) kvalitetskontrolprøver, som spikes ved en koncentration tæt på STC og ideelt set på CCβ ved screening for godkendte farmakologisk virksomme stoffer samt for forbudte eller ikke-godkendte stoffer)

   c) overensstemmende kontrolprøve (blindprøver) og, hvis det er relevant, reagensblindprøver.

2. I verifikationsfasen:

   For hver serie (batch) af analyser analyseres et sæt af følgende kvalitetskontrolprøver samtidigt:

   a) kontrolprøve for instrumentets systemegnethed, ideelt set metodespecifik

   b) kvalitetskontrolprøver, der spikes til en koncentration tæt på MRL eller ML for godkendte farmakologisk virksomme stoffer eller tæt på RPA eller LCL for forbudte eller ikke-godkendte stoffer (ikke-overensstemmende kontrolprøver)

   c) overensstemmende kontrolprøve (blindprøver) og, hvis det er relevant, reagensblindprøver.

Der anbefales følgende rækkefølge for kvalitetskontrolprøverne: kontrolprøve for instrumentets systemegnethed, overensstemmende kontrolprøve, prøve(r), der skal verificeres, ny overensstemmende kontrolprøve og spiket kvalitetskontrolprøve (ikke-overensstemmende kontrolprøver).

For kvantitative metoder analyseres og måles en kalibreringskurve før eller efter officielle prøver i hver serie (batch).

Hvor det er praktisk muligt, evalueres korrektheden (på grundlag af spikede prøver) af alle målanalytter i de ikke-overensstemmende kontrolprøver ved hjælp af kontrolkort i overensstemmelse med kapitel 7.7 i ISO/IEC 17025:2017. Hvis dette kræver et uforholdsmæssigt stort antal korrekthedsbestemmelser, kan antallet af analytter reduceres til et antal repræsentative analytter.

KAPITEL 4

UDVIDELSE AF EN TIDLIGERE VALIDERET METODES VALIDEREDE ANVENDELSESOMRÅDE

Nogle gange er det nødvendigt at udvide anvendelsesområdet for en tidligere grundigt valideret metode. I sådanne tilfælde bør anvendelsesområdet udvides på en effektiv og analytisk forsvarlig måde. Dette kan ske ved at foretage en validering af et reduceret antal prøver (f.eks. det halve antal prøver) sammenlignet med en fuld validering.

Ikke desto mindre skal typen og antallet af ændringer, der skal valideres ved en enkelt reduceret valideringsordning, altid baseres på ekspertviden og tidligere erfaringer, f.eks. vil en ændring af detektionsteknikken under alle omstændigheder kræve en fuldstændig validering.

For at sikre metodens fortsatte gyldighed skal dens ydeevne generelt overvåges løbende og sammenlignes med de oprindeligt opnåede valideringsparametre. Ideelt set er denne løbende kontrol af metodens ydeevne udformet på en sådan måde, at de manglende data til en fuldstændig validering kan indsamles over tid (f.eks. med nogle få datapunkter fra kvalitetskontrolprøver i hver analyseserie).

4.1. Udvidelser af metoder med hensyn til koncentrationsområder

Som følge af ændringer af MRL'er, ML'er og RPA'er kan det blive nødvendigt at justere det koncentrationsinterval, som en metode valideres for. I et sådant tilfælde kan anvendelse af en reduceret valideringsordning accepteres.

Der bør forberedes kalibreringskurver for det ændrede koncentrationsområde i overensstemmelse med den validerede procedure. Der bør analyseres forskellige batcher, der er spiket til forskellige koncentrationsniveauer (jf. 2.2.1, 2.2.2). Korrekthed, repeterbarhed og intern reproducerbarhed/intermediær præcision bør ligge inden for et acceptabelt interval i forhold til den oprindeligt validerede metodes. Der bør foretages en ny beregning af CCβ (screeningsmetoder) og CCα (verifikationsmetoder), hvor det er relevant.

4.2. **Udvidelser af metoder med hensyn til yderligere stoffer**

Generelt er det kun muligt at udvide metoden til at omfatte yderligere forbindelser, når det drejer sig om analytter, der har samme struktur og karakteristika som dem, der allerede indgår i analysemetoden. I et sådant tilfælde kan anvendelse af en reduceret valideringsprocedure accepteres. Det er heller ikke tilladt at afvige fra beskrivelsen af metoden.

Der bør forberedes kalibreringskurver for de yderligere stoffer i overensstemmelse med den validerede procedure. Der bør analyseres forskellige batcher af matrixmaterialer, der er spiket til forskellige koncentrationsniveauer (jf. 2.2.1, 2.2.2). Korrekthed, repeterbarhed og intern reproducerbarhed/intermediær præcision bør ligge inden for et interval, der er sammenligneligt med intervallet for de andre analytter i den oprindeligt validerede metode, og være i overensstemmelse med kravene i punkt 1.2.2. Der skal foretages en beregning af CCβ (screeningsmetoder) og CCα (verifikationsmetoder) for de nye analytter.

4.3. **Udvidelser af metoder med hensyn til matrixer/arter**

Nye matrixer eller arter i en allerede valideret analysemetode medtages altid efter en beslutning i hvert enkelt tilfælde på grundlag af den viden og de erfaringer, der hidtil er gjort med metoden, og de indledende forsøg til vurdering af potentielle matrixeffekter og interferenser. Generelt vil dette kun være muligt for matrixer med lignende egenskaber og for ikke-kritiske analytter (stabilitet, sporbarhed).

Der bør forberedes kalibreringskurver (standard eller matrix) i overensstemmelse med den validerede procedure. Der bør analyseres forskellige batcher af matrixmateriale, der er spiket til forskellige koncentrationsniveauer (jf. 2.2.1, 2.2.2). Korrekthed, repeterbarhed og intern reproducerbarhed/intermediær præcision bør ligge inden for et interval, der er acceptabelt i forhold til intervallerne i den oprindeligt validerede metode, og være i overensstemmelse med kravene i punkt 1.2.2. Afhængigt af valideringsfremgangsmåden kan det være nødvendigt at foretage en ny beregning af CCβ (screeningsmetoder) eller CCα (verifikationsmetoder).

Hvis resultaterne ikke ligger inden for et acceptabelt interval sammenlignet med værdierne for den oprindelige matrix, er det nødvendigt med en yderligere fuld validering for at bestemme matrixens/de artsspecifikke ydeevneparametre.

Hvis MRL for et bestemt stof er forskellige for visse matrixer, vil det sandsynligvis være vanskeligt at tilpasse metodens anvendelsesområde til den supplerende matrix/art og koncentration, da der i dette tilfælde skal overvejes to ændringer. I sådanne tilfælde anbefales en fuldstændig validering.

BILAG II

PRØVEUDTAGNINGSPROCEDURER OG OFFICIEL BEHANDLING AF PRØVER

1. **Prøvemængde**

Minimumsmængden af prøver skal være fastlagt i det nationale program for overvågning af restkoncentrationer. Minimumsmængden af prøver skal være tilstrækkeligt stor til, at de godkendte laboratorier kan udføre samtlige screeningsanalyser og verifikationsanalyser. Specifikt for fjerkræ, akvakultur, kaniner, opdrættet vildt, krybdyr og insekter består en prøve af en eller flere dyr afhængigt af analysemetodernes krav. For ægs vedkommende skal prøvens størrelse være på mindst 12 æg alt efter de anvendte analysemetoder. Hvis det er nødvendigt at analysere flere stofkategorier i én prøve med forskellige analysemetoder, øges prøvens størrelse tilsvarende.

2. **Opdeling i delprøver**

Medmindre det er teknisk umuligt eller ikke er påkrævet efter national lovgivning skal hver enkelt prøve opdeles i mindst to lige store delprøver, der hver især gør det muligt at foretage en fuldstændig analyse. Opdelingen i delprøver kan finde sted på prøveudtagningsstedet eller på laboratoriet.

3. **Sporbarhed**

Hver prøve skal udtages på en sådan måde, at det altid er muligt at spore den tilbage til oprindelsesbedriften og dyrepartiet eller det enkelte dyr, hvis det er relevant. Navnlig for mælk kan prøverne efter medlemsstatens valg udtages på et af følgende steder:

1. på bedriften fra opsamlingstanken
2. på mejeriet, inden mælken er blevet aflæsset.

4. **Beholdere til prøver**

Prøverne skal indsamles i egnede beholdere, så prøvernes integritet og sporbarhed opretholdes. Beholderne skal navnlig forhindre ombytning, krydskontamination og nedbrydning. Beholderne skal forsegles officielt.

5. **Rapport om prøveudtagningen**

Der skal udarbejdes en rapport efter hver prøveudtagning.

Inspektøren skal mindst samle følgende data i prøveudtagningsrapporten:

1. den kompetente myndigheds adresse
2. inspektørens navn eller identifikationskode
3. prøvens officielle kodenummer
4. dato for prøveudtagningen
5. navn og adresse på ejeren eller den person, der er ansvarlig for dyrene eller de animalske produkter
6. navn og adresse på dyrets oprindelsesbedrift (ved prøveudtagning på bedriften)
7. virksomhedens/slagteriets registreringsnummer
8. identifikation af dyret eller produktet
9. dyreart
10. prøvematrix
11. hvis det er relevant, medicinsk behandling i de sidste fire uger inden prøveudtagningen (ved prøveudtagning på bedriften)
12. stof eller stofgruppe for undersøgelsen
13. særlige bemærkninger.

Der skal laves papirkopier eller elektroniske kopier af rapporten afhængigt af prøveudtagningsproceduren. Prøveudtagningsrapporten og kopierne skal udfyldes på en sådan måde, at deres ægthed og juridiske gyldighed sikres, hvilket kan kræve, at disse dokumenter underskrives af inspektøren. Ved prøveudtagning på bedriften kan landbrugeren eller dennes repræsentant opfordres til at underskrive originaleksemplaret.

Den kompetente myndighed beholder originaleksemplaret af prøveudtagningsrapporten og skal garantere, at uvedkommende personer ikke kan få adgang til dette originaleksemplar.

Om nødvendigt kan landbrugeren eller virksomhedens ejer underrettes om den udførte prøveudtagning.

6. **Prøveudtagningsrapport til laboratoriet**

Den prøveudtagningsrapport for laboratoriet, som de kompetente myndigheder har udarbejdet, skal være i overensstemmelse med kravene i kapitel 7 i ISO/IEC 17025:2017 ([1]) og skal mindst indeholde følgende oplysninger:

1. adressen på de kompetente myndigheder eller udpegede organer
2. inspektørens navn eller identifikationskode
3. prøvens officielle kodenummer
4. dato for prøveudtagningen
5. dyreart
6. prøvematrix
7. stoffer eller stofgrupper for undersøgelsen
8. særlige bemærkninger.

Prøveudtagningsrapporten til laboratoriet skal ledsage prøven, når den sendes til laboratoriet.

7. **Transport og opbevaring**

Programmerne for overvågning af restkoncentrationer skal angive de anbefalede betingelser for opbevaring og transport for alle kombinationer af analyt og matrix for at sikre, at analyttens stabilitet og prøvens integritet. Transporttiden skal være så kort som muligt, og temperaturen under transporten skal være passende til at sikre analyttens stabilitet.

Opmærksomheden skal navnlig være henledt på transportkasser, temperatur og leveringstiden til det ansvarlige laboratorium.

Hvis krav til kontrolprogrammet ikke er overholdt, skal laboratoriet straks underrette den kompetente myndighed.

([1]) ISO/IEC 17025: 2017 Generelle krav til prøvnings- og kalibreringslaboratoriers kompetence (kapitel 7.7).