# KOMISSION TÄYTÄNTÖÖNPANOASETUS (EU) 2021/808,

## annettu 22 päivänä maaliskuuta 2021,

## elintarviketuotantoeläimissä käytettyjen farmakologisesti vaikuttavien aineiden jäämien määritysmenetelmien suorituskyvystä ja tulosten tulkinnasta sekä näytteenottomenetelmistä ja päätösten 2002/657/EY ja 98/179/EY kumoamisesta

**(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)**

EUROOPAN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan unionin toiminnasta tehdyn sopimuksen,

ottaa huomioon virallisesta valvonnasta ja muista virallisista toimista, jotka suoritetaan elintarvike- ja rehulainsäädännön ja eläinten terveyttä ja hyvinvointia, kasvien terveyttä ja kasvinsuojeluaineita koskevien sääntöjen soveltamisen varmistamiseksi, sekä Euroopan parlamentin ja neuvoston asetusten (EY) N:o 999/2001, (EY) N:o 396/2005, (EY) N:o 1069/2009, (EY) N:o 1107/2009, (EU) N:o 1151/2012, (EU) N:o 652/2014, (EU) 2016/429 ja (EU) 2016/2031, neuvoston asetusten (EY) N:o 1/2005 ja (EY) N:o 1099/2009 ja neuvoston direktiivien 98/58/EY, 1999/74/EY, 2007/43/EY, 2008/119/EY ja 2008/120/EY muuttamisesta ja Euroopan parlamentin ja neuvoston asetusten (EY) N:o 854/2004 ja (EY) N:o 882/2004, neuvoston direktiivien 89/608/ETY, 89/662/ETY, 90/425/ETY, 91/496/ETY, 96/23/EY, 96/93/EY ja 97/78/EY ja neuvoston päätöksen 92/438/ETY kumoamisesta 15 päivänä maaliskuuta 2017 annetun Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EU) 2017/625 ([1]) (virallista valvontaa koskeva asetus) ja erityisesti sen 34 artiklan 6 kohdan,

sekä katsoo seuraavaa:

(1) Asetuksessa (EU) 2017/625 vahvistetaan säännöt sellaista virallista valvontaa ja sellaisia muita virallisia toimia varten, joita jäsenvaltioiden toimivaltaiset viranomaiset suorittavat sen todentamiseksi, noudatetaanko unionin lainsäädäntöä muun muassa elintarvikkeiden turvallisuuden alalla tuotannon, jalostuksen ja jakelun kaikissa vaiheissa. Siinä säädetään erityisistä säännöistä, jotka koskevat virallista valvontaa sellaisten aineiden osalta, joiden käyttö saattaa aiheuttaa jäämiä elintarvikkeissa ja rehussa, ja vahvistetaan yleiset vaatimukset virallisen valvonnan ja muiden virallisten toimien aikana käytettäviä näytteenottomenetelmiä ja laboratoriossa käytettäviä analyysi- ja testausmenetelmiä varten.

(2) Komission päätöksessä 2002/657/EY ([2]) vahvistetaan vaatimukset, jotka koskevat määritysmenetelmien suorituskykyä ja tulosten tulkintaa eräiden elävistä eläimistä ja eläintuotteista seurattavien aineiden ja niiden jäämien osalta, ja komission päätöksessä 98/179/EY ([3]) vahvistetaan yksityiskohtaiset säännöt, jotka koskevat eräiden elävistä eläimistä ja eläintuotteista seurattavien aineiden ja niiden jäämien määrittämistä varten tehtävää virallista näytteenottoa. Molemmat päätökset hyväksyttiin neuvoston direktiivin 96/23/EY ([4]) pohjalta, joka kumottiin asetuksella (EU) 2017/625. Uuden tieteellisen tiedon vuoksi kyseisiä sääntöjä olisi ajantasaistettava ja ne olisi sisällytettävä asetuksella (EU) 2017/625 määriteltyihin virallisen valvonnan puitteisiin.

(3) Päätöksen 2002/657/EY 1 artiklan 2 kohdan mukaisesti kyseistä päätöstä ei sovelleta aineisiin, joista on annettu tarkempia säännöksiä unionin muussa lainsäädännössä. Näitä aineita ovat elintarvikkeissa olevat mykotoksiinit, elintarvikkeissa olevat dioksiinit ja dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet sekä elintarvikkeissa olevat lyijy, kadmium, elohopea ja bentso(a)pyreeni. Elintarvikkeiden mykotoksiinipitoisuuksien on täytettävä näytteenotto- ja määritysmenetelmistä elintarvikkeiden mykotoksiinipitoisuuksien virallista tarkastusta varten annetussa komission asetuksessa (EY) N:o 401/2006 ([5]) vahvistetut vaatimukset. Näytteenotto- ja määritysmenetelmistä tietyissä elintarvikkeissa olevien dioksiinien, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien tarkastusta varten annettua komission asetusta (EU) 2017/644 ([6]) sovelletaan, kun on kyse

([1]) EUVL L 95, 7.4.2017, s. 1.

([2]) Komission päätös 2002/657/EY, tehty 14 päivänä elokuuta 2002, neuvoston direktiivin 96/23/EY täytäntöönpanosta määritysmenetelmien suorituskyvyn ja tulosten tulkinnan osalta (EYVL L 221, 17.8.2002, s. 8).

([3]) Komission päätös 98/179/EY, tehty 23 päivänä helmikuuta 1998, eräiden elävistä eläimistä ja eläintuotteista seurattavien aineiden ja niiden jäämien määrittämistä varten tehtävää virallista näytteenottoa koskevista yksityiskohtaisista säännöistä (EYVL L 65, 5.3.1998, s. 31).

([4]) Neuvoston direktiivi 96/23/EY, annettu 29 päivänä huhtikuuta 1996, elävissä eläimissä ja niistä saatavissa tuotteissa olevien tiettyjen aineiden ja niiden jäämien osalta suoritettavista tarkastustoimenpiteistä ja direktiivien 85/358/ETY ja 86/469/ETY sekä päätösten 89/187/ETY ja 91/664/ETY kumoamisesta (EYVL L 125, 23.5.1996, s. 10).

([5]) Komission asetus (EY) N:o 401/2006, annettu 23 päivänä helmikuuta 2006, näytteenotto- ja määritysmenetelmistä elintarvikkeiden mykotoksiinipitoisuuksien virallista tarkastusta varten (EUVL L 70, 9.3.2006, s. 12).

([6]) Komission asetus (EU) 2017/644, annettu 5 päivänä huhtikuuta 2017, näytteenotto- ja määritysmenetelmistä tietyissä elintarvikkeissa olevien dioksiinien, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien tarkastusta varten sekä asetuksen (EU) N:o 589/2014 kumoamisesta (EUVL L 92, 6.4.2017, s. 9).

dioksiineista ja dioksiinien kaltaisista PCB-yhdisteistä. Elintarvikkeiden lyijy-, kadmium-, elohopea- ja bentso(a)p yreenipitoisuuksien virallista tarkastusta koskevista näytteenotto- ja määritysmenetelmistä säädetään komission asetuksessa (EY) N:o 333/2007 ([7]).

(4) Selvyyden ja oikeusvarmuuden vuoksi on aiheellista yhdistää farmakologisesti vaikuttavien aineiden näytteenottoon ja määritykseen sovellettavat säännökset yhteen säädökseen samaan tapaan kuin elintarvikkeissa olevien mykotoksiinien, dioksiinien, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden, lyijyn, kadmiumin, elohopean ja bentso(a)p yreenin tapauksessa.

(5) Päätökset 98/179/EY ja 2002/657/EY olisi sen vuoksi kumottava ja korvattava tällä asetuksella.

(6) Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 1831/2003 ([8]) mukaisesti kokkidiostaatteja ja histomonostaatteja voidaan käyttää rehun lisäaineena, minkä vuoksi näytteenotto- ja määritysmenetelmistä rehujen virallista valvontaa varten annettua komission asetusta (EY) N:o 152/2009 ([9]) sovelletaan niiden pitoisuuden määrittämiseen rehuissa. Tätä asetusta olisi kuitenkin sovellettava silloin, kun rehuja analysoidaan osana vaatimustenvastaisten näytteiden lähteen selvittämiseen kuuluvia jatkotoimia, kun on kyse tapauksista, joissa epäillään tai todetaan, ettei ole noudatettu unionin sääntöjä, joita sovelletaan eläinlääkkeissä tai rehun lisäaineina sallittujen farmakologisesti vaikuttavien aineiden taikka kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen farmakologisesti vaikuttavien aineiden käyttöön tai jäämiin.

(7) Jotta varmistetaan farmakologisesti vaikuttavien aineiden jäämiä koskevan virallisen valvonnan ja muiden virallisten toimien jatkuvuus ja jotta vältetään se, että kaikki menetelmät on tarpeen validoida uudelleen kerralla, menetelmiä, jotka on validoitu ennen tämän asetuksen voimaantulopäivää, voidaan edelleen käyttää rajoitetun ajan päätöksen 2002/657/EY liitteessä I olevan 2 ja 3 kohdan vaatimusten mukaisesti. Sen vuoksi on aiheellista antaa jäsenvaltioille riittävästi aikaa soveltaa tässä asetuksessa vahvistettuja vaatimuksia kaikkiin määritysmenetelmiin.

(8) Tässä asetuksessa säädetyt toimenpiteet ovat pysyvän kasvi-, eläin-, elintarvike- ja rehukomitean lausunnon mukaiset,

ON HYVÄKSYNYT TÄMÄN ASETUKSEN:

*1 artikla*

**Aihe ja soveltamisala**

Tässä asetuksessa vahvistetaan säännöt, jotka koskevat määritysmenetelmiä, joita käytetään näytteenotossa ja laboratorioanalyyseissa, kun on kyse farmakologisesti vaikuttavien aineiden jäämistä elävissä elintarviketuotantoeläimissä, niiden ruumiin osissa ja nesteissä, ulosteissa, kudoksissa, eläinperäisissä tuotteissa, eläimistä saatavissa sivutuotteissa, rehuissa ja vedessä. Siinä vahvistetaan myös säännöt, jotka koskevat näiden laboratorioanalyysien määritystulosten tulkintaa.

Tätä asetusta sovelletaan viralliseen valvontaan, jonka tarkoituksena on tarkastaa farmakologisesti vaikuttavien aineiden jäämien esiintymistä koskevien vaatimusten täyttyminen.

([7]) Komission asetus (EY) N:o 333/2007, annettu 28 päivänä maaliskuuta 2007, näytteenotto- ja määritysmenetelmistä elintarvikkeissa olevien hivenaineiden ja jalostuksesta peräisin olevien vierasaineiden pitoisuuksien tarkastusta varten (EUVL L 88, 29.3.2007, s. 29).

([8]) Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 1831/2003, annettu 22 päivänä syyskuuta 2003, eläinten ruokinnassa käytettävistä lisäaineista (EUVL L 268, 18.10.2003, s. 29).

([9]) Komission asetus (EY) N:o 152/2009, annettu 27 päivänä tammikuuta 2009, näytteenotto- ja määritysmenetelmistä rehujen virallista valvontaa varten (EUVL L 54, 26.2.2009, s. 1).

*2 artikla*

**Määritelmät**

Tässä asetuksessa sovelletaan komission delegoidun asetuksen (EU) 2019/2090 ([10]) 2 artiklassa, komission asetuksessa (EU) 2019/1871 ([11]), Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 470/2009 ([12]) 2 artiklassa ja neuvoston asetuksessa (ETY) N:o 315/93 ([13]) säädettyjä määritelmiä.

Lisäksi tässä asetuksessa tarkoitetaan:

1) ’absoluuttisella saannolla’ analyytin määrää määrityksen lopussa jaettuna alkuperäisen näytteen sisältämän analyytin määrällä ja ilmaistuna prosenttiosuutena;

2) ’(menetelmän) tarkkuudella’ testituloksen ja hyväksytyn todellisen vertailuarvon välisen eron suuruutta; se määritetään arvioimalla oikeellisuus ja täsmällisyys (toistotarkkuus) ([14]);

3) ’alfa (α) -virheellä’ todennäköisyyttä, että testattu näyte on vaatimustenmukainen, vaikka mittaustulos osoittaa, että se olisi vaatimustenvastainen;

4) ’analyytillä’ systeemin analysoitavaa ainesosaa;

5) ’sallitulla aineella’ farmakologisesti vaikuttavaa ainetta, joka on hyväksytty annettavaksi elintarviketuotantoeläimille Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivin 2001/82/EY ([15]) mukaisesti;

6) ’beeta (β) -virheellä’ todennäköisyyttä, että testattu näyte on todellisuudessa vaatimustenvastainen, vaikka mittaustulos osoittaa, että se olisi vaatimustenmukainen;

7) ’systemaattisella virheellä’ testituloksen arvioidun arvon ja hyväksytyn vertailuarvon välisen eron suuruutta;

8) ’kalibrointistandardilla’ jäljitettävissä olevaa mittausten viitettä, jonka avulla mitattavan aineen määrä voidaan laskea suhteessa vertailuaineeseen;

9) ’sertifioidulla vertailumateriaalilla’ (CRM) vertailuainetta, jonka mukana on valtuutetun laitoksen antama dokumentaatio ja jonka avulla saadaan pätevillä menettelyillä yksi tai useampi määritelty ominaisuuden arvo sekä vastaavat epävarmuudet ja jäljitettävyydet ([16]);

10) ’yhteiskromatografialla’ tekniikkaa, jolla tuntematon aine erotellaan kromatografisesti yhdessä yhden tai useamman tunnetun yhdisteen kanssa olettaen, että tuntemattomien ja tunnettujen aineiden suhteellinen käyttäytyminen auttaa tuntemattoman aineen tunnistuksessa;

11) ’kollaboratiivisella tutkimuksella’ sitä, että sama näyte (näytteet) analysoidaan samalla menetelmällä menetelmän suorituskykyarvojen määrittämiseksi eri laboratorioissa; tutkimus antaa mahdollisuuden laskea mittauksen satunnaisvirheen ja laboratorion systemaattisen virheen käytetyn menetelmän osalta;

([10]) Komission delegoitu asetus (EU) 2019/2090, annettu 19 päivänä kesäkuuta 2019, Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EU) 2017/625 täydentämisestä siltä osin kuin on kyse tapauksista, joissa epäillään tai todetaan, ettei ole noudatettu unionin sääntöjä, joita sovelletaan eläinlääkkeissä tai rehun lisäaineina sallittujen farmakologisesti vaikuttavien aineiden taikka kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen farmakologisesti vaikuttavien aineiden käyttöön tai jäämiin (EUVL L 317, 9.12.2019, s. 28).

([11]) Komission asetus (EU) 2019/1871, annettu 7 päivänä marraskuuta 2019, eläinperäisissä elintarvikkeissa esiintyviä muita kuin sallittuja farmakologisesti vaikuttavia aineita koskevista valvonnan toimenpiderajoista ja päätöksen 2005/34/EY kumoamisesta (EUVL L 289, 8.11.2019, s. 41).

([12]) Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 470/2009, annettu 6 päivänä toukokuuta 2009, yhteisön menettelyistä farmakologisesti vaikuttavien aineiden jäämien enimmäismäärien vahvistamiseksi eläimistä saatavissa elintarvikkeissa, neuvoston asetuksen (ETY) N:o 2377/90 kumoamisesta sekä Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivin 2001/82/EY ja Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 726/2004 muuttamisesta (EUVL L 152, 16.6.2009, s. 11).

([13]) Neuvoston asetus (ETY) N:o 315/93, annettu 8 päivänä helmikuuta 1993, elintarvikkeissa olevia vieraita aineita koskevista yhteisön menettelyistä (EYVL L 37, 13.2.1993, s. 1).

([14]) ISO 3534-1: 2006 Statistics – Vocabulary and symbols – Part 1: General statistical terms and terms used in probability (Chapter 1).

([15]) Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi 2001/82/EY, annettu 6 päivänä marraskuuta 2001, eläinlääkkeitä koskevista yhteisön säännöistä (EYVL L 311, 28.11.2001, s. 1).

([16]) JCGM 200:2008, Kansainvälinen metrologian sanasto (VIM) – Perus- ja yleiskäsitteet sekä niihin liittyvät termit, kolmas painos 2008: https://www.iso.org/sites/JCGM/VIM-JCGM200.htm (Luku 5 (Mittanormaalit)).

12) ’varmistusmenetelmällä’ menetelmää, jolla saadaan täydelliset tiedot tai täydentäviä tietoja, joiden avulla aine voidaan tunnistaa yksiselitteisesti ja tarvittaessa kvantifioida jollakin seuraavista tavoista:

a) jäämän enimmäismäärän tasolla tai enimmäismäärän tasolla, kun on kyse sallituista aineista;

b) valvonnan toimenpiderajojen (RPA) tasolla, kun on kyse kielletyistä tai muista kuin sallituista aineista, joille on vahvistettu valvonnan toimenpideraja;

c) alimman kohtuudella määritettävissä olevan pitoisuuden tasolla, kun on kyse kielletyistä tai muista kuin sallituista aineista, joille ei ole vahvistettu valvonnan toimenpiderajaa;

13) ’kattavuuskertoimella’ (k) numeroa, joka ilmaisee toivotun luottamustason ja joka liittyy laajennettuun mittausepävarmuuteen;

14) ’varmistuksen päätösrajalla’ (CCα) rajaa jossa ja jonka yläpuolella voidaan päätellä virhetodennäköisyydellä α, että näyte on vaatimustenvastainen; arvo 1 – α tarkoittaa prosenttiosuutena ilmaistua tilastollista varmuutta siitä, että sallittu raja on ylitetty;

15) ’seulonnan havaitsemisrajalla’ (CCβ) analyytin pienintä pitoisuutta, joka voidaan havaita tai kvantifioida näytteessä virhetodennäköisyydellä β:

a) kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen farmakologisesti vaikuttavien aineiden tapauksessa CCβ on alin pitoisuus, jolla menetelmällä voidaan tilastollisella varmuudella 1 – β havaita tai kvantifioida näytteet, jotka sisältävät kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen aineiden jäämiä;

b) sallittujen aineiden tapauksessa CCβ on pitoisuus, jolla menetelmällä voidaan havaita sallittua rajaa pienemmät pitoisuudet tilastollisella varmuudella 1 – β;

16) ’väkevöidyllä näytemateriaalilla’ näytettä, johon on lisätty tunnettu määrä havaittavaa tai kvantifioitavaa analyyttiä;

17) ’laboratorioidenvälisellä tutkimuksella’ sitä, että kaksi tai useampi laboratoriota järjestää, suorittaa ja arvioi samasta näytteestä (näytteistä) tehdyt testaukset, jotka tehdään ennaltamäärätyissä olosuhteissa, testauskyvyn arvioimiseksi joko kollaboratiivisena tutkimuksena tai pätevyyskokeena;

18) ’sisäisellä standardilla’ (IS) ainetta, jota näyte ei sisällä ja jonka fysikaalis-kemialliset ominaisuudet ovat mahdollisimman samankaltaiset tunnistettavan tai kvantifioitavan analyytin kanssa;

19) ’tietyllä tasolla’ näytteessä olevan aineen tai analyytin pitoisuutta, joka on merkityksellinen sen kannalta, onko aine lainsäädännön vaatimusten mukainen seuraavien osalta:

a) jäämän enimmäismäärä tai enimmäismäärä sallittujen aineiden osalta komission asetuksen (EY) N:o 124/2009 ([17]) ja komission asetuksen (EU) N:o 37/2010 ([18]) mukaisesti;

b) valvonnan toimenpideraja sellaisten kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen aineiden osalta, joille on vahvistettu valvonnan toimenpideraja asetuksen (EU) 2019/1871 mukaisesti;

c) alin määritettävissä oleva pitoisuus sellaisten kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen aineiden osalta, joille ei ole vahvistettu valvonnan toimenpiderajaa;

20) ’alimmalla kalibrointitasolla’ (LCL) alinta pitoisuutta, jolla mittausjärjestelmä on kalibroitu;

21) ’matriisilla’ materiaalia, josta näyte otetaan;

22) ’matriisivaikutuksella’ liuottimeen liuotetun standardin ja matriisiin lisätyn standardin analyyttisen vasteen eroa joko ilman sisäisellä standardilla tehtävää korjausta tai käyttämällä sisäisellä standardilla tehtävää korjausta;

([17]) Komission asetus (EY) N:o 124/2009, annettu 10 päivänä helmikuuta 2009, enimmäispitoisuuksien asettamisesta kokkidiostaattien tai histomonostaattien väistämättömästä siirtymisestä muihin kuin kohderehuihin johtuvalle esiintymiselle elintarvikkeissa (EUVL L 40, 11.2.2009, s. 7).

([18]) Komission asetus (EU) N:o 37/2010, annettu 22 päivänä joulukuuta 2009, farmakologisesti vaikuttavista aineista ja niiden eläinperäisissä elintarvikkeissa esiintyvien jäämien enimmäismääriä koskevasta luokituksesta (EUVL L 15, 20.1.2010, s. 1).

23) ’matriisisovitetulla standardilla’ analyyttiä sisältämätöntä nollamatriisia, johon analyytti lisätään eri pitoisuuksina näytteen käsittelyn jälkeen;

24) ’matriisiväkevöidyllä standardilla’ analyyttiä sisältämätöntä nollamatriisia, johon analyytti lisätään eri pitoisuuksina ennen liuotinuuttoa ja näytteenkäsittelyä;

25) ’mittaussuureella’ tiettyä suuretta, jota mitataan;

26) ’mittausepävarmuudella’ mittaustulokseen liittyvää ei-negatiivista parametria, joka kuvaa niiden arvojen hajontaa, jotka mittaussuureelle voidaan kohtuullisesti antaa käytettyjen tietojen perusteella;

27) ’suorituskykyperusteilla’ suorituskykyarvoja koskevia vaatimuksia, joiden perusteella voidaan päätellä, että kyseinen analyyttinen menetelmä sopii aiottuun käyttöön ja tuottaa luotettavia tuloksia;

28) ’täsmällisyydellä (toistotarkkuus)’ ennaltamäärätyissä olosuhteissa saatujen toisistaan riippumattomien testitulosten eron suuruutta; ilmaistaan testitulosten keskihajontana tai variaatiokertoimena;

29) ’kvalitatiivisella menetelmällä’ analyyttistä menetelmää, jolla havaitaan tai tunnistetaan aine tai aineryhmä sen kemiallisten, biologisten tai fysikaalisten ominaisuuksien perusteella;

30) ’kvantitatiivisella menetelmällä’ analyyttistä menetelmää, jolla määritetään aineen määrä tai massaosuus siten, että se voidaan ilmaista numeerisena arvona asianmukaisissa yksiköissä;

31) ’saannolla’ saannon suhteen korjattua analyytin määrää jaettuna analyytin väkevöidyllä määrällä matriisinäytteessä, ilmaistuna prosenttiosuutena;

32) ’saantokorjauksella’ sisäisten standardien, matriisikalibraatiokäyrän ja saantokorjauskertoimen tai näiden yhdistelmän käyttämistä;

33) ’vertailumateriaalilla’ riittävän homogeenista ja yhden tai useamman määritellyn ominaisuuden osalta stabiilia materiaalia, joka on valmistettu täyttämään käyttötarkoituksen vaatimukset mittauksessa tai nimellisominaisuuksien tutkimisessa ([19]);

34) ’suhteellisella matriisivaikutuksella’ liuottimeen liuotetun standardin ja matriisisovitetun standardin analyyttisen vasteen eroa käyttäen sisäisellä standardilla tehtyä korjausta;

35) ’toistettavuudella’ täsmällisyyttä olosuhteissa, joissa toisistaan riippumattomat testitulokset saadaan samalla menetelmällä samoista näytteistä samassa laboratoriossa saman analyysinsuorittajan toimesta käyttäen samoja välineitä lyhyen ajan sisällä;

36) ’uusittavuudella’ täsmällisyyttä olosuhteissa, joissa testitulokset saadaan samalla menetelmällä samoista näytteistä eri laboratorioissa eri analyysinsuorittajien toimesta käyttäen eri välineitä ([20]);

37) ’häiriönkestävyydellä’ analyyttisen menetelmän herkkyyttä sellaisten koeolosuhteiden muutoksille, joiden vallitessa menetelmää voidaan käyttää esitetyssä muodossa tai määritetyin pienin muutoksin;

38) ’seulontamenetelmällä’ menetelmää, jota käytetään seulomaan aineen tai aineryhmän olemassaolo tietyllä tasolla;

39) ’seulonnan tavoitepitoisuudella’ (STC) enintään seulonnan havaitsemisrajaa (CCβ) vastaavaa pitoisuutta, jonka perusteella näyte luokitellaan seulontamittauksessa mahdollisesti vaatimusten vastaiseksi ”seulontapositiiviseksi”, minkä vuoksi varmistustestaus on tarpeen;

40) ’selektiivisyydellä’ menetelmän kykyä erottaa mitattavana oleva analyytti muista aineista;

41) ’yhden laboratorion tutkimuksella’ tai ’sisäisellä validoinnilla’ sitä, että yhdessä laboratoriossa analysoidaan yhdellä menetelmällä samat tai erilaiset näytemateriaalit eri olosuhteissa perustelluin pitkin aikavälein;

([19]) Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, Guidelines on analytical terminology (CAC/GL 72-2009).

([20]) ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions (Chapter 3).

42) 'standardilisäyksellä' menettelyä, jossa yksi osa näytettä analysoidaan sellaisenaan, ja muihin näyteannoksiin lisätään tunnetut määrät standardianalyyttiä ennen määritystä;

43) 'standardianalyytillä' analyyttiä, joka sisältää tunnetun ja sertifioidun määrän puhtausasteeltaan tunnettua ja sertifioitua ainetta ja jota voidaan siten käyttää määrityksessä vertailuaineena;

44) 'aineella' koostumukseltaan muuttumatonta ainesta, jolle on tunnusomaista sen muodostava kokonaisuus, ja tietyt fysikaaliset ominaisuudet;

45) 'testiannoksella' tiettyä määrää näytettä, joka otetaan tutkittavasta tai havainnoitavasta näytteestä;

46) 'oikeellisuudella' suuresta määrästä testituloksia saadun keskiarvon ja hyväksytyn vertailuarvon välisen eron suuruutta;

47) 'yksiköllä' standardissa ISO 80000 ([21]) ja neuvoston direktiivissä 80/181/ETY ([22]) selostettuja yksiköitä;

48) 'validoinnilla' osoittamista tutkimalla ja tosiasiallista näyttöä esittämällä, että erityiset vaatimukset tiettyä aiottua tarkoitusta varten täyttyvät ([23]), yhden laboratorion tutkimuksen tai kollaboratiivisen tutkimuksen avulla;

49) 'laboratorion sisäisellä uusittavuudella' tai 'kohtalaisella tarkkuudella / sisäisellä uusittavuudella' mittauksen täsmällisyyttä laboratorion sisäisissä oloissa tietyssä laboratoriossa.

*3 artikla*

**Määritysmenetelmät**

Jäsenvaltioiden on varmistettava, että asetuksen (EU) 2017/625 34 artiklan mukaisesti otetut näytteet analysoidaan käyttäen menetelmiä, jotka ovat seuraavien vaatimusten mukaisia:

1) ne on dokumentoitu testausohjeissa mieluiten standardin ISO 78-2:1999 Chemistry-Layouts for standards – Part 2: Methods of chemical analysis ([24]) liitteiden mukaisesti;

2) ne ovat tämän asetuksen liitteessä I olevassa 1 luvussa vahvistettujen määritysmenetelmiä koskevien suorituskykyperusteiden ja muiden vaatimusten mukaisia;

3) ne on validoitu tämän asetuksen liitteessä I olevassa 2 ja 4 luvussa vahvistettujen vaatimusten mukaisesti;

4) niiden avulla voidaan panna täytäntöön asetuksessa (EU) 2019/1871 vahvistetut valvonnan toimenpiderajat, tunnistaa kiellettyjen ja muiden kuin sallittujen aineiden esiintyminen ja valvoa asetuksen (ETY) N:o 315/93 ja asetuksen (EY) N:o 124/2009 perusteella vahvistettujen enimmäismäärien (ML) ja asetusten (EY) N:o 1831/2003 ja (EY) N:o 470/2009 perusteella vahvistettujen jäämien enimmäismäärien (MRL) noudattamista.

*4 artikla*

**Laadunvalvonta**

Jäsenvaltioiden on varmistettava asetuksen (EU) 2017/625 nojalla tehtyjen määritysten tulosten laatu, erityisesti seurantatesteillä tai kalibrointituloksilla standardin ISO/IEC 17025:2017 "Testaus- ja kalibrointilaboratorioiden pätevyys. Yleiset vaatimukset" mukaisesti sekä tämän asetuksen liitteessä I olevassa 3 luvussa vahvistettujen laadunvalvontaa rutiinianalyyseissä koskevien vaatimusten mukaisesti.

([21]) ISO 80000-1:2009 Quantities and units – Part 1: General (Introduction).
([22]) Neuvoston direktiivi 80/181/ETY, annettu 20 päivänä joulukuuta 1979, mittayksikköjä koskevan jäsenvaltioiden lainsäädännön lähentämisestä ja direktiivin 71/354/ETY kumoamisesta (EYVL L 39, 15.2.1980, s. 40).
([23]) ISO/IEC 17025:2017, Testaus- ja kalibrointilaboratorioiden pätevyys. Yleiset vaatimukset (Luku 3).
([24]) ISO 78-2: 1999 Chemistry – Layouts for standards – Part 2: Methods of chemical analysis (Annexes).

*5 artikla*

**Tulosten tulkinta**

1) Määritystulosta on pidettävä vaatimusten vastaisena, jos se on yhtä suuri tai suurempi kuin varmistuksen päätösraja (CCα).

2) Kun on kyse sallituista aineista, joille on vahvistettu jäämän enimmäismäärä (MRL) tai enimmäismäärä (ML), varmistuksen päätösraja (CCα) on se pitoisuus, jonka tasolla ja yläpuolella voidaan päättää tilastollisella varmuudella numeerisella arvolla 1 – α, että sallittu raja on ylitetty.

3) Kun on kyse muista kuin sallituista aineista tai kielletyistä aineista taikka sallituista aineista, joille ei ole vahvistettu jäämän enimmäismäärää (MRL) tai enimmäismäärää (ML) tietyssä lajissa tai tuotteessa, varmistuksen päätösraja (CCα) on alin pitoisuus, jolla voidaan päättää tilastollisella varmuudella numeerisella arvolla 1 – α, että kyseistä analyyttiä on näytteessä.

4) Kun on kyse muista kuin sallituista taikka kielletyistä farmakologisesti vaikuttavista aineista, α-virhe saa olla enintään 1 %. Kaikilla muilla aineilla α-virhe saa olla enintään 5 %.

*6 artikla*

**Näytteenottomenetelmät**

Jäsenvaltioiden on varmistettava, että näytteet otetaan, käsitellään ja merkitään tämän asetuksen liitteessä II vahvistettujen yksityiskohtaisten näytteenottomenetelmien mukaisesti.

*7 artikla*

**Kumoaminen ja siirtymätoimenpiteet**

Kumotaan päätökset 2002/657/EY ja 98/179/EY tämän asetuksen voimaantulopäivästä.

Päätöksen 2002/657/EY liitteessä I olevassa 2 ja 3 kohdassa vahvistettuja vaatimuksia sovelletaan kuitenkin 10 päivään kesäkuuta 2026 menetelmiin, jotka on validoitu ennen tämän asetuksen voimaantulopäivää.

*8 artikla*

**Voimaantulo**

Tämä asetus tulee voimaan kahdentenakymmenentenä päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan unionin virallisessa lehdessä*.

Tämä asetus on kaikilta osiltaan velvoittava, ja sitä sovelletaan sellaisenaan kaikissa jäsenvaltioissa.

Tehty Brysselissä 22 päivänä maaliskuuta 2021.

*Komission puolesta*
*Puheenjohtaja*
Ursula VON DER LEYEN

*LIITE I*

1 LUKU

## MÄÄRITYSMENETELMIÄ KOSKEVAT SUORITUSKYKYPERUSTEET JA MUUT VAATIMUKSET

### 1.1 Seulontamenetelmiä koskevat vaatimukset

1.1.1 *Sopivien seulontamenetelmien luokat*

Sopivina seulontamenetelminä on käytettävä kvalitatiivisia, semikvantitatiivisia tai kvantitatiivisia menetelmiä.

1.1.2 Biologisia, biokemiallisia tai fysikaalis-kemiallisia seulontamenetelmiä koskevat vaatimukset

Kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen aineiden osalta CCβ:n on oltava niin alhainen, kuin on kohtuudella mahdollista saavuttaa, ja joka tapauksessa pienempi kuin valvonnan toimenpideraja (RPA), kun kyseessä on aine, jolle on vahvistettu valvonnan toimenpideraja asetuksen (EU) 2019/1871 nojalla.

Sallittujen farmakologisesti vaikuttavien aineiden osalta CCβ:n on oltava alempi kuin jäämän enimmäismäärä (MRL) tai enimmäismäärä (ML).

Seulontatarkoituksiin on käytettävä vain niitä määritysmenetelmiä, joista voidaan dokumentoidusti ja jäljitettävissä olevalla tavalla osoittaa, että menetelmä on validoitu ja että sen väärien vaatimustenmukaisten tulosten osuus (β-virhe) on enintään 5 %. Jos tuloksen epäillään olevan vaatimustenvastainen, tulos on vahvistettava varmistusmenetelmän avulla.

Sekä seulontaan että varmistukseen käytettävien kvantitatiivisten seulontamenetelmien on täytettävä samat tarkkuutta, rajoja ja täsmällisyyttä (toistotarkkuutta) koskevat vaatimukset kuin 1.2.2.1 ja 1.2.2.2 luvussa on kuvattu.

### 1.2 Varmistusmenetelmiä koskevat vaatimukset

1.2.1 *Varmistusmenetelmiä koskevat yleiset vaatimukset*

Kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen aineiden osalta CCα:n on oltava niin alhainen kuin on kohtuudella mahdollista saavuttaa. Jos kielletylle tai muulle kuin sallitulle aineelle on vahvistettu valvonnan toimenpideraja (RPA) asetuksen (EU) 2019/1871 nojalla, CCα:n on oltava pienempi tai yhtä suuri kuin kyseinen valvonnan toimenpideraja.

Sallittujen aineiden osalta CCα:n on oltava suurempi kuin jäämän enimmäismäärä (MRL) tai enimmäismäärä (ML), mutta kuitenkin mahdollisimman lähellä sitä.

Varmistustarkoituksiin on käytettävä vain niitä määritysmenetelmiä, joista voidaan dokumentoidusti ja jäljitettävissä olevalla tavalla osoittaa, että menetelmä on validoitu ja että sen väärien vaatimustenvastaisten tulosten osuus (α-virhe) on enintään 1 %, kun kyseessä ovat kielletyt tai muut kuin sallitut aineet ja enintään 5 %, kun kyseessä ovat sallitut aineet.

Varmistusmenetelmien on annettava tietoa analyytin kemiallisesta rakenteesta. Sen vuoksi pelkästään kromatografiaan perustuvat varmistusmenetelmät, joissa ei käytetä massaspektrometrista detektiota, eivät sovellu sellaisenaan varmistusmenetelmiksi, kun kyseessä ovat kielletyt tai muut kuin sallitut farmakologisesti vaikuttavat aineet. Jos massaspektrometria ei sovellu sallituille aineille, voidaan käyttää muita menetelmiä, esimerkiksi HPLC-DAD tai -FLD tai niiden yhdistelmä.

Jos varmistusmenetelmä tätä edellyttää, sopiva sisäinen standardi on lisättävä testiannokseen uuttoprosessin alussa. Saatavuuden mukaan on käytettävä joko analyytin vakaita isotooppimerkittyjä muotoja, jotka soveltuvat erityisesti massaspektrometridetektioon, tai vastaavia yhdisteitä, jotka ovat rakenteellisesti lähellä analyyttiä. Jos sopivaa sisäistä standardia ei ole käytettävissä, analyytin tunnistus on suositeltavaa varmistaa yhteiskromatografialla ([1]). Tässä tapauksessa kromatografiassa saa tulla vain yksi piikki, jolloin piikin korkeuden (tai pinta-alan) lisääntyminen vastaa lisätyn analyytin määrää. Jos tämä ei ole mahdollista, on käytettävä matriisisovitettuja tai matriisiväkevöityjä standardeja.

([1]) Yhteiskromatografia on menetelmä, jossa näyteuute jaetaan kahteen osaan ennen kromatografisia vaiheita. Toinen osanäyte erotellaan kromatografisesti sellaisenaan. Toinen osa sekoitetaan standardianalyytin kanssa, joka on tarkoitus mitata. Sitten myös tämä seos erotellaan kromatografisesti. Lisätyn standardianalyytin määrän on oltava samansuuruinen kuin uutteen sisältämän tutkittavan analyytin arvioitu määrä. Yhteiskromatografiaa käytetään parantamaan analyytin tunnistusta käytettäessä kromatografisia menetelmiä, erityisesti kun sopivaa sisäistä standardia ei ole käytettävissä.

1.2.2 *Varmistusmenetelmiä koskevat yleiset suorituskykyperusteet*

1.2.2.1 Oikeellisuuden arviointi saannon avulla

Kun sertifioidun vertailumateriaalin analyysia toistetaan, massaosuuden saannon suhteen korjatun kokeellisesti määritetyn keskiarvon poikkeaman sertifioidusta arvosta on noudatettava taulukossa 1 lueteltuja oikeellisuuden vähimmäisarvojen vaihteluvälejä.

*Taulukko 1*

**Kvantitatiivisten menetelmien vähimmäisoikeellisuus**

| Massaosuus | Rajat |
|---|---|
| ≤ 1 µg/kg | − 50 % ... +20 % |
| > 1 µg/kg ... 10 µg/kg | −30 % ... +20 % |
| ≥ 10 µg/kg | −20 % ... +20 % |

Jos sertifioitua vertailumateriaalia ei ole saatavissa, on hyväksyttävää arvioida mittausten oikeellisuus muilla tavoilla, kuten käyttämällä materiaaleja, joille on määritetty laboratorioidenvälisistä tutkimuksista saadut asetetut arvot, tai lisäämällä nollamatriisiin tunnettu määrä analyyttiä.

1.2.2.2 Täsmällisyys (toistotarkkuus)

Vaihtelukerroin (CV) vertailumateriaalin tai väkevöidyn materiaalin toistomäärityksille laboratorion sisäisissä uusittavuusolosuhteissa ei saa olla suurempi kuin Horwitzin yhtälöllä laskettu taso. Yhtälö on seuraava:

$$CV = 2^{(1-0{,}5 \log C)}$$

jossa C on massaosuus 10:n potenssina (esim. 1 mg/g = $10^{-3}$). Jos massaosuus on pienempi kuin 120 µg/kg, Horwitzin yhtälö antaa liian suuria arvoja. Siksi suurin sallittu vaihtelukerroin ei saa olla taulukossa 2 esitettyjä arvoja suurempi.

*Taulukko 2*

**Hyväksyttävä vaihtelukerroin**

| **Massaosuus** | **Uusittavuus-CV (%)** |
|---|---|
| **> 1 000 µg/kg** | 16 (mukailtu Horwitzin yhtälöstä) |
| **> 120 µg/kg ... 1 000 µg/kg** | 22 (mukailtu Horwitzin yhtälöstä) |
| **10–120 µg/kg** | 25 * |
| **< 10 µg/kg** | 30 * |

* Tässä annettu vaihtelukerroin (%) on ohjeellinen, ja sen olisi oltava niin alhainen kuin on kohtuudella mahdollista saavuttaa.

Toistettavuusolosuhteissa tehdyille määrityksille vaihtelukertoimen on toistettavuusolosuhteissa oltava enintään kaksi kolmasosaa taulukossa 2 luetelluista arvoista.

1.2.3 *Kromatografista erotusta koskevat vaatimukset*

Neste- tai kaasukromatografiassa (LC tai GC) tutkittavan analyytin pienin hyväksyttävä retentioaika on kaksi kertaa kolonnin tyhjätilavuutta vastaava retentioaika. Uutteen sisältämän analyytin retentioajan on vastattava kalibrointistandardin, matriisisovitetun standardin tai matriisiväkevöidyn standardin retentioaikaa ± 0,1 minuutin toleranssin puitteissa. Nopeassa kromatografiassa, jossa retentioaika on alle 2 minuuttia, hyväksytään alle 5 %:n poikkeama retentioajasta. Jos käytetään sisäistä standardia, analyytin suhteellisen retentioajan, eli analyytin kromatografisen

retentioajan suhde sisäisen standardin retentioaikaan, tulee vastata kalibrointistandardin, matriisisovitetun standardin tai matriisiväkevöidyn standardin suhteellista retentioaikaa siten, että poikkeama on enintään 0,5 % kaasukromatografiassa ja 1 % nestekromatografiassa menetelmillä, jotka on validoitu tämän asetuksen voimaantulopäivästä alkaen.

1.2.4 *Massaspektrometriaa koskevat erityiset suorituskykyperusteet*

1.2.4.1 Massaspektrometrinen detektio

Massaspektrometrisessa detektiossa on käytettävä jotakin seuraavista vaihtoehdoista:

1. pyyhkäisyspektrien (FS) mittaaminen;

2. valittujen ionien seuranta (SIM);

3. useampivaiheiset massaspektrometriatekniikat ($MS^n$), kuten valittujen reaktioiden seuranta (SRM);

4. massaspektrometriatekniikoiden (MS) tai useampivaiheisten massaspektrometriatekniikoiden ($MS^n$) yhdistelmä yhdistettynä asianmukaisiin ionisaatiotekniikoihin.

Hyväksyttäviä ovat sekä matalan erotuskyvyn massaspektrometria (LRMS, yksikkömassaresoluutiolla) että korkean erotuskyvyn massaspektrometria (HRMS), mukaan lukien kaksoisfokusoivat sektorit sekä lentoaika- (TOF) ja Orbiloukku-laitteistot.

Korkean erotuskyvyn massaspektrometriassa analyytin tunnistamisen varmistamiseksi kaikkien diagnostisten ionien massatarkkuuden on oltava alle 5 ppm (tai alle 1 mDa, jos m/z < 200). Tarkoitukseen sopiva efektiivinen erotuskyky tulee valita tämän perusteella ja sen on oltava tyypillisesti koko massa-alueella suurempi kuin 10 000 käyttäen 10 % laakson määritelmää tai 20 000 puolikorkeuden leveydellä (FWHM).

Kun massaspektrometrinen määritys tehdään mittaamalla pyyhkäisyspektrit (sekä LRMS että HRMS), soveltuvia ovat vain sellaiset diagnostiset ionit, joiden suhteellinen intensiteetti kalibrointistandardin, matriisisovitetun standardin tai matriisiväkevöidyn standardin vertailuspektrissä on yli 10 %. Diagnostisissa ioneissa on oltava mukana molekyyli-ioni (jos sen suhteellinen intensiteetti on ≥ 10 % verrattuna peruspiikkiin) sekä tunnusomaiset pilke- tai tuoteionit.

Lähtöionin valinta: Kun massaspektrometrinen määritys tehdään pilkkomalla lähtöionin valinnan jälkeen, lähtöionin valinta tehdään vähintään yksikkömassaresoluutiolla. Valitun lähtöionin on oltava molekyyli-ioni, molekyyli-ionin tunnusomainen adduktiotuote, tunnusomainen tuoteioni tai jokin niiden isotooppi-ioneista. Jos lähtöionin valinnassa käytetään yli yhden daltonin kokoista massaikkunaa (esimerkiksi pilkkomalla kaikki ionit tietyllä massa-alueella (Data Independent Acquisition eli datasta riippumaton mittaus)), tekniikan katsotaan olevan pyyhkäisy-varmistusanalyysi.

Pilke- ja tuoteionit: Valittujen pilke- tai tuoteionien on oltava mitatun analyytin/tuotteen diagnostisia pilkeioneja. Epäselektiiviset siirtymät (esimerkiksi tropyliumikationi tai veden lohkeaminen) on jätettävä pois aina kun mahdollista. Diagnostisten ionien runsaus määritetään integroitujen eristettyjen ionikromatogrammien piikin pinta-alasta tai korkeudesta. Tämä pätee myös silloin, kun tunnistamiseen käytetään pyyhkäisymittauksia. Kunkin diagnostisen ionin signaali-kohinasuhteen (S/N) on oltava suurempi tai yhtä suuri kuin kolmen suhde yhteen (3:1).

Suhteelliset intensiteetit: Diagnostisten ionien suhteelliset intensiteetit (ionisuhde) ilmaistaan prosenttiosuutena runsaimmin esiintyvän ionin tai siirtymän intensiteetistä. Ionisuhde on määritettävä vertaamalla spektrejä tai integroimalla eristettyjen ionien massajäljet. Varmistettavan analyytin ionisuhteen on oltava vastaava kuin matriisisovitetuilla standardeilla, matriisiväkevöidyillä standardeilla tai standardiliuoksilla vastaavilla pitoisuuksilla ja vastaavissa olosuhteissa mitattuna ja suhteellisen poikkeaman ollessa enintään ± 40 %.

Kaikissa massaspektrometrisissä analyyseissä on määritettävä vähintään yksi ionisuhde. Nämä ovat mieluiten yhdellä pyyhkäisyllä saatuja ioneja, mutta ionit voivat olla peräisin myös saman injektion eri pyyhkäisyistä (massaspektrin pyyhkäisy ja pilkepyyhkäisy).

1.2.4.2 Tunnistaminen

Sopivien mittaustapojen ja arviointikriteerien valinnassa on käytettävä tunnistuspistejärjestelmää. Sellaisten matriisissa olevien aineiden, joille on vahvistettu MRL (sallitussa käyttötarkoituksessa), tunnistamisen varmistamiseksi vaaditaan vähintään neljä tunnistuspistettä. Muille kuin sallituille aineille ja kielletyille aineille vaaditaan viisi tunnistuspistettä. Yksi piste voi olla peräisin kromatografisesta erotuksesta. Taulukossa 3 esitetään, kuinka monta tunnistuspistettä eri menetelmistä saadaan. Eri menetelmistä saadut tunnistuspisteet voidaan laskea yhteen, jotta saadaan varmistamiseen vaadittava määrä tunnistuspisteitä.

1. Kaikki massaspektrometriset analyysit on yhdistettävä erotustekniikkaan, jolla on käyttökohteen kannalta riittävä erotusteho ja selektiivisyys. Sopivia erotusmenetelmiä ovat muun muassa neste- ja kaasukromatografia, kapillaarielektroforeesi (CE) ja ylikriittinen kromatografia (SFC). Mikäli analyytillä on isobaarinen tai isomeerinen yhdiste, retentioajan on oltava hyväksyttävä (kaasukromatografiassa ± 0,5 %, nestekromatografiassa ja ylikriittisessä kromatografiassa ± 1 %), jotta analyytin tunnistaminen voidaan varmistaa.

2. Tunnistuspisteiden vähimmäismäärän saavuttamiseksi voidaan yhdistää enintään kolme eri menetelmää.

3. Eri ionisaatiomoodit (esim. elektroni-ionisaatio ja kemiallinen ionisaatio) katsotaan eri tekniikoiksi.

*Taulukko 3*

**Eri menetelmien tunnistuspisteet**

| Menetelmä | Tunnistuspisteet |
|---|---|
| Erotus (GC, LC, SFC, CE) | 1 |
| LR-MS-ioni | 1 |
| Lähtöionin valinta, kun massa-alue < ± 0,5 Da | 1 (epäsuora) |
| LR-$MS^n$-tuoteioni | 1,5 |
| HR-MS-ioni | 1,5 |
| HR-$MS^n$-tuoteioni | 2,5 |

*Taulukko 4*

**Esimerkkejä eri menetelmillä ja niiden yhdistelmillä saatavien tunnistuspisteiden määristä (n = kokonaisluku)**

| Menetelmä(t) | Erotus | Ionien lukumäärä | Tunnistuspisteet |
|---|---|---|---|
| GC-MS (elektroni-ionisaatio (EI) tai kemiallinen ionisaatio (CI)) | GC | n | 1 + n |
| GC-MS (EI ja CI) | GC | 2 (EI) + 2 (CI) | 1 + 4 = 5 |
| GC-MS (EI tai CI) 2 johdosta | GC | 2 (johdos A) + 2 (johdos B) | 1 + 4 = 5 |
| LC-MS | LC | n (MS) | 1 + n |
| GC- tai LC-MS/MS | GC tai LC | 1 lähtöioni + 2 tuoteionia | 1 + 1 + 2 × 1,5 = 5 |
| GC- tai LC-MS/MS | GC tai LC | 2 lähtöionia + 2 tuoteionia | 1 + 2 + 2 × 1,5 = 6 |
| GC- tai LC-$MS^3$ | GC tai LC | 1 lähtöioni + 1 $MS^2$-tuoteioni + 1 $MS^3$-tuoteioni | 1 + 1 + 1,5 + 1,5 = 5 |
| GC- tai LC-HRMS | GC tai LC | n | 1 + n × 1,5 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| GC- tai LC-HRMS/MS | GC tai LC | 1 lähtöioni (massa-alue <±0,5 Da) + 1 tuoteioni | 1 + 1 + 2,5 = 4,5 |
| GC- tai LC-HRMS ja HRMS/MS | GC tai LC | 1 pyyhkäisyspektrin ioni + 1 HRMS-tuoteioni [a] | 1 + 1,5 + 2,5 = 5 |
| GC- ja LC-MS | GC ja LC | 2 ionia (GCMS) + 1 ioni (LCMS) | 1 + 1 + 2 + 1 + 1 = 6 |

[a] Lähtöionin valinnasta ei saa lisää tunnistuspisteitä, jos kyseinen lähtöioni on sama ioni (tai adduktiotuote tai isotooppi-ioni) kuin massaspektrin pyyhkäisyssä havaittu HRMS-ioni.

1.2.5 *Erityiset suorituskykyperusteet, jotka koskevat analyytin määrittämistä nestekromatografialla yhdessä muiden detektiotekniikoiden kuin massaspektrometrian kanssa*

Seuraavia menetelmiä voidaan käyttää ainoastaan sallituille aineille vaihtoehtoina massaspektrometriaan perustuville menetelmille, jos näitä tekniikoita koskevat suorituskykyperusteet täyttyvät:

1. pyyhkäisy-diodirividetektiospektrofotometria (DAD), jos sitä käytetään yhdessä HPLC:n kanssa;

2. fluoresenssidetektiospektrofotometria (FLD), jos sitä käytetään yhdessä HPLC:n kanssa.

Nestekromatografia yhdessä UV/VIS-detektion kanssa (yksi aallonpituus) ei sovellu yksinään varmistusmenetelmäksi.

1.2.5.1 Pyyhkäisy-diodirivispektrofotometriaa koskevat suorituskykyperusteet

Kromatografista erotusta koskevien suorituskykyperusteiden, jotka esitetään 1.2.3. luvussa, on täytyttävä.

Analyytin UV-spektrissä esiintyvien absorptiomaksimien on oltava samoilla aallonpituuksilla kuin matriisissa olevan kalibrointistandardin absorptiomaksimit detektiojärjestelmän resoluution määrittämän enimmäismarginaalin rajoissa. Diodirividetektiossa enimmäismarginaali on tavallisesti ± 2 nm. Yli 220 nm:ssä analyytin spektri ei silmämääräisesti tarkasteltuna saa erota kalibrointistandardin spektristä niillä kummankin spektrin alueilla, joissa suhteellinen absorbanssi on vähintään 10 %. Tämä peruste täyttyy, kun spektrien absorptiomaksimi on sama ja näiden kahden spektrin ero ei ole missään kohdassa suurempi kuin 10 % kalibrointistandardin absorbanssista. Tietokoneavusteista kirjastohakua ja vertailua käytettäessä virallisten näytteiden spektridatan ja kalibrointiliuoksen datan vertailun on oltava suurempi kuin kriittinen vastaavuustekijä. Tämä tekijä on määritettävä validointiprosessin yhteydessä kullekin analyytille sellaisten spektrien perusteella, jotka täyttävät edellä esitetyt vaatimukset. Näytematriisin ja detektorin suorituskyvyn aiheuttama vaihtelu spektreissä on selvitettävä.

1.2.5.2 Fluoresenssidetektiospektrofotometriaa koskevat suorituskykyperusteet

Kromatografista erotusta koskevien suorituskykyperusteiden, jotka esitetään 1.2.3. luvussa, on täytyttävä.

Virittymis- ja emissioaallonpituudet ja kromatografiset olosuhteet on valittava siten, että nollanäyteuutteissa esiintyvien häiritsevien komponenttien vaikutukset minimoidaan. Virittymis- ja emissioaallonpituuden etäisyyden on oltava vähintään 50 nanometriä.

Kromatogrammissa analyytin piikkiä lähinnä olevan piikin huipun on oltava vähintään yhden täyden piikinleveyden etäisyydellä 10 %:n korkeudella analyyttipiikin enimmäiskorkeudesta.

Tämä koskee molekyyleja, joilla esiintyy luontaista fluoresenssia sekä molekyyleja, joilla esiintyy fluoresenssia joko muuntumisen tai johdannaisen valmistuksen jälkeen.

2 LUKU

## VALIDOINTI

### 2.1 Määritysmenetelmiä varten määritettävät suorituskykyarvot

Menetelmän validoinnilla on osoitettava, että määritysmenetelmä täyttää relevantteja suorituskykyarvoja koskevat vaatimukset. Erityyppistä valvontaa varten käytetään erilaisia menetelmiä. Taulukossa 5 esitetään, mitkä suorituskykyarvot on todennettava millekin menetelmälle. Parametrien merkitys selitetään tarkemmin tässä luvussa.

*Taulukko 5*

**Määritysmenetelmien luokittelu määritettävien suorituskykyarvojen perusteella**

| Menetelmä | Varmistus | | Seulonta | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Kvalitatiivinen | Kvantitatiivinen | Kvalitatiivinen | Semikvantitatiivinen | Kvantitatiivinen |
| Aineet | A | A, B | A, B | A, B | A, B |
| Tunnistaminen 1.2 luvun mukaisesti | x | x | | | |
| CCα | x | x | | | |
| CCβ | – | | x | x | x |
| Oikeellisuus | | x | | | x |
| Täsmällisyys (toistotarkkuus) | | x | | (x) | x |
| Suhteellinen matriisivaikutus/ absoluuttinen saanto * | | x | | | x |
| Selektiivisyys/Spesifisyys | | x | x | x | x |
| Stabiilius # | | x | x | x | x |
| Häiriönkestävyys | | x | x | x | x |

x: Validoinnin avulla on osoitettava, että suorituskykyarvoja koskevat vaatimukset täyttyvät.

x) Semikvantitatiivisten seulontamenetelmien ei tarvitse täyttää 1.2.2.2 luvun täsmällisyyttä (toistotarkkuutta) koskevia vaatimuksia. Täsmällisyys on kuitenkin määritettävä sen osoittamiseksi, että menetelmä soveltuu väärien vaatimustenmukaisten määritystulosten estämiseen.

A: kielletyt tai muut kuin sallitut aineet

B: sallitut aineet

# Jos matriisissa olevien analyyttien stabiiliustiedot saadaan tieteellisestä kirjallisuudesta tai toisesta laboratoriosta, laboratorion ei tarvitse määrittää näitä tietoja uudelleen. Viittaus liuoksessa olevien analyyttien saatavilla oleviin stabiiliustietoihin on kuitenkin hyväksyttävä vain, jos sovelletaan identtisiä olosuhteita.

* Jäsenvaltioiden menetelmille on oleellista osoittaa validoinnin avulla, että suorituskykyarvoja koskevat vaatimukset täyttyvät. Menetelmän suhteellinen matriisivaikutus on määritettävä, jos kyseistä vaikutusta ei ole arvioitu validoinnin aikana. Menetelmän absoluuttinen saanto on määritettävä silloin, kun ei käytetä sisäistä standardia tai kalibrointia ei tehdä matriisivaikutuksen kannalta riittävän samankaltaisilla standardeilla.

### 2.2 Oikeellisuus, toistettavuus ja laboratorion sisäinen uusittavuus

Tässä luvussa annetaan esimerkkejä validointimenettelyistä sekä kirjallisuusviitteitä. Sen osoittamiseksi, että menetelmä on suorituskykyperusteiden mukainen, voidaan käyttää myös muita tapoja, mikäli saavutetaan sama informaation taso ja laatu.

2.2.1 *Tavanomainen validointi*

Muuttujien laskenta tavanomaisilla menetelmillä vaatii useita erillisiä kokeita. Jokainen suorituskykyarvo on määritettävä kutakin merkittävää muutosta kohti (ks. 2.4 luku). Useita analyyttejä kattavissa menetelmissä voidaan analysoida useita aineita samanaikaisesti, kunhan mahdollisesti merkittävät häiriöt on suljettu pois. Useita suorituskykyarvoja voidaan määrittää samankaltaisella tavalla. Työmäärän vähentämiseksi onkin suositeltavaa yhdistellä kokeita niin paljon kuin mahdollista (esim. yhdistää toistettavuus ja laboratorion sisäinen uusittavuus spesifisyyteen tai yhdistää nollanäytteiden määritys varmistuksen päätösrajan määritystä varten spesifisyyden testaukseen).

2.2.1.1 Oikeellisuus sertifioidun vertailumateriaalin avulla

Määritysmenetelmän oikeellisuus on suositeltavinta määrittää sertifioidun vertailumateriaalin (CRM) avulla. Menetelmä on kuvattu standardissa ISO 5725-4:1994 ([2]).

Esimerkki:

1. Analysoidaan kuusi CRM:n rinnakkaisnäytettä testiohjeiden mukaisesti.
2. Määritetään analyytin pitoisuus kussakin rinnakkaisnäytteessä.
3. Lasketaan *kaikkien kuuden rinnakkaisnäytteen* keskiarvo, keskihajonta ja vaihtelukerroin (%).
4. Lasketaan oikeellisuus jakamalla tulokseksi saatu keskimääräinen pitoisuus sertifioidulla arvolla (mitattu pitoisuutena) ja kerrotaan tulos sadalla prosentuaalisen tuloksen saamiseksi.

Oikeellisuus (%) = (keskimääräinen saannon suhteen korjattu pitoisuus) × 100 / sertifioitu arvo

2.2.1.2 Oikeellisuus väkevöityjen näytteiden perusteella

Jos sertifioitua vertailumateriaalia ei ole saatavilla, menetelmän oikeellisuus on määritettävä kokeilla, joissa käytetään väkevöityä nollamatriisia, vähintään seuraavan suunnitelman mukaisesti:

1. Kun kyse on menetelmistä, jotka on validoitu tämän asetuksen voimaantulopäivästä alkaen, valitaan nollamateriaali ja väkevöidään se pitoisuuteen, joka vastaa
   a) 0,5 ([3])-, 1,0- ja 1,5-kertaisesti valvonnan toimenpiderajaa (RPA); tai
   b) 0,1 ([4])-, 1,0- ja 1,5-kertaisesti MRL:ää tai ML:ää, kun kyseessä ovat sallitut aineet; tai
   c) 1,0-, 2,0- ja 3,0-kertaisesti alinta kalibrointitasoa (LCL), kun kyseessä ovat muut kuin sallitut aineet (joille ei ole vahvistettu valvonnan toimenpiderajaa).
2. Määritys tehdään kullakin tasolla kuudelle rinnakkaisnäytteelle.
3. Näytteet analysoidaan.
4. Kunkin näytteen pitoisuus lasketaan.
5. Oikeellisuus lasketaan kunkin näytteen osalta seuraavalla yhtälöllä, minkä jälkeen lasketaan kuuden tuloksen oikeellisuuden keskiarvo ja vaihtelukerroin kullakin pitoisuustasolla.

Oikeellisuus (%) = (keskimääräinen saannon suhteen korjattu pitoisuus) × 100 / väkevöintitaso

Kun kyse on sallituille aineille käytettävistä menetelmistä, jotka on validoitu ennen tämän asetuksen soveltamispäivää, menetelmän oikeellisuuden määritykseen riittää, että käytetään kuutta osanäytettä, jotka on väkevöity pitoisuuksiin, jotka vastaavat MRL:ää tai ML:ää 0,5-, 1,0- ja 1,5-kertaisesti.

([2]) ISO 5725-4:2020, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 4: Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method (lauseke 3).

([3]) Jos muun kuin sallitun farmakologisesti vaikuttavan aineen kyseessä ollessa ei ole kohtuudella mahdollista validoida pitoisuutta, joka vastaa 0,5-kertaisesti valvonnan toimenpiderajaa (RPA), kyseinen pitoisuus voidaan korvata pienimmällä kohtuudella saavutettavissa olevalla pitoisuudella, joka vastaa 0,5–1,0-kertaisesti valvonnan toimenpiderajaa.

([4]) Jos yksittäisen farmakologisesti vaikuttavan aineen kyseessä ollessa ei ole kohtuudella mahdollista validoida pitoisuutta, joka vastaa 0,1-kertaisesti MRL:ää, kyseinen pitoisuus voidaan korvata pienimmällä kohtuudella saavutettavissa olevalla pitoisuudella, joka vastaa 0,1–0,5-kertaisesti MRL:ää.

2.2.1.3 Toistettavuus

1. Kun kyse on menetelmistä, jotka on validoitu tämän asetuksen voimaantulopäivästä alkaen, valmistetaan joukko näytteitä saman lajin identtisistä nollamatriiseista. Ne väkevöidään analyytillä siten, että saadaan pitoisuudet, jotka vastaavat

   a) 0,5 ([5])-, 1,0- ja 1,5-kertaisesti valvonnan toimenpiderajaa (RPA), tai

   b) 0,1- ([6]), 1,0- ja 1,5-kertaisesti MRL:ää tai ML:ää, kun kyseessä ovat sallitut aineet, tai

   c) 1,0-, 2,0- ja 3,0-kertaisesti alinta kalibrointitasoa (LCL), kun kyseessä ovat muut kuin sallitut aineet tai kielletyt aineet, jos mitään valvonnan toimenpiderajaa (RPA) ei voi soveltaa.

2. Määritys tehdään kullakin tasolla vähintään kuudelle rinnakkaisnäytteelle.

3. Näytteet analysoidaan.

4. Kunkin näytteen pitoisuus lasketaan.

5. Väkevöityjen näytteiden keskimääräinen pitoisuus, keskihajonta ja vaihtelukerroin (%) lasketaan.

6. Nämä vaiheet toistetaan ainakin kaksi muuta kertaa.

7. Lasketaan kaikkien väkevöityjen näytteiden keskimääräiset pitoisuudet, keskihajonnat (laskemalla yksittäisten tapausten keskihajonnan toisen potenssin keskiarvo ja ottamalla tästä neliöjuuri) sekä vaihtelukertoimet.

Kun kyse on sallituille aineille käytettävistä menetelmistä, jotka on validoitu ennen tämän asetuksen voimaantulopäivää, toistettavuuden määritykseen riittää matriisien väkevöiminen pitoisuuksiin, jotka vastaavat MRL:ää tai ML:ää 0,5-, 1,0- ja 1,5-kertaisesti.

Vaihtoehtoisesti toistettavuus voidaan laskea standardin ISO 5725-2:2019 ([7]) mukaisesti.

2.2.1.4 Laboratorion sisäinen uusittavuus

1. Kun kyseessä ovat validoinnit, jotka tehdään tämän asetuksen voimaantulopäivän jälkeen, määrätystä testimateriaalista (joiden matriisi on sama tai erilainen) valmistetaan joukko näytteitä, jotka on väkevöity analyytillä/analyyteillä niin, että pitoisuudet vastaavat

   a) 0,5[5]-, 1,0- ja 1,5-kertaisesti valvonnan toimenpiderajaa (RPA), tai

   b) 0,1-[6], 1,0- ja 1,5-kertaisesti MRL:ää tai ML:ää, kun kyseessä ovat sallitut aineet, tai

   c) 1,0-, 2,0- ja 3,0-kertaisesti alinta kalibrointitasoa (LCL), kun kyseessä ovat muut kuin sallitut aineet tai kielletyt aineet, jos mitään valvonnan toimenpiderajaa ei voi soveltaa.

2. Nollamateriaali väkevöidään ja kullakin pitoisuustasolla tehdään vähintään kuusi rinnakkaismääritystä.

3. Näytteet analysoidaan.

4. Kunkin näytteen pitoisuus lasketaan.

([5]) Jos muun kuin sallitun farmakologisesti vaikuttavan aineen kyseessä ollessa ei ole kohtuudella mahdollista validoida pitoisuutta, joka vastaa 0,5-kertaisesti valvonnan toimenpiderajaa (RPA), kyseinen pitoisuus voidaan korvata pienimmällä kohtuudella saavutettavissa olevalla pitoisuudella, joka vastaa 0,5–1,0-kertaisesti valvonnan toimenpiderajaa.

([6]) Jos yksittäisen farmakologisesti vaikuttavan aineen kyseessä ollessa ei ole kohtuudella mahdollista validoida pitoisuutta, joka vastaa 0,1-kertaisesti MRL:ää, kyseinen pitoisuus voidaan korvata pienimmällä kohtuudella saavutettavissa olevalla pitoisuudella, joka vastaa 0,1–0,5-kertaisesti MRL:ää.

([7]) ISO 5725-2:2019, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (lauseke 3).

5. Nämä vaiheet toistetaan ainakin kahdella muulla kerralla käyttäen eri nollamateriaalieriä sekä vaihdellen analyysin suorittajia ja mahdollisimman monia ympäristötekijöitä, kuten reagenssien eriä, liuottimia, huonelämpötilaa, laitteita tai muita parametreja.

6. Väkevöityjen näytteiden keskimääräinen pitoisuus, keskihajonta ja vaihtelukerroin (%) määritetään.

Kun kyse on sallituille aineille käytettävistä menetelmistä, jotka on validoitu ennen tämän asetuksen voimaantulopäivää, laboratorion sisäisen uusittavuuden määritykseen riittää matriisien väkevöiminen pitoisuuksiin, jotka vastaavat MRL:ää tai ML:ää 0,5-, 1,0- ja 1,5-kertaisesti.

Vaihtoehtoisesti laboratorion sisäinen uusittavuus / kohtalainen tarkkuus voidaan laskea myös standardien ISO 5725-2:2019 tai ISO 11843-1:1997 ([8]) tai Codex Alimentarius -ohjeiden CAC/GL 59–2006 ([9]) mukaisesti.

2.2.2 *Vaihtoehtoisten mallien mukainen validointi*

Muuttujien laskenta vaihtoehtoisilla menetelmillä vaatii koesuunnitelman toteuttamista. Koesuunnitelma määräytyy tutkittavien eläinlajien lukumäärän ja tutkittavien tekijöiden mukaan. Koko validointimenettelyn ensimmäisessä vaiheessa on otettava huomioon laboratoriossa tulevaisuudessa analysoitavat näytepopulaatiot, jotta voitaisiin määrittää tärkeimmät eläinlajit ja mittaustuloksiin mahdollisesti vaikuttavat tekijät. Faktorikokeeseen perustuvaa lähestymistapaa käytettäessä voidaan arvioida testitulosten mittausepävarmuutta, kun testitulokset on saatu yhdessä laboratoriossa vaihtelevissa testausolosuhteissa, jotka poikkeavat toisistaan esimerkiksi analysoijien, laitteiden, reagenssierien, matriisien, kuluneen analyysiajan ja analyysilämpötilan suhteen. Pitoisuusalue on tämän jälkeen valittava tarkoitusta vastaavasti sallittujen aineiden osalta MRL- tai ML-arvon perusteella ja kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen aineiden osalta valvonnan toimenpiderajan (RPA) tai alimman kalibrointitason (LCL) perusteella.

Faktoreihin perustuvassa lähestymistavassa tavoitteena on luotettavien täsmällisyyttä (toistotarkkuutta) koskevien tietojen ja mittaustulosten tuottaminen valittujen parametrien samanaikaisen hallitun muuntelun avulla. Sen avulla voidaan arvioida parametreista johtuvien ja satunnaisvaikutusten yhteisvaikutusta. Koeasetelman avulla voidaan tutkia myös määritysmenetelmän häiriönkestävyyttä ([10]) ja määrittää laboratorion sisäisen uusittavuuden keskihajonta eri matriisien välillä.

Seuraavassa annetaan esimerkki vaihtoehtoisesta menetelmästä, jossa käytetään ortogonaalista koeasetelmaa.

Tutkittavana voi olla enintään seitsemän parametria (kohinatekijää). Tutkimus on suunniteltu niin, että täsmällisyys (toistotarkkuus), oikeellisuus (väkevöityjen näytteiden perusteella), herkkyys, mittausepävarmuus ja kriittiset pitoisuudet voidaan määrittää samanaikaisesti koeasetelman toteuttamalla.

*Taulukko 6*

**Esimerkki ortogonaalisesta koeasetelmasta, jossa seitsemää parametria (I–VII) varioidaan kahdella tasolla (A/B) kahdeksan analyysisarjan validointitutkimuksessa (parametritasojen yhdistelmä)**

| Parametri | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Analyysisarja 01 | A | A | A | A | A | A | A |
| Analyysisarja 02 | A | A | B | A | B | B | B |
| Analyysisarja 03 | A | B | A | B | A | B | B |
| Analyysisarja 04 | A | B | B | B | B | A | A |

([8]) ISO 11843-1:1997, Capability of detection – Part 1: Terms and definitions.

([9]) Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, Guidelines on estimation of uncertainty of results (CAC/GL 59-2006).

([10]) Häiriönkestävyyden määritelmässä tarkoitetut koeolosuhteiden muutokset voivat koskea näytemateriaaleja, analyyttejä, säilytysolosuhteita sekä ympäristöolosuhteita ja/tai olosuhteita, joissa näytteet valmistetaan. Sellaiset koeolosuhteiden muutokset, jotka käytännössä voivat vaihdella (esimerkiksi reagenssien stabiilius, näytteen koostumus, pH, lämpötila) ja vaikuttaa määritystuloksiin, on ilmoitettava.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Analyysisarja 05 | B | A | A | B | B | A | B |
| Analyysisarja 06 | B | A | B | B | A | B | A |
| Analyysisarja 07 | B | B | A | A | B | B | A |
| Analyysisarja 08 | B | B | B | A | A | A | B |

Menetelmän ominaisarvot lasketaan teoksessa Jülicher ym. ([11]). kuvatulla tavalla.

2.2.3 *Muita validointitapoja*

Sen osoittamiseksi, että menetelmä täyttää suorituskykyarvoja koskevat suorituskykyperusteet, voidaan käyttää myös muita tapoja, mikäli saavutetaan sama informaation taso ja laatu. Validointi voidaan tehdä myös laboratorioidenvälisen tutkimuksen avulla, kuten Codex Alimentariuksen, ISOn ja IUPACin ([12]) vahvistamat laboratorioidenväliset tutkimukset. Mahdollisia ovat myös vaihtoehtoiset menetelmät, kuten yhden laboratorion tutkimus tai sisäinen validointi ([13]). Jos käytetään vaihtoehtoisia validointimenetelmiä, pohjana oleva malli ja strategia ja siihen liittyvät vaatimukset, oletukset ja kaavat on määriteltävä validointikuvauksessa tai niihin on vähintäänkin annettava viitteet.

2.3 **Selektiivisyys/Spesifisyys**

Kyky erottaa analyytti sitä läheisesti muistuttavista aineista on määritettävä mahdollisimman tarkoin. Homologien, isomeerien, hajoamistuotteiden, endogeenisten aineiden, analogien, kyseisen jäämän metaboliatuotteiden, matriisin ainesosien tai minkä tahansa muun mahdollisesti häiritsevän aineen aiheuttama häiriö on määriteltävä. Menetelmää on tarvittaessa muutettava tunnistettujen häiriötekijöiden välttämiseksi. Menetelmän spesifisyyden määrittämiseksi on käytettävä seuraavaa lähestymistapaa:

1. Valitaan joukko kemiallisesti toisiaan lähellä olevia yhdisteitä tai muita aineita, joita todennäköisesti esiintyy yhdessä tutkittavan yhdisteen kanssa ja joita voi olla näytteissä, ja todennetaan, voivatko ne häiritä kohdeanalyytin tai -analyyttien määritystä.

2. Analysoidaan sopiva määrä edustavia nollanäytteitä, jotka ovat peräisin esimerkiksi eri eristä tai eri eläinlajien muodostamista eristä ($n \geq 20$) ja etsitään häiritseviä signaaleja, piikkejä tai ioneja sillä alueella, jossa kohdeanalyytin oletetaan eluoituvan,

3. Edustavat nollanäytteet väkevöidään relevanttiin pitoisuuteen aineilla, jotka saattavat mahdollisesti häiritä analyytin tunnistusta ja/tai kvantifiointia, minkä jälkeen tutkitaan, voiko lisätty aine

   a) aiheuttaa väärän tunnistuksen,

   b) vaikeuttaa kohdeanalyytin tunnistusta,

   c) vaikuttaa kvantifiointiin huomattavasti.

2.4 **Häiriönkestävyys**

Testaamalla on varmistettava, että määritysmenetelmän suorituskyky säilyy erilaisissa koeolosuhteissa, joita ovat esimerkiksi erilaiset näytteenotto-olosuhteet sekä vähäiset muutokset, jollaisia rutiinitestauksessa voi ilmetä. Muutosten, joita koeolosuhteisiin tehdään menetelmän häiriönkestävyyden testaamiseksi, olisi oltava vähäisiä. Muutosten merkitys on arvioitava. Kukin suorituskykyarvo on määritettävä kaikkien niiden vähäisten muutosten osalta, joilla on osoitettu olevan merkittävä vaikutus määrityksen suorituskykyyn.

([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 **Stabiilius**

Kalibrointistandardin, matriisisovitetun standardin ja/tai matriisiväkevöityjen standardien sekä näytteessä olevan analyytin tai matriisin komponenttien stabiilius säilytyksen tai määrityksen aikana on määritettävä, sillä epästabiilius voi vaikuttaa testituloksiin.

Analyytin stabiilius on yleensä hyvin osoitettu eri säilytysoloissa. Tarvittavat tiedot voidaan saada standardien ja näytteiden säilytysolosuhteiden seuraamiseksi tehdyistä kokeista, joita tehdään osana laboratorion normaalia akkreditointi- ja laadunvalvontajärjestelmää. Jos tietoa matriisissa olevien analyyttien stabiiliudesta on saatavilla (esimerkiksi EU:n vertailulaboratorioista saatujen tietojen tai julkaistujen tietojen perusteella), näitä tietoja ei tarvitse määrittää kussakin laboratoriossa erikseen. Viittaus liuoksessa ja matriisissa olevien analyyttien saatavilla oleviin stabiiliustietoihin on kuitenkin hyväksyttävä vain, jos sovelletaan identtisiä olosuhteita.

Jos vaadittuja stabiiliustietoja ei ole saatavilla, on käytettävä seuraavia menetelmiä.

2.5.1 *Liuoksessa olevan analyytin stabiiliuden määrittäminen*

1. Valmistetaan analyytistä tuoreet kantaliuokset ja laimennetaan ne testiohjeissa esitetyllä tavalla, jotta saadaan riittävä määrä osanäytteitä (esim. 40) kutakin valittua pitoisuutta kohti. Näytteet valmistetaan seuraavista:

   a) väkevöinnissä käytetyt analyyttiliuokset;

   b) lopullisessa määrityksessä käytetyt analyyttiliuokset;

   c) mahdolliset muut tutkittavat liuokset (esim. johdosstandardit).

2. Mitataan analyyttipitoisuus juuri valmistetussa liuoksessa testiohjeiden mukaisesti.

3. Siirretään asianmukaiset määrät liuosta sopiviin astioihin, merkitään astiat ja säilytetään niitä taulukossa 7 esitetyissä valaistus- ja lämpötilaolosuhteissa. Säilytysaikaa valittaessa otetaan huomioon sovellettu analyysikäytäntö, mutta ihannetapauksessa säilytys jatkuu siihen asti, kun ensimmäiset hajoamisilmiöt ovat havaittavissa tunnistuksen ja/tai kvantifioinnin yhteydessä. Jos stabiiliustutkimuksen aikana ei havaita hajoamista, liuoksen enimmäissäilytysajan on oltava sama kuin säilytyksen keston stabiiliustutkimuksessa.

4. Lasketaan analyytin pitoisuus kussakin osanäytteessä verrattuna analyytin pitoisuuteen juuri valmistetussa liuoksessa seuraavan kaavan mukaisesti:

$$\text{Jäljellä oleva analyytti (\%)} = C_i \times 100/C_{tuore}$$

$C_i$ = pitoisuus hetkellä i

$C_{tuore}$ = tuoreen liuoksen pitoisuus

Viiden säilytetyn rinnakkaisliuoksen keskiarvo saa poiketa enintään 15 % viiden juuri valmistetun rinnakkaisliuoksen keskiarvosta. Prosentuaalinen ero lasketaan viiden juuri valmistetun liuoksen keskiarvon perusteella.

*Taulukko 7*

**Liuoksessa olevan analyytin stabiiliuden määrittäminen**

| | − 20 °C | + 4 °C | + 20 °C |
|---|---|---|---|
| Pimeässä | 10 osanäytettä | 10 osanäytettä | 10 osanäytettä |
| Valossa | | | 10 osanäytettä |

2.5.2 *Matriisissa olevan analyytin stabiiliuden määrittäminen*

1. Käytetään aitoja näytteitä aina kun mahdollista. Jos aitoa matriisia ei ole saatavilla, on käytettävä analyytillä väkevöityä nollamatriisia.

2. Jos aitoa matriisia on saatavilla, aineen pitoisuus matriisissa määritetään matriisin ollessa vielä tuoretta. Homogenoidusta aidosta matriisista otetut lisänäytteet säilytetään −20 °C:ssa tai tarvittaessa kylmemmässä, ja määritetään analyytin pitoisuudet niin kauan kuin näytettä on jäljellä laboratoriossa.

3. Jos aitoa matriisia ei ole käytettävissä, otetaan nollamatriisia ja homogenoidaan se. Matriisi jaetaan viiteen osanäytteeseen. Osanäytteet väkevöidään analyytillä, josta on mieluiten valmistettava liuos pieneen määrään vettä. Yksi osanäyte analysoidaan heti. Muita osanäytteitä säilytetään vähintään −20 °C:ssa tai tarvittaessa kylmemmässä, ja ne analysoidaan lyhyen, keskipitkän ja pitkän säilytysajan jälkeen. Tässä otetaan huomioon käytetyt määritysmenetelmät.

4. Kirjataan muistiin pisin hyväksyttävä säilytysaika ja ihanteelliset säilytysolosuhteet.

Viiden säilytetyn rinnakkaisliuoksen keskiarvo saa poiketa enintään menetelmän laboratorion sisäisen uusittavuuden verran viiden juuri valmistetun rinnakkaisliuoksen keskiarvosta. Prosentuaalinen ero lasketaan viiden juuri valmistetun liuoksen keskiarvon perusteella.

2.6 **Varmistuksen päätösraja (CCα)**

CCα-arvo on määritettävä varmistusmenetelmien osalta. CCα-arvo on vahvistettava tunnistusta tai sekä tunnistusta että kvantifiointia koskevien vaatimusten mukaisissa olosuhteissa siten kuin 1 luvussa ”Määritysmenetelmiä koskevat suorituskykyperusteet ja muut vaatimukset” on selostettu.

Näytteiden vaatimustenmukaisuuden valvonnassa yhdistetty mittauksen standardiepävarmuus on jo otettu huomioon CCα-arvossa (varmistuksen päätösraja).

1. Kielletyille tai muille kuin sallituille farmakologisesti vaikuttaville aineille CCα-arvo lasketaan seuraavasti:

   a) Menetelmä 1: Käytetään standardin ISO 11843-1:1997 ([14]) mukaista kalibrointikäyrämenetelmää (jota tässä kutsutaan nettotilamuuttujan kriittiseksi arvoksi). Tässä tapauksessa on käytettävä nollamateriaalia, joka väkevöidään siten, että pitoisuus on valvonnan toimenpiderajan (RPA) tai alimman kalibrointitason (LCL) kohdalla ja sen yläpuolella tasaisin välein. Näytteet analysoidaan. Tunnistuksen jälkeen piirretään kuvaaja, jossa mahdollisuuksien mukaan signaali tai uudelleen laskettu pitoisuus esitetään lisätyn pitoisuuden funktiona. Päätösraja on yhtä suuri kuin y-akselin leikkauspistettä vastaava pitoisuus plus 2,33 kertaa leikkauspistettä vastaavan laboratorion sisäisen uusittavuuden keskihajonta. Tätä menetelmää voidaan soveltaa vain kvantitatiivisiin analyyseihin. Tällä menetelmällä saadut päätösrajat on todennettava analysoimalla lasketulla päätösrajan pitoisuudella väkevöity nollamatriisi.

   b) Menetelmä 2: Analysoidaan vähintään 20 edustavaa nollamateriaalia matriisia kohti, jotta voitaisiin laskea signaali-kohinasuhde siinä aikaikkunassa, jossa tutkittavan aineen oletetaan esiintyvän. Päätösrajana voidaan käyttää signaali-kohinasuhdetta kerrottuna kolmella. Tätä menetelmää voidaan soveltaa sekä kvantitatiivisiin että kvalitatiivisiin analyyseihin. Tällä menetelmällä saadut päätösrajat on todennettava analysoimalla lasketulla päätösrajan pitoisuudella väkevöity nollamatriisi.

   c) Menetelmä 3: CCα = LCL + k(yksisuuntainen, 99 %) × (yhdistetty) mittauksen standardiepävarmuus alimman kalibrointitason kohdalla

      Kielletyille tai muille kuin sallituille farmakologisesti vaikuttaville aineille validointimenettelystä (ja sen vapausasteesta) riippuen voidaan soveltaa t-jakaumaa, tai – jos perustaksi otetaan Gaussin jakauma (yksisuuntainen, n=∞) – käytetään k-kerrointa 2,33.

      Laboratorion sisäinen uusittavuus ja oikeellisuus soveltuvat (yhdistetyn) mittauksen standardiepävarmuuden määrittämiseen, jos niiden valinnassa otetaan huomioon kaikki merkitykselliset vaikuttavat tekijät.

   Menetelmää 2 voidaan käyttää CCα-arvon laskemisessa vain 1. tammikuuta 2026 asti sellaisille menetelmille, jotka on validoitu ennen tämän asetuksen voimaantulopäivää. Tämän asetuksen voimaantulon jälkeen validoiduille menetelmille voidaan käyttää vain menetelmää 1 tai 3.

([14]) ISO 11843-1:1997, Capability of detection – Part 1: Terms and definitions.

2. Sallituille aineille CCα-arvo lasketaan seuraavasti:

a) Jos kyseessä ovat matriisi- ja eläinlajiyhdistelmät, joille on vahvistettu sallittujen aineiden MRL- tai ML-arvot:

i) Menetelmä 1: Käytetään standardin ISO 11843-1:1997 mukaista kalibrointikäyrämenetelmää (jota tässä kutsutaan nettotilamuuttujan kriittiseksi arvoksi). Tässä tapauksessa on käytettävä nollamateriaalia, joka väkevöidään siten, että pitoisuus on MRL- tai ML-arvon kohdalla ja sen yläpuolella tasaisin välein. Näytteet analysoidaan. Tunnistuksen jälkeen piirretään kuvaaja, jossa mahdollisuuksien mukaan signaali tai uudelleen laskettu pitoisuus esitetään lisätyn pitoisuuden funktiona. Päätösraja (α = 5 %) on yhtä suuri kuin pitoisuus MRL- tai ML-arvon kohdalla plus 1,64 kertaa vastaavan laboratorion sisäisen uusittavuuden keskihajonta sallitun rajan kohdalla.

ii) Menetelmä 2: CCα = MRL (tai ML) + k(yksisuuntainen, 95 %) × (yhdistetty) mittauksen standardiepävarmuus MRL- tai ML-arvon kohdalla.

Sallituille aineille validointimenettelystä (ja sen vapausasteesta) riippuen voidaan soveltaa t-jakaumaa, tai – jos perustaksi otetaan Gaussin jakauma (yksisuuntainen, n=∞) – käytetään k-kerrointa 1,64.

Laboratorion sisäinen uusittavuus ja oikeellisuus soveltuvat (yhdistetyn) mittauksen standardiepävarmuuden määrittämiseen, jos niiden valinnassa otetaan huomioon kaikki merkitykselliset vaikuttavat tekijät.

Niiden farmakologisesti vaikuttavien aineiden osalta, joille on vahvistettu MRL-arvo eri aineiden yhteenlasketulle määrälle, mitatussa näytteessä olevien aineiden yhteenlasketun määrän arvioinnissa tarvittavana CCα-arvona käytetään sen aineen CCα-arvoa, jonka pitoisuus näytteessä on suurin.

b) Jos kyseessä ovat matriisi- ja eläinlajiyhdistelmät, joille ei ole vahvistettu sallittujen aineiden MRL-arvoa, jäämiä ei saa olla, paitsi jos eläintä on hoidettu direktiivin 2001/82/EY 11 artiklan mukaisesti. Jos kyseessä ovat sallitut aineet, joille ei ole vahvistettu MRL-arvoa, CCα-arvon laskemiseen käytetään komission täytäntöönpanoasetuksen (EU) 2018/470 ([15]) mukaisesti vahvistettua kaskadiperiaatteen mukaista MRL-arvoa. Tässä tapauksessa sovelletaan edellisen kohdan menetelmää 1 tai 2, mutta ”MRL” luetaan ”0,5 kertaa kaskadiperiaatteen mukainen MRL-arvo, tavoitteena 0,1 kertaa kaskadiperiaatteen mukainen MRL-arvo, jos se on kohtuudella mahdollista saavuttaa”.

2.7 **Seulonnan havaitsemisraja (CCβ)**

CCβ-arvo on määritettävä seulontamenetelmien osalta. CCβ-arvo on vahvistettava siten kuin tämän liitteen 1 luvussa ”Määritysmenetelmiä koskevat suorituskykyperusteet ja muut vaatimukset” on selostettu ja taulukossa 5 esitettyjen vaatimusten mukaisesti. Seulontamenetelmiin ei kuitenkaan tarvitse soveltaa kaikkia tunnistusta koskevia vaatimuksia (ks. 1.2.3, 1.2.4 ja 1.2.5 luku).

1. Kiellettyjen tai muiden kuin sallittujen farmakologisesti vaikuttavien aineiden osalta on varmistettava, että β-virhe on enintään 5 %. CCβ-arvo lasketaan seuraavasti:

a) Menetelmä 1: Käytetään standardin ISO 11843-1:1997 mukaista kalibrointikäyrämenetelmää (jota tässä kutsutaan nettotilamuuttujan pienimmäksi havaittavaksi arvoksi). Tässä tapauksessa on käytettävä edustavaa nollamateriaalia, joka väkevöidään siten, että pitoisuus on valvonnan toimenpiderajan kohdalla ja sen alapuolella, tai jos valvonnan toimenpiderajaa (RPA) ei ole vahvistettu, seulonnan tavoitepitoisuuden (STC) ympärillä tasaisin välein. Näytteet analysoidaan. Tämän jälkeen piirretään kuvaaja, jossa esitetään signaali lisätyn pitoisuuden funktiona. Detektiokyky on yhtä suuri kuin seulonnan tavoitepitoisuutta vastaava pitoisuus plus 1,64 kertaa seulonnan tavoitepitoisuutta vastaavan keskimääräisen mitatun pitoisuuden laboratorion sisäisen uusittavuuden keskihajonta. Huomattavasti alimman väkevöintitason alapuolelle (alle 50 %:iin alimmasta väkevöimismäärästä) ulottuva ekstrapolointi on vahvistettava kokeellisilla tiedoilla validointivaiheessa.

b) Menetelmä 2: Seulonnan tavoitepitoisuutta vastaaviin ja sen yläpuolella oleviin pitoisuuksiin väkevöidyn nollamateriaalin tutkiminen. Kunkin pitoisuuden osalta analysoidaan 20 väkevöityä nollanäytettä, jotta määritys voidaan tehdä luotettavalta pohjalta. Menetelmän detektiokyky on yhtä suuri kuin se pitoisuus, jolla esiintyy enää enintään 5 % vääriä vaatimustenmukaisia tuloksia.

c) Menetelmä 3: CCβ = STC + k(yksisuuntainen, 95 %) × (yhdistetty) mittauksen standardiepävarmuus seulonnan tavoitepitoisuuden kohdalla tai sen yläpuolella.

([15]) Komission täytäntöönpanoasetus (EU) 2018/470, annettu 21 päivänä maaliskuuta 2018, sellaisia jäämien enimmäismääriä koskevista yksityiskohtaisista säännöistä, jotka on otettava huomioon direktiivin 2001/82/EY 11 artiklan nojalla EU:ssa hoidetuista eläimistä saatujen elintarvikkeiden valvontaa varten (EUVL L 79, 22.3.2018, s. 16).

Kielletyille tai muille kuin sallituille farmakologisesti vaikuttaville aineille validointikokeesta (ja sen vapausasteesta) riippuen voidaan soveltaa t-jakaumaa, tai – jos perustaksi otetaan Gaussin jakauma (yksisuuntainen, n=∞) – käytetään k-kerrointa 1,64.

Laboratorion sisäinen uusittavuus ja oikeellisuus soveltuvat (yhdistetyn) mittauksen standardiepävarmuuden määrittämiseen, jos niiden valinnassa otetaan huomioon kaikki merkitykselliset vaikuttavat tekijät.

2. Sallittujen aineiden osalta on varmistettava, että β-virhe on enintään 5 %. CCβ-arvo lasketaan seuraavasti:

a) Menetelmä 1: Käytetään standardin ISO 11843-1:1997 mukaista kalibrointikäyrämenetelmää (jota tässä kutsutaan nettotilamuuttujan pienimmäksi havaittavaksi arvoksi). Tässä tapauksessa on käytettävä edustavaa nollamateriaalia, joka väkevöidään sallitun rajan kohdalle ja sen alapuolelle tasaisin välein, alkaen seulonnan tavoitepitoisuudesta. Analysoidaan näytteet ja tunnistetaan analyytit. Lasketaan keskimääräisen mitatun pitoisuuden keskihajonta seulonnan tavoitepitoisuuden kohdalla.

Detektiokyky on yhtä suuri kuin seulonnan tavoitepitoisuutta vastaava pitoisuus plus 1,64 kertaa seulonnan tavoitepitoisuutta vastaavan keskimääräisen mitatun pitoisuuden laboratorion sisäisen uusittavuuden keskihajonta.

b) Menetelmä 2: Sallitun rajan alapuolella oleviin pitoisuustasoihin väkevöidyn nollamateriaalin tutkiminen. Kunkin pitoisuuden osalta analysoidaan 20 väkevöityä nollamatriisia, jotta määritys voidaan tehdä luotettavalta pohjalta. Menetelmän detektiokyky on yhtä suuri kuin se pitoisuus, jolla esiintyy enää enintään 5 % vääriä vaatimustenmukaisia tuloksia.

c) Menetelmä 3: CCβ = STC + k(yksisuuntainen, 95 %) × (yhdistetty) mittauksen standardiepävarmuus seulonnan tavoitepitoisuuden kohdalla tai sen yläpuolella.

Sallituille aineille validointimenettelystä (ja sen vapausasteesta) riippuen voidaan soveltaa t-jakaumaa, tai – jos perustaksi otetaan Gaussin jakauma (yksisuuntainen, n=∞) – käytetään k-kerrointa 1,64 (riippumatta siitä, käytetäänkö kaskadikäytön vai tavanomaisen käytön MRL-arvoa).

Laboratorion sisäinen uusittavuus ja oikeellisuus soveltuvat (yhdistetyn) mittauksen standardiepävarmuuden määrittämiseen, jos niiden valinnassa otetaan huomioon kaikki merkitykselliset vaikuttavat tekijät.

Niiden farmakologisesti vaikuttavien aineiden osalta, joille on vahvistettu MRL-arvo eri aineiden summana, käytetään näytteessä olevien aineiden summan määrittämiseen sen aineen CCβ-arvoa, jonka pitoisuus näytteessä on suurin.

## 2.8 **Kalibrointikäyrät**

Kun kvantifiointiin käytetään kalibrointikäyriä:

1) käyrän muodostamiseen olisi käytettävä vähintään viittä mieluiten tasaisin välein sijaitsevaa tasoa (nollataso mukaan lukien),

2) käyrän toiminta-alue on kuvattava,

3) käyrän matemaattinen kaava ja datapisteiden yhteensopivuus (selitysaste $R^2$) on kuvattava,

4) käyrän muuttujien hyväksymisrajat on kuvattava.

Standardiliuokseen, matriisisovitettuihin standardeihin tai matriisiväkevöityihin standardeihin perustuvia kalibrointikäyriä muodostettaessa kalibrointikäyrän muuttujille on esitettävä hyväksymisrajat, jotka voivat vaihdella sarjojen välillä.

## 2.9 **Absoluuttinen saanto**

Menetelmän absoluuttinen saanto on määritettävä silloin, kun ei käytetä sisäistä standardia tai kalibrointia ei tehdä matriisiväkevöidyillä standardeilla.

Jos taulukossa 1 esitetyt oikeellisuutta koskevat edellytykset täyttyvät, voidaan käyttää määrättyä korjauskerrointa. Muussa tapauksessa on käytettävä kyseisen näyte-erän omaa saantoa. Saantokorjauskertoimen sijasta voidaan vaihtoehtoisesti käyttää standardilisäysmenettelyä ([16]) tai sisäistä standardia.

Absoluuttinen saanto on laskettava vähintään kuudelle edustavalle matriisierälle.

Nollamatriisista valmistettu osanäyte väkevöidään analyytillä ennen uuttoa ja toinen nollamatriisista valmistettu osanäyte väkevöidään näytteen valmistuksen jälkeen sopivaan pitoisuuteen, ja analyytin pitoisuus määritetään.

Saanto lasketaan seuraavasti:

Saanto (analyytti) = (*pinta-ala* matriisiväkevöity standardi) / (*pinta-ala* matriisisovitettu standardi) × 100

2.10 **Suhteellinen matriisivaikutus**

Suhteellinen matriisivaikutus on määritettävä kaikissa tapauksissa. Tämä voidaan tehdä joko validoinnin yhteydessä tai erillisissä kokeissa. Suhteellinen matriisivaikutus on laskettava vähintään 20 erilaiselle nollanäyte-erälle (matriisi-/lajiyhdistelmä) menetelmän soveltamisalan, esimerkiksi tutkittavien lajien, mukaisesti.

Nollamatriisi väkevöidään uuton jälkeen analyytillä valvonnan toimenpiderajan (RPA) tai MRL- tai ML-arvon tasolle, ja se olisi analysoitava yhdessä puhtaan analyyttiliuoksen kanssa.

Suhteellinen matriisivaikutus tai matriisikerroin (MF) lasketaan seuraavasti:

$$\text{MF (standardi)} = \frac{\text{MMS:n piikin pinta–ala (standardi)}}{\text{liuoksen piikin pinta–ala (standardi)}}$$

$$\text{MF (IS)} = \frac{\text{MMS:n piikin pinta–ala (IS)}}{\text{liuoksen piikin pinta–ala (IS)}}$$

$$\text{MF (IS:n suhteen normalisoitu standardi)} = \frac{\text{MF (standardi)}}{\text{MF (IS)}}$$

IS: sisäinen standardi

MMS: matriisisovitettu standardi

Matriisikertoimen vaihtelukerroin saa olla enintään 20 % (sisäisen standardin suhteen normalisoitu standardi).

3 LUKU

**LAADUNVALVONTA RUTIINIANALYYSEISSÄ – MENETELMÄN SUORITUSKYVYN JATKUVA TODENTAMINEN**

Standardin ISO/IEC 17025:2017 ([17]) luvussa 7.7 esitettyjä määritystulosten laadun varmistamista koskevia vaatimuksia on noudatettava.

Rutiinianalyysissä suositeltavin vaihtoehto menetelmän suorituskykyä koskevan näytön saamiseksi on sertifioitujen vertailumateriaalien analysointi. Sertifioituja vertailumateriaaleja, jotka sisältävät sopivia analyyttejä vaadittuina pitoisuuksina, on kuitenkin harvoin saatavilla. Sen vuoksi vaihtoehtona voidaan käyttää myös vertailumateriaaleja, jotka on toimittanut ja karakterisoinut jokin EU:n vertailulaboratorio tai laboratorio, jolla on standardin ISO/IEC 17043:2010 ([18]) mukainen akkreditointi. Toisena vaihtoehtona on säännöllisesti tarkastettujen laboratorion sisäisten vertailumateriaalien käyttäminen.

Menetelmän suorituskyvyn jatkuvaa todentamista rutiinianalyysin aikana olisi tehtävä seulontavaiheessa ja varmistusvaiheessa.

([16]) Lisätyn standardianalyytin määrä voi olla esimerkiksi kahdesta viiteen kertaa niin suuri kuin näytteen sisältämän analyytin arvioitu määrä. Tämä menettely on suunniteltu analyytin pitoisuuden määrittämiseksi näytteestä ottaen huomioon määritysmenetelmän saanto.

([17]) ISO/IEC 17025: 2017, Testaus- ja kalibrointilaboratorioiden pätevyys. Yleiset vaatimukset (Luku 7.7).

([18]) ISO/IEC 17043:2010, Conformity assessment – General requirements for proficiency testing.

1. Seulontavaihe:

   Jokaisessa tehdyssä määrityssarjassa (erässä) on analysoitava samanaikaisesti seuraavat laadunvalvontanäytteet:

   a) valvontanäyte, jolla tutkitaan laitteiston toimintakykyä, mieluiten menetelmäkohtainen;

   b) laadunvalvontanäytteet, jotka väkevöidään lähelle seulonnan tavoitepitoisuutta, mieluiten seulonnan CCβ-arvoon, kun on kyse sallituista farmakologisesti vaikuttavista aineista sekä kielletyistä tai muista kuin sallituista aineista:

   c) vaatimustenmukainen valvontanäyte (nollanäytteet) ja tarvittaessa reagenssinolla.

2. Varmistusvaihe:

   Jokaisessa tehdyssä määrityssarjassa (erässä) on analysoitava samanaikaisesti seuraavat laadunvalvontanäytteet:

   a) valvontanäyte, jolla tutkitaan laitteiston toimintakykyä, mieluiten menetelmäkohtainen;

   b) laadunvalvontanäytteet, jotka väkevöidään lähelle MRL- tai ML-arvoa, kun kyseessä ovat sallitut farmakologisesti vaikuttavat aineet, tai lähelle valvonnan toimenpiderajaa (RPA) tai alinta kalibrointitasoa (LCL), kun kyseessä ovat kielletyt tai muut kuin sallitut aineet (vaatimustenvastaiset valvontanäytteet);

   c) vaatimustenmukainen valvontanäyte (nollanäytteet) ja tarvittaessa reagenssinolla.

Laadunvalvontanäytteille suositellaan seuraavaa järjestystä: valvontanäyte, jolla tutkitaan laitteiston toimintakykyä, vaatimustenmukainen valvontanäyte, varmistettavat näytteet, vaatimustenmukainen valvontanäyte uudelleen ja lopuksi väkevöity laadunvalvontanäyte (vaatimustenvastaiset valvontanäytteet).

Kun käytetään kvantitatiivisia menetelmiä, jokaisen virallisten näytteiden sarjan osalta on määritettävä ja mitattava kalibrointikäyrä ennen tai jälkeen edellä lueteltuja näytteitä.

Kaikkien vaatimustenvastaisissa valvontanäytteissä olevien kohdeanalyyttien oikeellisuus (väkevöityjen näytteiden perusteella) on mahdollisuuksien mukaan arvioitava käyttämällä laadunvalvontakortteja standardin ISO/IEC 17025:2017 luvun 7.7 mukaisesti. Jos tähän tarvitaan suhteettoman suuri määrä oikeellisuusmäärityksiä, analyyttien määrä voidaan vähentää edustaviin analyytteihin.

## 4 LUKU

## AIEMMIN VALIDOIDUN MENETELMÄN VALIDOINNIN SOVELTAMISALAN LAAJENTAMINEN

Toisinaan on tarpeen laajentaa aiemmin kattavasti validoidun menetelmän soveltamisalaa. Soveltamisalan laajentaminen olisi silloin tehtävä tehokkaasti ja analyyttisesti pätevällä tavalla. Se voidaan toteuttaa validoimalla pienempi määrä näytteitä (esimerkiksi puolet) verrattuna täyteen validointiin.

Yksittäisessä suppeassa validoinnissa validoitavien muutosten tyypin ja lukumäärän on kuitenkin aina perustuttava asiantuntijatietoon ja aiempiin kokemuksiin. Esimerkiksi detektiotekniikan muutos edellyttäisi joka tapauksessa täyttä validointia.

Menetelmän jatkuvan validiuden varmistamiseksi sen suorituskykyä on seurattava jatkuvasti ja verrattava alun perin saatuihin validointiparametreihin. Tämä menetelmän suorituskyvyn jatkuva valvonta olisi suunniteltava mieluiten siten, että täydestä validoinnista puuttuvat tiedot voidaan kerätä ajan mittaan (esimerkiksi kuhunkin analyysisarjaan sisältyvistä laadunvalvontanäytteistä saatavista muutamasta datapisteestä).

### 4.1 **Menetelmien soveltamisalan laajentaminen pitoisuusalueen osalta**

MRL- ja ML-arvoissa tai valvonnan toimenpiderajoissa (RPA) tapahtuvien muutosten vuoksi voi olla tarpeen mukauttaa pitoisuusaluetta, jolle menetelmä on validoitu. Silloin on hyväksyttävää käyttää supistettua validointia.

Mukautettua aluetta vastaavat kalibrointikäyrät olisi laadittava validoidun menettelyn mukaisesti. Määritys olisi tehtävä eri pitoisuustasoille väkevöidyille erille (ks. 2.2.1 ja 2.2.2 luku). Oikeellisuuden, toistettavuuden ja laboratorion sisäisen uusittavuuden / kohtalaisen tarkkuuden olisi oltava hyväksyttävän vaihteluvälin sisällä alun perin validoituun menetelmään verrattuna. Tarvittaessa olisi laskettava uudelleen CCβ-arvo (seulontamenetelmät) ja CCα-arvo (varmistusmenetelmät).

4.2 **Menetelmien soveltamisalan laajentaminen uusien aineiden osalta**

Menetelmän soveltamisalan laajentaminen muihin yhdisteisiin on yleisesti mahdollista vain sellaisten analyyttien osalta, jotka ovat rakenteeltaan ja ominaisuuksiltaan samanlaisia verrattuna määritysmenetelmään jo sisältyviin analyytteihin. Silloin on hyväksyttävää käyttää supistettua validointia. Menetelmän kuvauksesta ei myöskään saa poiketa.

Uusien aineiden kalibrointikäyrät olisi laadittava validoidun menettelyn mukaisesti. Määritys olisi tehtävä eri pitoisuustasoille väkevöidyille matriisierille (ks. 2.2.1 ja 2.2.2 luku). Oikeellisuuden, toistettavuuden ja laboratorion sisäisen uusittavuuden / kohtalaisen tarkkuuden olisi oltava vastaavan vaihteluvälin sisällä alun perin validoidun menetelmän muihin analyytteihin verrattuna sekä 1.2.2 luvun vaatimusten mukaisia. Uusien analyyttien osalta on laskettava CCβ-arvo (seurantamenetelmät) ja CCα-arvo (varmistusmenetelmät).

4.3 **Menetelmien soveltamisalan laajentaminen matriisien/lajien osalta**

Uusien matriisien tai lajien sisällyttämisestä aiemmin validoituun määritysmenetelmään on aina päätettävä tapauskohtaisesti menetelmästä siihen mennessä kerätyn tietämyksen ja kokemusten sekä mahdollisia matriisivaikutuksia ja häiritseviä tekijöitä kartoittavien alustavien kokeiden perusteella. Tämä on yleensä mahdollista vain matriiseille, joilla on samanlaisia ominaisuuksia, sekä muille kuin kriittisille analyyteille (stabiilius, havaittavuus).

Kalibrointikäyrät (standardille tai matriisille) olisi laadittava validoidun menettelyn mukaisesti. Määritys olisi tehtävä eri pitoisuustasoille väkevöidyille matriisierille (ks. 2.2.1 ja 2.2.2 luvut). Oikeellisuuden, toistettavuuden ja laboratorion sisäisen uusittavuuden / kohtalaisen tarkkuuden olisi oltava hyväksyttävän vaihteluvälin sisällä alun perin validoituun menetelmään verrattuna sekä 1.2.2 luvun vaatimusten mukaisia. CCβ-arvo (seurantamenetelmät) tai CCα-arvo (varmistusmenetelmät) saatetaan validointitavasta riippuen joutua laskemaan uudelleen.

Elleivät tulokset ole hyväksyttävän vaihteluvälin sisällä alkuperäisen matriisin arvoihin verrattuna, on tehtävä uusi täysi validointi matriisi-/lajiyhdistelmäkohtaisten suorituskykyparametrien määrittämiseksi.

Jos yksittäisen aineen MRL-arvot eroavat tiettyjen matriisien osalta, menetelmän soveltamisalaa on todennäköisesti vaikea mukauttaa uusiin matriisi-/lajiyhdistelmiin ja pitoisuuksiin, sillä silloin huomioon on otettava kaksi muutosta. Tällöin suositellaan täyttä validointia.

*LIITE II*

## NÄYTTEENOTTOMENETTELYT JA VIRALLINEN NÄYTTEIDEN KÄSITTELY

1. **Näytteen määrä**

Näytteiden pienin mahdollinen määrä on määriteltävä kansallisessa jäämien valvontaohjelmassa. Näytteiden pienimmän mahdollisen määrän on oltava niin suuri, että hyväksytyt laboratoriot kykenevät suorittamaan seulonta- ja varmistustutkimusten lisäksi tarvittavat analyysit. Erityisesti siipikarjan, vesiviljelyn, kanien, tarhatun riistan, matelijoiden ja hyönteisten kohdalla näyte koostuu yhdestä tai useammasta eläimestä määritysmenetelmien vaatimusten mukaan. Munien kohdalla näytteen koon on oltava vähintään 12 munaa tai enemmän käytettävien määritysmenetelmien mukaan. Kun yhdestä näytteestä on tarpeen analysoida useita aineluokkia erilaisilla määritysmenetelmillä, näytteen kokoa on suurennettava vastaavasti.

2. **Jako osanäytteisiin**

Jokainen näyte on jaettava vähintään kahdeksi samanlaiseksi osanäytteeksi, jotka analysoidaan täysin samojen analyyttisten menettelyjen mukaisesti, paitsi jos se on teknisesti mahdotonta tai sitä ei edellytetä kansallisessa lainsäädännössä. Jako osanäytteisiin voidaan tehdä näytteenottopaikassa tai laboratoriossa.

3. **Jäljitettävyys**

Jokainen näyte on otettava sellaisella tavalla, että on mahdollista aina jäljittää se alkuperätilalle ja eläinryhmään tai yksittäiseen eläimeen tarpeen mukaan. Erityisesti maidosta otettavat näytteet voidaan ottaa jäsenvaltion valinnan mukaan jommassakummassa seuraavista paikoista:

1. maatilalla tilasäiliöstä;
2. meijerissä ennen maidon purkamista.

4. **Näytteiden säilytysastiat**

Näytteet on kerättävä sopiviin astioihin, joissa ne säilyvät koskemattomina ja jäljitettävinä. Astioiden on oltava ennen kaikkea sellaiset, että korvautuminen, ristiinsaastuminen ja hajoaminen estyvät. Astiat on sinetöitävä virallisesti.

5. **Näytteenottokertomus**

Jokaisen näytteenottomenettelyn jälkeen on laadittava kertomus.

Tarkastajan on merkittävä näytteenottokertomukseen ainakin seuraavat tiedot:

1. toimivaltaisten viranomaisten osoite;
2. tarkastajan nimi tai tunnistekoodi;
3. näytteen virallinen koodinumero;
4. näytteenoton päivämäärä;
5. eläinten tai eläintuotteiden omistajan tai niistä vastuussa olevan henkilön nimi ja osoite;
6. eläimen alkuperätilan nimi ja osoite (jos näyte on otettu tilalla);
7. laitoksen rekisteröintinumero/teurastamon numero;
8. eläimen tai tuotteen tunniste;
9. eläinlaji;
10. näytematriisi;
11. tapauksen mukaan lääkitys näytteenottoa edeltäneiden neljän viikon ajalta (jos näyte on otettu tilalla);
12. tutkittava aine tai aineryhmä;
13. erityishuomiot.

Kertomuksesta on otettava paperisia tai sähköisiä jäljennöksiä näytteenottomenettelyn mukaan. Näytteenottokertomus ja sen jäljennökset on täytettävä tavalla, jolla varmistetaan niiden aitous ja oikeudellinen pätevyys, mikä voi edellyttää sitä, että tarkastaja allekirjoittaa kyseiset asiakirjat. Jos näyte otetaan tilalla, saatetaan alkuperäiseen näytteenottokertomukseen pyytää viljelijän tai hänen edustajansa allekirjoitus.

Alkuperäinen näytteenottokertomus jää toimivaltaiselle viranomaiselle, jonka on varmistettava, että tämä alkuperäinen kertomus ei ole asiattomien henkilöiden saatavilla.

Viljelijälle tai laitoksen omistajalle voidaan ilmoittaa suoritetusta näytteenotosta, jos se on tarpeen.

6. **Näytteenottokertomus laboratoriota varten**

Toimivaltaisten viranomaisten perustamaa laboratoriota varten tarkoitetun näytteenottokertomuksen on oltava standardin ISO/IEC 17025:2017 ([1]) luvun 7 vaatimusten mukainen, ja sen on sisällettävä vähintään seuraavat tiedot:

1. toimivaltaisten viranomaisten tai nimettyjen elinten osoite;
2. tarkastajan nimi tai tunnistekoodi;
3. näytteen virallinen koodinumero;
4. näytteenoton päivämäärä;
5. eläinlaji;
6. näytematriisi;
7. tutkittavat aineet tai aineryhmät;
8. erityishuomiot.

Näytteenottokertomus laboratoriota varten on liitettävä näytteeseen, kun se lähetetään laboratorioon.

7. **Kuljetus ja varastointi**

Jäämien valvontaohjelmissa on tarkennettava sopivat varastointi- ja kuljetusehdot jokaista analyytti-matriisiyhdistelmää varten, jotta varmistetaan analyytin stabiilius ja näytteen eheys. Kuljetusajan on oltava mahdollisimman lyhyt, ja lämpötilan on kuljetuksen aikana oltava asianmukainen, jotta varmistetaan analyytin stabiilius.

Erityistä huomiota on kiinnitettävä kuljetuslaatikoihin, lämpötilaan ja aikaan, joka kuluu näytteen toimittamiseen vastuussa olevalle laboratoriolle.

Jos valvontaohjelmassa esitetyt vaatimukset jäävät täyttymättä, on laboratorion ilmoitettava siitä toimivaltaiselle viranomaiselle viipymättä.

([1]) ISO/IEC 17025: 2017, Testaus- ja kalibrointilaboratorioiden pätevyys. Yleiset vaatimukset (Luku 7.7).