KOMISIJOS ĮGYVENDINIMO REGLAMENTAS (ES) 2021/808

2021 m. kovo 22 d.

dėl maistiniams gyvūnams skiriamų farmakologiškai aktyvių medžiagų liekanų analizės metodų veiksmingumo bei rezultatų aiškinimo ir dėl mėginių ėmimo metodų, kuriuo panaikinami sprendimai 2002/657/EB ir 98/179/EB

(Tekstas svarbus EEE)

EUROPOS KOMISIJA,

atsižvelgdama į Sutartį dėl Europos Sąjungos veikimo,

atsižvelgdama į 2017 m. kovo 15 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentą (ES) 2017/625 dėl oficialios kontrolės ir kitos oficialios veiklos, kuri vykdoma siekiant užtikrinti maisto ir pašarų srities teisės aktų bei gyvūnų sveikatos ir gerovės, augalų sveikatos ir augalų apsaugos produktų taisyklių taikymą, kuriuo iš dalies keičiami Europos Parlamento ir Tarybos reglamentai (EB) Nr. 999/2001, (EB) Nr. 396/2005, (EB) Nr. 1069/2009, (EB) Nr. 1107/2009, (ES) Nr. 1151/2012, (ES) Nr. 652/2014, (ES) 2016/429 ir (ES) 2016/2031, Tarybos reglamentai (EB) Nr. 1/2005 ir (EB) Nr. 1099/2009 bei Tarybos direktyvos 98/58/EB, 1999/74/EB, 2007/43/EB, 2008/119/EB ir 2008/120/EB, ir kuriuo panaikinami Europos Parlamento ir Tarybos reglamentai (EB) Nr. 854/2004 ir (EB) Nr. 882/2004, Tarybos direktyvos 89/608/EEB, 89/662/EEB, 90/425/EEB, 91/496/EEB, 96/23/EB, 96/93/EB ir 97/78/EB bei Tarybos sprendimas 92/438/EEB (Oficialios kontrolės reglamentas) ([1]), ypač į jo 34 straipsnio 6 dalį,

kadangi:

(1) Reglamentu (ES) 2017/625 nustatytos oficialios kontrolės ir kitos oficialios veiklos, kurią valstybių narių kompetentingos institucijos vykdo siekdamos patikrinti, ar laikomasi Sąjungos teisės aktų, *inter alia*, maisto saugos srityje visais gamybos, perdirbimo ir platinimo etapais, taisyklės. Jame nustatytos konkrečios medžiagų, dėl kurių naudojimo gali atsirasti liekanų maiste ir pašaruose, oficialios kontrolės taisyklės, taip pat nustatomi bendrieji mėginių ėmimo, laboratorinių analizių ir tyrimų vykdant oficialią kontrolę ir kitą oficialią veiklą metodų reikalavimai;

(2) Komisijos sprendime 2002/657/EB ([2]) nustatyti analizės metodų veiksmingumo ir tam tikrų medžiagų bei jų liekanų gyvų gyvūnų organizmuose ir gyvūninės kilmės produktuose analizės rezultatų aiškinimo reikalavimai, o Komisijos sprendime 98/179/EB ([3]) nustatytos išsamios mėginių, skirtų tam tikrų medžiagų ir jų liekanų gyvų gyvūnų organizmuose ir gyvūninės kilmės produktuose monitoringui vykdyti, oficialaus ėmimo taisyklės. Abu sprendimai buvo priimti remiantis Tarybos direktyva 96/23/EB ([4]), kuri buvo panaikinta Reglamentu (ES) 2017/625. Atsižvelgiant į naujus mokslo pokyčius, tas taisykles reikėtų atnaujinti ir įtraukti į Reglamente (ES) 2017/625 nustatytą oficialios kontrolės sistemą;

(3) pagal Sprendimo 2002/657/EB 1 straipsnio 2 dalį tas sprendimas netaikomas medžiagoms, kurioms kituose Sąjungos teisės aktuose nustatytos griežtesnės taisyklės. Šios medžiagos yra maisto produktuose aptinkami mikotoksinai, maisto produktuose aptinkami dioksinai ir dioksinų tipo polichlorintieji bifenilai (PCB) ir maisto produktuose aptinkami švinas, kadmis, gyvsidabris ir benzo(a)pirenas. Mikotoksinai maisto produktuose turi atitikti reikalavimus, išdėstytus Komisijos reglamente (EB) Nr. 401/2006 ([5]), nustatančiame ėminių ėmimo ir analizės metodus, skirtus oficialiai mikotoksinų kiekio maisto produktuose kontrolei. Komisijos reglamentas (ES) 2017/644 ([6]), kuriuo nustatomi ėminių ėmimo ir analizės metodai, taikomi vykdant dioksinų, dioksinų tipo PCB ir

([1]) OL L 95, 2017 4 7, p. 1.

([2]) 2002 m. rugpjūčio 14 d. Komisijos sprendimas 2002/657/EB dėl Tarybos direktyvos 96/23/EB nuostatų dėl analizės metodų tinkamumo ir rezultatų aiškinimo įgyvendinimo (OL L 221, 2002 8 17, p. 8).

([3]) 1998 m. vasario 23 d. Komisijos sprendimas 98/179/EB, nustatantis išsamias mėginių, skirtų tam tikrų medžiagų ir jų likučių gyvuose gyvūnuose ir gyvūninės kilmės produktuose monitoringui vykdyti, oficialaus ėmimo taisykles (OL L 65, 1998 3 5, p. 31).

([4]) 1996 m. balandžio 29 d. Tarybos direktyva 96/23/EB dėl kai kurių medžiagų ir jų likučių gyvuose gyvūnuose ir gyvūninės kilmės produktuose monitoringo priemonių, panaikinanti Direktyvas 85/358/EEB ir 86/469/EEB bei Sprendimus 89/187/EEB ir 91/664/EEB (OL L 125, 1996 5 23, p. 10).

([5]) 2006 m. vasario 23 d. Komisijos reglamentas (EB) Nr. 401/2006, nustatantis ėminių ėmimo ir analizės metodus, skirtus oficialiai mikotoksinų kiekio maisto produktuose kontrolei (OL L 70, 2006 3 9, p. 12).

([6]) 2017 m. balandžio 5 d. Komisijos reglamentas (ES) 2017/644, kuriuo nustatomi ėminių ėmimo ir analizės metodai, taikomi vykdant dioksinų, dioksinų tipo PCB ir ne dioksinų tipo PCB koncentracijos tam tikruose maisto produktuose kontrolę, ir panaikinamas Reglamentas (ES) Nr. 589/2014 (OL L 92, 2017 4 6, p. 9).

ne dioksinų tipo PCB koncentracijos tam tikruose maisto produktuose kontrolę, taikomas dioksinų ir dioksinų tipo PCB atveju. Mėginių ėmimo ir analizės vykdant oficialią švino, kadmio, gyvsidabrio ir benzo(a)pireno maisto produktuose kontrolę nuostatos yra išdėstytos Komisijos reglamente (EB) Nr. 333/2007 ([7]);

(4) siekiant aiškumo ir teisinio tikrumo, nuostatas, taikomas farmakologiškai aktyvių medžiagų mėginių ėmimui ir analizei, tikslinga sujungti į vieną teisės aktą, kaip maisto produktuose esančių mikotoksinų, dioksinų, dioksinų tipo PCB, švino, kadmio, gyvsidabrio ir benzo(a)pireno atveju;

(5) todėl sprendimai 98/179/EB ir 2002/657/EB turėtų būti panaikinti ir pakeisti šiuo reglamentu;

(6) pagal Europos Parlamento ir Tarybos reglamentą (EB) Nr. 1831/2003 ([8]) kokcidiostatai ir histomonostatai gali būti naudojami kaip pašarų priedai, todėl Komisijos reglamentas (EB) Nr. 152/2009 ([9]), kuriuo nustatomi oficialiai pašarų kontrolei taikytini Bendrijos ėminių ėmimo ir analizės metodai, yra taikomas analizuojant jų kiekį pašaruose. Tačiau šis reglamentas turėtų būti taikomas, kai pašarai analizuojami atliekant tolesnius veiksmus tikrinant reikalavimų neatitinkančių mėginių šaltinį įtariamo ar nustatyto taikytinų farmakologiškai aktyvių medžiagų, kurias leidžiama naudoti veterinariniuose vaistuose ar kaip pašarų priedus, naudojimo ar liekanų Sąjungos taisyklių arba draudžiamų ar neleidžiamų naudoti farmakologiškai aktyvių medžiagų naudojimo ar liekanų Sąjungos taisyklių nesilaikymo atvejais;

(7) siekiant užtikrinti oficialios farmakologiškai aktyvių medžiagų liekanų kontrolės ir kitos oficialios veiklos tęstinumą ir siekiant išvengti poreikio pakartotinai validuoti visus metodus iš karto, metodai, kurie buvo validuoti iki šio reglamento įsigaliojimo dienos, gali būti toliau taikomi ribotą laikotarpį, laikantis Sprendimo 2002/657/EB I priedo 2 ir 3 punktų reikalavimų. Todėl tikslinga valstybėms narėms suteikti pakankamai laiko šiame reglamente nustatytiems reikalavimams pritaikyti visiems analizės metodams;

(8) šiame reglamente nustatytos priemonės atitinka Augalų, gyvūnų, maisto ir pašarų nuolatinio komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠĮ REGLAMENTĄ:

1 straipsnis

Dalykas ir taikymo sritis

Šiuo reglamentu nustatomos farmakologiškai aktyvių medžiagų liekanų gyvų maistinių gyvūnų organizmuose, jų kūno dalyse ir skysčiuose, ekskrementuose, audiniuose, gyvūniniuose produktuose, šalutiniuose gyvūniniuose produktuose, pašaruose ir vandenyje analizės metodų, naudojamų mėginiams imti ir laboratoriniam tyrimui atlikti, taisyklės. Jame taip pat nustatytos šių laboratorinių tyrimų analitinių rezultatų aiškinimo taisyklės.

Šis reglamentas taikomas oficialiai kontrolei, kuria siekiama patikrinti, ar laikomasi reikalavimų dėl farmakologiškai aktyvių medžiagų liekanų buvimo.

([7]) 2007 m. kovo 28 d. Komisijos reglamentas (EB) Nr. 333/2007, kuriuo nustatomi mėginių ėmimo ir analizės metodai vykdant mikroelementų ir perdirbant maistą susidarančių teršalų koncentracijos maisto produktuose kontrolę (OL L 88, 2007 3 29, p. 29).

([8]) 2003 m. rugsėjo 22 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 1831/2003 dėl priedų, skirtų naudoti gyvūnų mityboje (OL L 268, 2003 10 18, p. 29).

([9]) 2009 m. sausio 27 d. Komisijos reglamentas (EB) Nr. 152/2009, nustatantis oficialiai pašarų kontrolei taikytinus Bendrijos ėminių ėmimo ir analizės metodus (OL L 54, 2009 2 26, p. 1).

2 straipsnis

Terminų apibrėžtys

Šiame reglamente vartojamų terminų apibrėžtys nustatytos Komisijos deleguotojo reglamento (ES) 2019/2090 ([10]) 2 straipsnyje, Komisijos reglamente (ES) 2019/1871 ([11]), Europos Parlamento ir Tarybos reglamento (EB) Nr. 470/2009 ([12]) 2 straipsnyje ir Tarybos reglamente (EEB) Nr. 315/93 ([13]).

Kitų vartojamų terminų apibrėžtys:

1) absoliučioji išgava – analitės analizės proceso galutinio etapo išeiga, padalyta iš analitės kiekio pirminiame mėginyje, išreikšta procentais;

2) tikslumas – tyrimo rezultato ir priimtinos tikrosios pamatinės vertės panašumas, nustatomas nustačius teisingumą ir glaudumą ([14]);

3) pirmosios rūšies klaida – tikimybė, kad ištirtas mėginys yra neigiamas, nors buvo gautas teigiamas matavimo rezultatas;

4) analitė – analizuojamos sistemos komponentas;

5) leidžiama naudoti medžiaga – farmakologiškai aktyvi medžiaga, kurią leidžiama naudoti maistiniams gyvūnams pagal Europos Parlamento ir Tarybos direktyvą 2001/82/EB ([15]);

6) antrosios rūšies klaida – tikimybė, kad ištirtas mėginys yra teigiamas, nors buvo gautas neigiamas matavimo rezultatas;

7) sistemingoji paklaida – skirtumas tarp apskaičiuotosios tyrimų rezultato vertės ir priimtinos pamatinės vertės;

8) kalibravimo etalonas – atsekama matavimų nuoroda, kuria išreiškiamas dominančios medžiagos kiekis, jo vertę susiejus su pamatine baze;

9) sertifikuotoji pamatinė medžiaga (SPM) – pamatinė medžiaga, prie kurios pridedami įgaliotosios įstaigos išduoti dokumentai, kuriuose, taikant galiojančias procedūras, pateikiama viena ar daugiau nurodytų savybių verčių ir susijęs neapibrėžtumas bei susietumas ([16]);

10) kochromatografija – metodas, pagal kurį nežinoma medžiaga dedama ant chromatografinio padėklo kartu su vienu ar daugiau žinomų junginių, tikintis, kad nežinomų ir žinomų medžiagų santykinė elgsena padės nustatyti nežinomą medžiagą;

11) jungtinis lyginamasis tyrimas – to (-ų) paties (-ių) mėginio (-ių) analizavimas tuo pačiu metodu norint nustatyti to metodo veiksmingumo požymius skirtingose laboratorijose; tokiu tyrimu galima apskaičiuoti atsitiktinę matavimo paklaidą ir laboratorijos sistemingąją paklaidą;

([10]) 2019 m. birželio 19 d. Komisijos deleguotasis reglamentas (ES) 2019/2090, kuriuo Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (ES) 2017/625 papildomas įtariamo ar nustatyto taikytinų farmakologiškai aktyvių medžiagų, kurias leidžiama naudoti veterinariniuose vaistuose ar kaip pašarų priedus, naudojimo ar liekanų Sąjungos taisyklių arba draudžiamų ar neleidžiamų naudoti farmakologiškai aktyvių medžiagų naudojimo ar liekanų Sąjungos taisyklių nesilaikymo atvejais (OL L 317, 2019 12 9, p. 28).

([11]) 2019 m. lapkričio 7 d. Komisijos reglamentas (ES) 2019/1871 dėl gyvūniniuose maisto produktuose aptinkamų neleidžiamų farmakologiškai aktyvių medžiagų kontrolės atskaitos taškų, kuriuo panaikinamas Sprendimas 2005/34/EB (OL L 289, 2019 11 8, p. 41).

([12]) 2009 m. gegužės 6 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 470/2009, nustatantis Bendrijos farmakologiškai aktyvių medžiagų leistinų liekanų kiekių nustatymo gyvūninės kilmės maisto produktuose tvarką, panaikinantis Tarybos reglamentą (EEB) Nr. 2377/90 ir iš dalies keičiantis Europos Parlamento ir Tarybos direktyvą 2001/82/EB ir Europos Parlamento ir Tarybos reglamentą (EB) Nr. 726/2004 (OL L 152, 2009 6 16, p. 11).

([13]) 1993 m. vasario 8 d. Tarybos reglamentas (EEB) Nr. 315/93, nustatantis Bendrijos procedūras dėl maisto teršalų (OL L 37, 1993 2 13, p. 1).

([14]) ISO 3534-1: 2006 „Statistika. Aiškinamasis žodynas ir simboliai. 1 dalis. Bendrieji statistikos terminai ir tikimybių terminai“ (1 skyrius).

([15]) 2001 m. lapkričio 6 d. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva 2001/82/EB dėl Bendrijos kodekso, reglamentuojančio veterinarinius vaistus (OL L 311, 2001 11 28, p. 1).

([16]) JCGM 200:2008, International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), Third Edition 2008 (Tarptautinis metrologijos žodynas – Pagrindinės ir bendrosios sąvokos ir susiję terminai (VIM), trečiasis leidimas, 2008 m.): https://www.iso.org/sites/JCGM/VIM-JCGM200.htm (Chapter 5 Measurement standards (Etalons) (5 skyrius. Matavimo etalonai).

12) patvirtinamasis metodas – metodas, suteikiantis visą ar papildomą informaciją, pagal kurią galima neabejotinai identifikuoti medžiagą, o prireikus nustatyti jos kiekį vienu iš šių būdų:

   a) esant didžiausiai leidžiamai liekanų koncentracijai arba didžiausiai leidžiamų naudoti medžiagų koncentracijai;

   b) uždraustų arba neleidžiamų naudoti medžiagų, kurių kontrolės atskaitos taškas (KAT) nustatytas, koncentracijai esant lygiai kontrolės atskaitos taškui;

   c) esant kiek praktiškai įmanoma mažesnei draudžiamos arba neleidžiamos naudoti medžiagos, kurios kontrolės atskaitos taškas nenustatytas, koncentracijai;

13) aprėpties faktorius (k) – skaičius, kuriuo išreiškiamas pageidaujamas pasikliovimo lygis ir kuris siejamas su išplėstine matavimo neapibrėžtimi;

14) patvirtinimo sprendimo riba (CCα) – riba, kurią pasiekus arba viršijus galima pirmosios rūšies klaidos patikimumu spręsti, kad mėginys yra teigiamas, o vertė 1 – α reiškia statistinį patikimumą procentais, kad buvo viršyta leistina riba;

15) atrankinės patikros aptikimo geba (CCβ) – mažiausias analitės kiekis, kurį su β paklaidos tikimybe galima aptikti arba nustatyti mėginyje:

   a) draudžiamų arba neleidžiamų naudoti veikliųjų medžiagų atveju CCβ yra tokia mažiausia koncentracija, kuriai esant tuo metodu 1 – β statistiniu patikimumu galima aptikti arba nustatyti mėginius, kuriuose yra draudžiamų ar neleidžiamų naudoti medžiagų liekanų;

   b) leidžiamų naudoti medžiagų atveju CCβ yra tokia koncentracija, kuriai esant tuo metodu 1 – β statistiniu patikimumu galima aptikti mažesnę nei ribinis leistinas kiekis koncentraciją;

16) sodrinta mėginio medžiaga – mėginys, į kurį pridėtas tam tikras žinomas kiekis analitės, kurią reikia aptikti arba nustatyti;

17) tarplaboratorinis lyginamasis tyrimas – to (-ų) paties (-ių) mėginio (-ių) tyrimų organizavimas, atlikimas ir įvertinimas dviejose ar daugiau laboratorijų iš anksto nustatytomis sąlygomis tyrimo tinkamumui nustatyti, atliekamas kaip jungtinis lyginamasis arba tyrimo kokybės patikrinimo tyrimas;

18) vidinis etalonas (VE) – mėginyje nesanti medžiaga, kurios fizinės ir cheminės savybės yra kiek įmanoma panašesnės į tos analitės, kurią reikia identifikuoti ir kurios kiekį reikia nustatyti;

19) dominantis lygis – medžiagos ar analitės koncentracija mėginyje, kuri yra svarbi nustatant medžiagos atitikimą teisės aktų reikalavimams, kiek tai susiję su:

   a) didžiausia leidžiama liekanų koncentracija arba didžiausia leidžiamų naudoti medžiagų koncentracija pagal Komisijos reglamentą (EB) Nr. 124/2009 ([17]) ir Komisijos reglamentą (ES) Nr. 37/2010 ([18]);

   b) uždraustų arba neleidžiamų naudoti medžiagų, kurių kontrolės atskaitos taškas nustatytas pagal Reglamentą (ES) 2019/1871, kontrolės atskaitos tašku;

   c) kiek praktiškai įmanoma mažesne draudžiamos arba neleidžiamos naudoti medžiagos, kurios kontrolės atskaitos taškas nenustatytas, koncentracija;

20) žemiausiasis kalibruotas lygis (ŽKL) – mažiausia koncentracija, kuriai esant matavimo sistema buvo sukalibruota;

21) matrica – medžiaga, iš kurios paimamas mėginys;

22) matricos poveikis – analizės reakcijos skirtumas tarp tirpiklyje ištirpusio etalono ir matricą atitinkančio etalono be pataisos naudojant vidinį etaloną arba su pataisa naudojant vidinį etaloną;

([17]) 2009 m. vasario 10 d. Komisijos reglamentas (EB) Nr. 124/2009, nustatantis didžiausią leidžiamą kokcidiostatų arba histomonostatų koncentraciją maisto produktuose, atsirandančią dėl neišvengiamų šių medžiagų liekanų netiksliniuose pašaruose (OL L 40, 2009 2 11, p. 7).

([18]) 2009 m. gruodžio 22 d. Komisijos reglamentas (ES) Nr. 37/2010 dėl farmakologiškai aktyvių medžiagų, jų klasifikacijos ir didžiausios leidžiamosios koncentracijos gyvūniniuose maisto produktuose (OL L 15, 2010 1 20, p. 1).

23) matricą atitinkantis etalonas – tuščioji analitės neturinti matrica, į kurią, esant tam tikram koncentracijos verčių intervalui, po mėginio apdorojimo pridedama analitės;

24) matrica sodrintas etalonas – tuščioji analitės neturinti matrica, kuri prieš ekstrahavimą tirpikliu ir mėginių apdorojimą analitės prisodrinama esant įvairioms koncentracijoms;

25) matuojamasis dydis – konkretus matuojamas dydis;

26) matavimo neapibrėžtis – su matavimo rezultatu susijęs ne neigiamas parametras, kuriuo apibūdinama verčių, kurias galima pagrįstai priskirti matuojamam dydžiui, sklaida, remiantis naudojama informacija;

27) veiksmingumo kriterijai – veiksmingumo požymio reikalavimai, pagal kuriuos galima spręsti, ar analizės metodas yra tinkamas numatomam naudojimui ir ar jį taikant gaunami patikimi rezultatai;

28) glaudumas – nepriklausomų tyrimų rezultatų, gautų pagal nurodytas sąlygas, panašumas, išreiškiamas kaip tyrimo rezultatų standartinis nuokrypis arba variacijos koeficientas;

29) kokybinis metodas – toks analizės metodas, kuriuo medžiaga arba medžiagų grupė aptinkama arba identifikuojama pagal jos chemines, biologines ar fizines savybes;

30) kiekybinis metodas – toks analizės metodas, kuriuo medžiagos kiekis ar masės dalis nustatomi taip, kad juos būtų galima išreikšti atitinkamų vienetų skaitmenine verte;

31) išgava – pagal išgavą pakoreguotas analitės kiekis, padalytas iš sodrintos analitės kiekio matricos mėginyje, išreikštas procentais;

32) išgavos pataisa – vidinių etalonų naudojimas, matricos kalibravimo kreivės naudojimas, taip pat išgavos pataisos koeficiento naudojimas ir šių metodų derinys;

33) pamatinė medžiaga – pakankamai vienalytė ir stabili vienos ar kelių nurodytų savybių atžvilgiu medžiaga, kuri, kaip nustatyta, yra tinkama naudoti matavimo procese arba tiriant vardines savybes ([19]).

34) santykinis matricos poveikis – analizės reakcijos skirtumas tarp tirpiklyje ištirpusio etalono ir matricą atitinkančio etalono be pataisos naudojant vidinį etaloną arba su pataisa naudojant vidinį etaloną;

35) pakartojamumas – glaudumas sąlygomis, kai praėjus nedideliam laiko tarpui toje pačioje laboratorijoje tas pats operatorius, taikydamas tą patį metodą, tyrimui naudodamas tapačius mėginius ir tą pačią įrangą, gauna atskirų tyrimų rezultatus;

36) atkuriamumas – glaudumas sąlygomis, kuriomis tyrimų rezultatai gaunami skirtingose laboratorijose, dirbant skirtingiems operatoriams, naudojant skirtingą įrangą, taikant tą patį metodą ir tiriant tapačius mėginius ([20]);

37) atsparumas – analizės metodo jautrumas eksperimentinių sąlygų, kurioms esant metodą galima taikyti pagal nurodymus arba su nurodytais nedideliais pakeitimais, pokyčiams;

38) atrankinis metodas – tyrimo metodas, naudojamas tikrinti medžiagas ar medžiagų klasę dominančiu lygiu;

39) atrankinės patikros tikslinė koncentracija (STC) – už CCβ mažesnė arba jai lygi koncentracija, kuriai esant atlikus atrankinį matavimą mėginys laikomas galimai abejotinu „teigiamu atrankinės patikros rezultatu“ ir dėl to atliekamas patvirtinamasis tyrimas;

40) atrankumas – metodo geba išskirti matuojamą analitę ir kitas medžiagas;

41) vienos laboratorijos tyrimas arba vietinis validavimas – analitinis tyrimas, kurį atlieka viena laboratorija, taikydama vieną metodą tai pačiai arba skirtingoms tiriamosioms medžiagoms tirti skirtingomis sąlygomis ir pagrįstai ilgais laiko tarpais;

([19]) Maisto kodekso komisija, Jungtinių Tautų Maisto ir žemės ūkio organizacija, Pasaulio sveikatos organizacija, „Analizių terminijos gairės“ (CAC/GL 72-2009).

([20]) ISO 5725-1:1994 „Matavimo metodų tikslumas (teisingumas ir glaudumas) ir įvertinimo rezultatai. 1 dalis. Bendrieji principai ir apibrėžimai“ (3 skyrius).

42) etalono pridėjimo metodas – procedūra, pagal kurią viena mėginio dalis analizuojama tokia, kokia yra, o į kitas tiriamąsias dalis prieš analizę pridedamas tam tikras žinomas kiekis etaloninės analitės;

43) etaloninė analitė – žinomos ir patvirtintos sudėties bei grynumo analitė, skirta naudoti kaip analizės etalonas;

44) medžiaga – pastovios sudėties medžiaga, kuriai būdingos ją sudarančios dalys ir tam tikros fizinės savybės;

45) tiriamoji dalis – iš mėginio paimtas medžiagos kiekis atlikti tyrimą ar stebėjimą;

46) teisingumas – didelės tyrimų rezultatų serijos vertės vidurkio panašumas į priimtiną pamatinę vertę;

47) vienetai – standarte ISO 80000 ([21]) ir Direktyvoje 80/181/EEB ([22]) aprašyti vienetai;

48) validavimas – įrodymas ištiriant ir akivaizdžių įrodymų to, kad yra įvykdyti atitinkami tam tikros naudojimo paskirties reikalavimai ([23]), pateikimas atliekant vienos laboratorijos arba jungtinį lyginamąjį tyrimą;

49) atkuriamumas laboratorijoje arba tarpinis glaudumas (vidinis atkuriamumas) – matavimo glaudumas vienos laboratorijos sąlygomis konkrečioje laboratorijoje.

3 straipsnis

Analizės metodai

Valstybės narės užtikrina, kad pagal Reglamento (ES) 2017/625 34 straipsnį paimti mėginiai būtų analizuojami taikant metodus, atitinkančius šiuos reikalavimus:

1) jie yra dokumentuoti tyrimų instrukcijose, pageidautina pagal standarto ISO 78-2:1999 „Chemija. Standartų sandara. 2 dalis. Cheminės analizės metodai ([24])“ priedus;

2) jie atitinka šio reglamento I priedo 1 skyriuje nustatytus analizės metodų veiksmingumo kriterijus ir kitus reikalavimus;

3) jie buvo validuoti pagal šio reglamento I priedo 2 ir 4 skyriuose nustatytus reikalavimus;

4) jie leidžia užtikrinti Reglamente (ES) 2019/1871 nustatytų kontrolės atskaitos taškų taikymą, nustatyti draudžiamų ir neleidžiamų naudoti medžiagų buvimą ir užtikrinti, kad būtų laikomasi didžiausių leidžiamųjų koncentracijų (DLK), nustatytų remiantis Reglamentu (EEB) Nr. 315/93 ir Reglamentu (EB) Nr. 124/2009, ir didžiausių leidžiamųjų liekanų koncentracijų (DLLK), nustatytų remiantis reglamentais (EB) Nr. 1831/2003 ir (EB) Nr. 470/2009.

4 straipsnis

Kokybės kontrolė

Valstybės narės užtikrina pagal Reglamentą (ES) 2017/625 atliktų tyrimų rezultatų kokybę, visų pirma stebėdamos tyrimus arba kalibravimo rezultatus pagal standartą ISO/IEC 17025:2017 „Tyrimų, bandymų ir kalibravimo laboratorijų kompetencijai keliami bendrieji reikalavimai“ ir pagal kokybės kontrolės atliekant įprastinę analizę reikalavimus, nustatytus šio reglamento I priedo 3 skyriuje.

([21]) ISO 80000-1:2009 „Dydžiai ir vienetai. 1 dalis. Bendrieji dalykai“ (Įvadas).
([22]) 1979 m. gruodžio 20 d. Tarybos direktyva 80/181/EEB dėl valstybių narių įstatymų, susijusių su matavimo vienetais, suderinimo ir Direktyvos 71/354/EEB panaikinimo (OL L 39, 1980 2 15, p. 40).
([23]) ISO/IEC 17025:2017 „Tyrimų, bandymų ir kalibravimo laboratorijų kompetencijai keliami bendrieji reikalavimai“ (3 skyrius).
([24]) ISO 78-2: 1999 „Chemija. Standartų sandara. 2 dalis. Cheminės analizės metodai“ (priedai).

5 straipsnis

Rezultatų aiškinimas

1. Analizės rezultatas laikomas teigiamu, jei jis yra lygus patvirtinimo sprendimo ribai (CCα) arba ją viršija.

2. Leidžiamų naudoti medžiagų, kurių DLLK ir DLK nustatytos, patvirtinimo sprendimo riba (CCα) yra koncentracija, kurią pasiekus arba viršijus galima 1 – α skaitinės vertės statistiniu patikimumu nustatyti, kad buvo viršyta leistina riba.

3. Neleidžiamų naudoti, draudžiamų medžiagų arba leidžiamų naudoti medžiagų, kurių DLLK ir DLK konkrečiose rūšyse arba produkte nebuvo nustatytos, patvirtinimo sprendimo riba (CCα) yra žemiausias koncentracijos lygis, kuriam esant 1 – α skaitinės vertės statistiniu patikimumu būtų galima teigti, kad esama būtent tos analitės.

4. Neleidžiamų naudoti arba uždraustų farmakologiškai aktyvių medžiagų pirmosios rūšies klaida yra ne didesnė kaip 1 %. Visų kitų medžiagų pirmosios rūšies klaida yra ne didesnė kaip 5 %.

6 straipsnis

Mėginio ėmimo metodai

Valstybės narės užtikrina, kad mėginiai būtų imami, tvarkomi ir ženklinami pagal šio reglamento II priede nustatytus išsamius mėginių ėmimo metodus.

7 straipsnis

Panaikinimas ir pereinamojo laikotarpio priemonės

Sprendimai 2002/657/EB ir 98/179/EB panaikinami nuo šio reglamento įsigaliojimo dienos.

Tačiau iki 2026 m. birželio 10 d. Sprendimo 2002/657/EB I priedo 2 ir 3 punktuose nustatyti reikalavimai toliau taikomi metodams, kurie buvo validuoti iki šio reglamento įsigaliojimo dienos.

8 straipsnis

Įsigaliojimas

Šis reglamentas įsigalioja dvidešimtą dieną po jo paskelbimo *Europos Sąjungos oficialiajame leidinyje*.

Šis reglamentas privalomas visas ir tiesiogiai taikomas visose valstybėse narėse.

Priimta Briuselyje 2021 m. kovo 22 d.

Komisijos vardu
Pirmininkė
Ursula VON DER LEYEN

I PRIEDAS

1 SKYRIUS

ANALIZĖS METODŲ VEIKSMINGUMO KRITERIJAI IR KITI REIKALAVIMAI

1.1. Atrankinių metodų reikalavimai

1.1.1. *Tinkamų atrankinių metodų kategorijos*

Kaip tinkami atrankiniai metodai taikomi kokybiniai, pusiau kiekybiniai arba kiekybiniai metodai.

1.1.2. Biologinių, biocheminių arba fizinių ir cheminių atrankinių metodų reikalavimai

Draudžiamų ar neleidžiamų naudoti medžiagų CCβ yra kiek praktiškai įmanoma mažesnė ir bet kuriuo atveju mažesnė už cheminių medžiagų, kurių kontrolės atskaitos taškai (KAT) nustatyti pagal Reglamentą (ES) 2019/1871, KAT.

Leidžiamų naudoti farmakologiškai aktyvių medžiagų CCβ yra mažesnė už DLLK arba DLK.

Atrankinei patikrai galima naudoti tik tokius analizės metodus, kurie yra validuoti ir kurių neteisingų sprendimų dėl neigiamo rezultato koeficientas yra ne didesnis kaip 5 % (antrosios rūšies klaida), o tai patvirtina dokumentai, kuriuos galima patikrinti. Jei gaunamas abejotinas teigiamas rezultatas, jis patikrinamas patvirtinamuoju metodu.

Kiekybiniai atrankos metodai, naudojami ir atrankinei patikrai, ir patvirtinimui, atitinka tuos pačius tikslumo, intervalo ir glaudumo reikalavimus, kaip aprašyta 1.2.2.1 ir 1.2.2.2 skirsniuose.

1.2. Patvirtinamųjų metodų reikalavimai

1.2.1. *Specialieji patvirtinamųjų metodų reikalavimai*

Draudžiamų arba neleidžiamų naudoti medžiagų CCα yra mažesnė kiek praktiškai įmanoma. Draudžiamų arba neleidžiamų naudoti medžiagų, kurių KAT nustatytas pagal Reglamentą (ES) 2019/1871, CCα yra mažesnė už kontrolės atskaitos tašką arba jam lygi.

Leidžiamų naudoti medžiagų CCα yra didesnė nei DLLK arba DLK, bet kuo artimesnė.

Patvirtinimui galima naudoti tik tokius analizės metodus, kurie yra validuoti ir kurių neteisingų sprendimų dėl teigiamo rezultato koeficientas (pirmosios rūšies klaida) yra ne didesnis kaip 1 % draudžiamų ar neleidžiamų naudoti medžiagų arba ne didesnis kaip 5 % leidžiamų naudoti medžiagų atveju.

Taikant patvirtinamuosius metodus gaunama informacijos apie struktūrinę cheminę analitės sandarą. Todėl vien chromatografine analize pagrįstų patvirtinamųjų metodų, nenaudojant spektrografinės masės detekcijos, netinka taikyti kaip draudžiamų ar neleidžiamų naudoti farmakologiškai aktyvių medžiagų patvirtinamųjų metodų. Jeigu masių spektrometrija netinkama leidžiamoms naudoti medžiagoms, galima taikyti kitus metodus, pvz., HPLC-DAD ir -FLD arba jų derinį.

Kai reikalaujama pagal patvirtinamąjį metodą, tinkamo vidinio etalono pridedama į tiriamąją dalį pradedant išskyrimo procedūrą. Naudojamos stabiliais izotopais žymėtos analitės formos, kurios ypač tinka spektrometrinei masės detekcijai, arba labai panašios į analitę sandaros analoginiai junginiai (atsižvelgiant į tai, kuriuos lengviau gauti). Kai tinkamu vidiniu etalonu naudotis negalima, pageidautina, kad analitės identifikacija būtų patvirtinta kochromatografija ([1]). Tokiu atveju gaunama tik viena smailė, o padidintas smailės aukštis (arba plotas) atitinka pridėtos analitės kiekį. Jei tai neįmanoma, naudojami matricą atitinkantys etalonai arba matrica sodrinti etalonai.

([1]) Kochromatografija – tai procedūra, kurią taikant mėginio ekstraktas prieš chromatografavimo etapus padalijamas į dvi dalis. Viena dalis ekstrakto chromatografuojama. Antra dalis sumaišoma su etalonine analite, kurios kiekį ir reikia išmatuoti. Tuomet šis mišinys taip pat chromatografuojamas. Etaloninės analitės pridedama maždaug tiek, kiek jo turėtų būti ekstrakte. Kochromatografija naudojama norint geriau identifikuoti analitę taikant chromatografijos metodiką, ypač tuomet, kai negalima naudotis jokiu tinkamu vidiniu etalonu.

1.2.2. *Bendrieji patvirtinamųjų metodų veiksmingumo kriterijai*

1.2.2.1. Teisingumas pagal išgavą

Atliekant pakartotinę sertifikuotosios pamatinės medžiagos analizę, eksperimentiniu būdu nustatytos pagal išgavą pakoreguotos vidutinės masės dalies nuokrypis nuo patvirtintos vertės atitinka mažiausius teisingumo intervalus, nurodytus 1 lentelėje.

1 lentelė

Mažiausiasis kiekybinių metodų teisingumas

Masės dalis	Intervalas
≤ 1 µg/kg	Nuo −50 % iki +20 %
Nuo > 1 µg/kg iki 10 µg/kg	Nuo −30 % iki +20 %
≥ 10 µg/kg	Nuo −20 % iki +20 %

Jei nėra sertifikuotų pamatinių medžiagų, priimtina, kad matavimų teisingumas būtų vertinamas kitais būdais, pvz., naudojant medžiagas su tarplaboratoriniuose lyginamuosiuose tyrimuose priskirtomis vertėmis arba į tuščiąją matricą pridedant žinomų analitės (-ių) kiekių.

1.2.2.2. Glaudumas

Daugiakartės pamatinės arba sodrintos medžiagos analizės variacijos koeficientas (VK) atkuriamumo laboratorijoje sąlygomis turi neviršyti Horvico lygtimi apskaičiuoto lygio. Taikoma tokia lygtis:

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

čia C yra masės dalis, išreikšta skaičiaus 10 laipsnio rodikliu (pvz., 1 mg/g = 10−3). Jei masės dalis yra mažesnė kaip 120 µg/kg, taikant Horvico lygtį gaunamos nepriimtinai didelės vertės. Todėl didžiausias leidžiamas variacijos koeficientas neturi būti didesnis už 2 lentelėje pateiktas vertes.

2 lentelė

Priimtinas variacijos koeficientas

Masės dalis	**Atkuriamumo VK (proc.)**
> 1 000 µg/kg	16 (pritaikyta pagal Horvico lygtį)
> 120 µg/kg–1 000 µg/kg	22 (pritaikyta pagal Horvico lygtį)
10–120 µg/kg	25 *
< 10 µg/kg	30 *

* * Pateiktas VK (%) yra rekomendacija ir turėtų būti kiek praktiškai įmanoma mažesnis.

Kai analizė atliekama pakartojamumo sąlygomis, variacijos koeficientas pakartojamumo sąlygomis turi būti ne didesnis nei du trečdaliai 2 lentelėje išvardytų verčių.

1.2.3. *Chromatografinio atskyrimo reikalavimai*

Skysčių arba dujų chromatografijos atveju trumpiausia priimtina tiriamos (-ų) analitės (-ių) sulaikymo trukmė turi būti dvigubai trumpesnė už tą sulaikymo trukmę, kuri atitinka tuščio kapiliarinio vamzdelio tūrį. Analitės sulaikymo trukmė ekstrakte turi atitikti kalibravimo etalono, matricą atitinkančio etalono arba matrica sodrinto etalono sulaikymo trukmę su ± 0,1 minutės leidžiamu nuokrypiu. Jei taikoma greitoji chromatografija, kai sulaikymo trukmė yra trumpesnė nei 2 minutės, priimtinas mažesnis nei 5 % sulaikymo trukmės nuokrypis. Jeigu naudojamas vidinis etalonas, analitės chromatografinio sulaikymo trukmės santykis su vidinio etalono sulaikymo

trukme, t. y. analitės santykinė sulaikymo trukmė, turi atitikti kalibravimo etalono, matricą atitinkančio etalono arba matrica sodrinto etalono santykinę trukmę taikant 0,5 % didžiausią leidžiamą nuokrypį dujų chromatografijos atveju ir 1 % – skysčių chromatografijos atveju, taikant metodus, validuotus nuo šio reglamento įsigaliojimo dienos.

1.2.4. *Specialieji masių spektroskopijos veiksmingumo kriterijai*

1.2.4.1. Spektrometrinė masės detekcija

Spektrometrinė masės detekcija atliekama taikant kai kurias iš šių galimybių:

1) nuodugniojo skenavimo (NS) masės spektro registravimą;

2) pasirinktų jonų stebėseną (PJS);

3) daugelio stadijų masių spektrometrijos (MS^n) metodus, pvz., pasirinktos reakcijos stebėseną (PRS);

4) masių spektrometrijos (MS) arba daugelio stadijų masių spektrometrijos (MS^n) metodų derinį su reikiamu jonizavimu.

Tinka tiek mažos skiriamosios gebos masių spektrometrija (MSGMS, naudojant vieneto masės skiriamąją gebą), tiek didelės skiriamosios gebos masių spektrometrija (DSGMS), įskaitant, pvz., dvigubo fokusavimo sektorių, skriejimo laiko (SL) ir „Orbitrap“ masių spektrometrus.

Siekiant patvirtinti analitės tapatumą atliekant didelės skiriamosios gebos masių spektrometriją (DSGMS), visų diagnostinių jonų masės nuokrypis turi būti mažesnis nei 5 ppm (arba, jei m/z < 200, mažesnis nei 1 mDa). Atsižvelgiant į tai, efektyvioji skiriamoji geba turėtų būti parenkama pagal paskirtį ir skiriamoji geba visame masės diapazone esant 10 % minimumui paprastai turi būti didesnė kaip 10 000 arba esant juostos pločiui pusiniame aukštyje (FWHM) – 20 000.

Kai masė spektroskopiškai nustatoma registruojant nuodugniojo skenavimo spektrą (tiek MSGMS, tiek DSGMS), tinkami tik diagnostiniai jonai, kurių santykinis intensyvumas kalibravimo etalono, matricą atitinkančio etalono arba matrica sodrinto etalono pamatiniame spektre yra didesnis kaip 10 %. Diagnostiniai jonai apima molekulinį joną (jei yra), kurio intensyvumas sudaro ≥ 10 % bazinės smailės, ir būdingus skeveldrinius arba susidariusius jonus.

Jono pirmtako atranka: kai masė spektroskopiškai nustatoma atliekant fragmentaciją po jono pirmtako atrinkimo, jono pirmtako atranka atliekama naudojant vieneto masės skiriamąją gebą arba už ją didesnę skiriamąją gebą. Pasirinktas jonas pirmtakas yra molekulinis jonas, molekuliniams jonams būdingi aduktai, būdingi susidarę jonai arba vienas iš jų izotopinių jonų. Jei jono pirmtako atrankos masių atrankos intervalas siekia daugiau nei vieną daltoną (pvz., nuo duomenų nepriklausomo aptikimo atveju), metodas laikomas nuodugnaus skenavimo patvirtinamąja analize.

Skeveldriniai ir susidarę jonai: pasirinkti susidarę arba skeveldriniai jonai yra diagnostiniai matuotos analitės ir (arba) produkto fragmentai. Jeigu įmanoma, neselektyvios pereigos (pvz., tropilio katijonas arba vandens nuostoliai) neįtraukiamos. Diagnostinių jonų gausa nustatoma pagal integruotų ekstrahuotų jonų chromatogramų smailės plotą arba aukštį. Tai taip pat taikoma, kai identifikavimui naudojami nuodugniojo skenavimo matavimai. Visų diagnostinių jonų signalo ir triukšmo santykis (S/N) turi būti ne mažesnis kaip trys su vienu (3:1).

Santykinis intensyvumas: diagnostinių jonų santykinis intensyvumas (jonų koeficientas), išreikštas gausiausio jono intensyvumo procentine dalimi arba pereiga. Jonų koeficientas turi būti nustatomas lyginant spektrus arba integruojant ekstrahuotų jonų masės pėdsakų signalus. Analitės jonų koeficientas, kuris turi būti patvirtintas, turi atitikti tokiomis pačiomis sąlygomis išmatuotus panašios koncentracijos matricą atitinkančių etalonų, matrica sodrintų etalonų arba etaloninių tirpalų koeficientus, o santykinis nuokrypis neturi būti didesnis nei ± 40 %.

Atliekant bet kokią masių spektrometrinę analizę, turi būti nustatomas bent vienas jonų koeficientas. Parankiausia, jei šie jonai gaunami atlikus vieną skenavimą, tačiau jonai taip pat gali būti gaunami atliekant skirtingus to paties įpurškimo skenavimus (t. y. nuodugnųjį skenavimą ir fragmentacijos skenavimą).

1.2.4.2. Identifikavimas

Tinkamiems duomenų rinkimo režimams ir vertinimo kriterijams parinkti turi būti naudojama identifikavimo taškų sistema. Siekiant patvirtinti matricoje esančių medžiagų, kurių DLLK nustatyta, tapatumą (leidžiamas naudojimas), būtina nustatyti ne mažiau kaip 4 identifikavimo taškus. Jeigu tai neleidžiamos naudoti arba draudžiamos medžiagos, reikia nustatyti 5 identifikavimo taškus. Vienas taškas gali būti gaunamas atlikus chromatografinį atskyrimą. 3 lentelėje pateiktas kiekvienu iš metodų galimų gauti identifikavimo taškų skaičius. Tam, kad reikiami identifikacijos taškai galėtų būti patvirtinti, galima pridėti identifikavimo taškus, gautus taikant skirtingus metodus.

1. Visos masės spektrometrinės analizės turi būti derinamos su atskyrimo metodu, kuris parodo pakankamą atskyrimo galią ir atrankumą konkrečiai taikymo sričiai. Tinkami atskyrimo metodai, be kita ko, yra skysčių ir dujų chromatografija, kapiliarinė elektroforezė ir superkritinė chromatografija. Analitės, kurios sudėtyje yra izobaro arba izomero junginio, sulaikymo trukmės priimtinumas (t. y. ± 0,5 % DC ir ± 1 % SC ir SSC) yra privalomas jos tapatumui patvirtinti.

2. Mažiausiam būtinam identifikavimo taškų skaičiui surinkti galima derinti ne daugiau kaip tris atskirus metodus.

3. Skirtingos jonizacijos būsenos (pvz., elektronų jonizacija ir cheminė jonizacija) yra laikomos skirtingais metodais.

3 lentelė

Identifikavimo taškai pagal metodą

Metodas	Identifikavimo taškai
Atskyrimas (DC, SC, SSC, KE metodai)	1
MSG-MS jonas	1
Jono pirmtako atranka esant < ± 0,5 Da masės intervalui	1 (netiesioginis)
MSG-MS^n susidaręs jonas	1,5
DSG-MS jonas	1,5
DSG-MS^n susidaręs jonas	2,5

4 lentelė

Konkrečių identifikavimo taškų skaičiaus metodų ir metodų derinių pavyzdžiai (n – sveikas skaičius)

Metodas (-ai)	Atskyrimas	Jonų skaičius	Identifikavimo taškai
DC-MS (EJ arba CJ)	DC	n	1 + n
DC-MS (EJ ir CJ)	DC	2 (EJ) + 2 (CJ)	1 + 4 = 5
DC-MS (EJ arba CJ) 2 dariniai	DC	2 (darinys A) + 2 (darinys B)	1 + 4 = 5
SC-MS	SC	n (MS)	1 + n
DC- arba SC-MS/MS	DC arba SC	1 pirmtakas + 2 susidarę jonai	1 + 1 + 2 × 1,5 = 5
DC- arba SC-MS/MS	DC arba SC	2 pirmtakai + 2 susidarę jonai	1 + 2 + 2 × 1,5 = 6
DC- arba SC-MS^3	DC arba SC	1 pirmtakas + 1 MS^2 susidaręs jonas + 1 MS^3 susidaręs jonas	1 + 1 + 1,5 + 1,5 = 5
DC- arba SC-DSGMS	DC arba SC	n	1 + n × 1,5

DC- arba SC-DSGMS/MS	DC arba SC	1 pirmtakas (<±0,5 Da masės intervalas) + 1 susidaręs jonas	1 + 1 + 2,5 = 4,5
DC- arba SC-DSGMS/MS	DC arba SC	1 nuodugnaus skenavimo jonas + 1 DSGMS susidaręs jonas [a]	1 + 1,5 + 2,5 = 5
DC- ir SC-MS	DC ir SC	2 jonai (DCMS) + 1 jonas (SCMS)	1 + 1 + 2 + 1 + 1 = 6

[a] [a] Papildomų jono pirmtako atrankos identifikavimo taškų nenustatoma, jei šis jonas pirmtakas yra tas pats jonas (arba aduktas ar izotopas), kaip ir DSGMS jonas, stebimas atliekant nuodugnųjį skenavimą.

1.2.5. *Specialieji analitės nustatymo naudojant skysčių chromatografiją ir taikant kitus aptikimo metodus, išskyrus masių spektrometriją, veiksmingumo kriterijai*

Tik leidžiamų naudoti medžiagų atveju kaip alternatyvą masių spektrometrija pagrįstiems metodams, galima taikyti šiuos metodus, jeigu laikomasi atitinkamų šiems metodams taikomų kriterijų:

1) aptikimo nuodugniojo skenavimo diodų matrica spektrometriją (DDM), jeigu naudojama su ESC;

2) fluorescencinio aptikimo spektrometriją, jeigu naudojama su ESC.

Vien skysčių chromatografija su UV/MŠ detekcija (vienas bangos ilgis) negali būti taikomos kaip patvirtinamasis metodas.

1.2.5.1. Nuodugniojo skenavimo diodų matricos spektrometrijos veiksmingumo kriterijai

Laikomasi 1.2.3 skirsnyje nustatytų chromatografinio atskyrimo veiksmingumo kriterijų.

Absorbcijos maksimumas analitės UV spektre turi būti ties tomis pačiomis bangos ilgio vertėmis, kaip ir matricoje esančio kalibravimo etalono; didžiausias leistinas nuokrypis priklauso nuo aptikimo sistemos skiriamosios gebos. Aptikimo diodų matrica atveju šis didžiausias leistinas nuokrypis paprastai yra ± 2 nm. Tos virš 220 nm esančios analitės spektro dalys, kurių dviejų spektrų santykinė absorbcija yra ne mažesnė kaip 10 %, vizualiai nesiskiria nuo kalibravimo etalono spektro. Šio kriterijaus reikalavimų laikomasi, jei yra vienodi maksimumai, o skirtumai tarp abiejų spektrų nė viename taške nėra didesni už 10 % kalibravimo etalono absorbcijos. Jei naudojamasi kompiuterizuota paieška bibliotekoje ir taikomas sulyginimas, oficialiųjų mėginių ir kalibravimo tirpalo spektro duomenų atitiktis turi viršyti ribinį atitikties koeficientą. Šis koeficientas nustatomas atliekant kiekvienos analitės validavimo procesą, remiantis spektru, kuris atitinka toliau aprašytus kriterijus. Kontroliuojama spektro kaita mėginio matricos ir detektoriaus veikimo charakteristikų atžvilgiu.

1.2.5.2. Fluorescencinio aptikimo spektrometrijos veiksmingumo kriterijai

Turi būti laikomasi 1.2.3 skirsnyje nustatytų chromatografinio atskyrimo veiksmingumo kriterijų.

Sužadinimo ir emisijos bangų ilgiai pagal chromatografijos sąlygas parenkami taip, kad tuščių mėginių ekstraktuose būtų kuo labiau sumažintas interferuojančių komponentų poveikis. Tarp sužadinimo ir emisijos bangos ilgio turėtų būti ne mažiau kaip 50 nanometrų.

Tarp artimiausio smailės maksimumo chromatogramoje ir priskirtosios analitės smailės ties 10 % analitės smailės maksimalaus aukščio turi būti mažiausiai vienos visos smailės pločio tarpas.

Naudojama analizuoti molekulėms, kurios natūraliai fluorescuoja, arba kurios fluorescuoja po transformavimosi arba derivatizacijos.

2 SKYRIUS

VALIDAVIMAS

2.1. Nustatomi analizės metodų veiksmingumo požymiai

Metodo validavimu įrodoma, kad analizės metodas atitinka tam tikriems veiksmingumo požymiams taikomus kriterijus. Įvairiais kontrolės tikslais taikomi skirtingų kategorijų metodai. 5 lentelėje nurodoma, kokie veiksmingumo požymiai tikrinami pagal kokio tipo metodą; kiekvienas parametras išsamiau paaiškintas šiame skirsnyje.

5 lentelė

Analizės metodų klasifikacija pagal tuos veiksmingumo požymius, kuriuos reikia nustatyti

Metodas	Patvirtinimas		Atrankinė patikra		
	Kokybinis	Kiekybinis	Kokybinis	Pusiau kiekybinis	Kiekybinis
Medžiagos	A	A, B	A, B	A, B	A, B
Identifikavimas pagal 1.2 skirsnį	x	x			
CCα	x	x			
CCβ	–		x	x	x
Teisingumas		x			x
Glaudumas		x		(x)	x
Santykinis matricos poveikis/ absoliučioji išgava *		x			x
Atrankumas (specifiškumas)		x	x	x	x
Stabilumas #		x	x	x	x
Atsparumas		x	x	x	x

x: Validavimu turi būti įrodyta, kad veiksmingumo požymiams keliami reikalavimai yra įvykdyti.
x) Taikant pusiau kiekybinius atrankinės patikros metodus, 1.2.2.2 skirsnyje nustatytų glaudumo reikalavimų įvykdyti nebūtina. Tačiau glaudumas nustatomas siekiant įrodyti metodo tinkamumą, kad būtų išvengta klaidingų sprendimų dėl neigiamų analizės rezultatų.
A: draudžiamos arba neleidžiamos naudoti medžiagos
B: leidžiamos naudoti medžiagos
Jei matricoje esančių analičių stabilumo duomenys yra prieinami mokslinėje literatūroje arba kitoje laboratorijoje, atitinkama laboratorija šių duomenų neturi nustatyti iš naujo. Tačiau turimais tirpale esančių analičių stabilumo duomenimis galima remtis tik tuo atveju, jeigu taikomos vienodos sąlygos.
* Svarbu taikant MS metodus, siekiant validavimu įrodyti, kad laikomasi veiksmingumo požymių reikalavimų. Santykinis metodo matricos poveikis nustatomas tada, kai šis poveikis nebuvo įvertintas atliekant validavimo procedūrą. Absoliučioji metodo išgava nustatoma, kai nenaudojamas vidinis etalonas arba matrica sodrintas kalibravimas.

2.2. Teisingumas, pakartojamumas ir atkuriamumas laboratorijoje

Šiame skirsnyje pateikti validavimo procedūrų pavyzdžiai ir nuorodos. Gali būti taikomi kiti būdai, kuriais įrodoma, kad metodas atitinka veiksmingumo kriterijus, su sąlyga, kad jais pasiekiamas toks pat informacijos lygis ir kokybė.

2.2.1. *Įprastinis validavimas*

Skaičiuojant parametrus įprastiniais metodais, reikia atlikti keletą atskirų eksperimentų. Reikia nustatyti kiekvieno žymaus pokyčio kiekvieną veiksmingumo požymį (žr. 2.4 skirsnį). Daugiaanalitiniais analizės metodais vienu metu galima analizuoti keletą analičių, jeigu panaikinta galinčios trukdyti interferencijos galimybė. Panašiu būdu galima nustatyti keletą veiksmingumo požymių. Todėl tam, kad būtų kuo mažiau darbo, patartina kuo labiau sujungti eksperimentus (pvz., pakartojamumo ir atkuriamumo vienoje laboratorijoje su specifiškumu, tuščiųjų mėginių analizės patvirtinimo sprendimo ribai nustatyti ir specifiškumo tyrimo).

2.2.1.1. Teisingumas remiantis sertifikuota pamatine medžiaga

Pageidautina analizės metodo teisingumą nustatyti naudojant sertifikuotą pamatinę medžiagą (SPM). Ši procedūra išsamiai aprašyta standarte ISO 5725–4:1994 ([2]).

Toliau pateikiamas pavyzdys:

1) laikantis tyrimo taikant tam tikrą metodą nurodymų, išanalizuojamos šešios SPM kopijos;

2) nustatomas kiekviename kopijų mėginyje esančios analitės kiekis;

3) apskaičiuojamas *šių šešių kopijų* vidurkis, standartinis nuokrypis ir variacijos koeficientas (%);

4) teisingumas apskaičiuojamas padalinant nustatytą koncentracijos vidurkį iš patvirtintos vertės (išmatuotos kaip koncentracija) ir padauginant iš 100, kad rezultatas būtų išreikštas procentais.

Teisingumas (%) = (koncentracijos vidurkis, pakoreguotas pagal išgavą), × 100/pridėtos analitės kiekis.

2.2.1.2. Teisingumas, pagrįstas sodrintais mėginiais

Jeigu sertifikuotos pamatinės medžiagos nėra, metodo teisingumas nustatomas eksperimentais, naudojant sodrintą tuščiąją matricą, bent pagal šią schemą:

1) taikant metodus, kurie buvo validuoti nuo šio reglamento įsigaliojimo dienos, pasirenkama tuščioji medžiaga ir sodrinama, kai koncentracija yra:

   a) 0,5 ([3]), 1,0 ir 1,5 karto didesnė už KAT, arba

   b) 0,1 ([4]), 1,0 ir 1,5 karto didesnė už DLLK arba DLK leidžiamų naudoti medžiagų atveju, arba

   c) 1,0, 2,0 ir 3,0 karto didesnė už leidžiamų naudoti medžiagų (kurių KAT buvo nustatytas) ŽKL;

2) kiekvienu lygiu analizė atliekama su šešiomis kopijomis;

3) mėginiai išanalizuojami;

4) apskaičiuojama nustatyta kiekvieno mėginio koncentracija;

5) kiekvieno mėginio teisingumas apskaičiuojamas pagal toliau pateiktą lygtį ir vėliau kiekvienu koncentracijos lygiu apskaičiuojamas šešių rezultatų teisingumo vidurkis ir variacijos koeficientas.

Teisingumas (%) = koncentracijos vidurkis, pakoreguotas pagal išgavą, × 100/pridėtos analitės kiekis.

Leidžiamų naudoti medžiagų atveju taikant metodus, kurie buvo validuoti iki šio reglamento taikymo pradžios dienos, pakanka metodo teisingumą nustatyti naudojant 6 sodrintus mėginius, 0,5, 1,0 ir 1,5 karto viršijant DLLK arba DLK.

([2]) ISO 5725–4:2020 „Matavimo metodų tikslumas (teisingumas ir glaudumas) ir įvertinimo rezultatai. 4 dalis. Pagrindiniai metodai standartinio matavimo metodo teisingumui nustatyti“ (3 straipsnis).

([3]) Jeigu neleidžiamos farmakologiškai aktyvios medžiagos validavimas, kai koncentracija yra 0,5 karto didesnė už KAT, yra neįmanomas, 0,5 karto didesnę už KAT koncentraciją galima pakeisti mažiausia praktiškai pasiekiama koncentracija, nuo 0,5 iki 1,0 karto viršijančia KAT.

([4]) Jeigu konkrečios farmakologiškai aktyvios medžiagos validavimas, kai koncentracija yra 0,1 karto didesnė už DLLK, yra neįmanomas, 0,1 karto didesnę už KAT koncentraciją galima pakeisti mažiausia praktiškai pasiekiama koncentracija, nuo 0,1 iki 0,5 karto viršijančia DLLK.

2.2.1.3. Pakartojamumas

1. Taikant metodus, kurie buvo validuoti nuo šio reglamento įsigaliojimo dienos, ruošiamas tos pačios rūšies identiškų tuščiųjų matricų mėginių rinkinys. Jie sodrinami analite, kad susidarytų tokia koncentracija:

   a) 0,5 ([5]), 1,0 ir 1,5 karto didesnė už KAT;

   b) 0,1 ([6]), 1,0 ir 1,5 karto didesnė už DLLK arba DLK leidžiamų naudoti medžiagų atveju;

   c) 1,0, 2,0 ir 3,0 karto didesnė už neleidžiamų naudoti arba draudžiamų medžiagų, kurioms netaikomas joks KAT, ŽKL.

2. Kiekvienu lygiu analizė atliekama ne mažiau kaip su šešiomis kopijomis.

3. Mėginiai išanalizuojami.

4. Apskaičiuojama nustatyta kiekvieno mėginio koncentracija.

5. Nustatomas sodrintų mėginių koncentracijos vidurkis, standartinis nuokrypis ir variacijos koeficientas (%).

6. Ši procedūra pakartojama mažiausiai du kartus.

7. Apskaičiuojamas bendras koncentracijos vidurkis, standartiniai nuokrypiai (apskaičiuojant atskirų atvejų standartinio nuokrypio kvadrato vidurkį ir iš jo ištraukiant šaknį) ir sodrintų mėginių variacijos koeficientai.

Leidžiamų naudoti medžiagų atveju taikant metodus, kurie buvo validuoti iki šio reglamento įsigaliojimo dienos, pakanka pakartojamumą nustatyti naudojant sodrintas matricas, 0,5, 1,0 ir 1,5 karto viršijant DLLK arba DLK.

Pakartojamumo apskaičiavimas taip pat gali būti atliekamas pagal standartą ISO 5725–2:2019 ([7]).

2.2.1.4. Atkuriamumas laboratorijoje

1. Siekiant atlikti validavimą po šio reglamento įsigaliojimo dienos, paruošiamas nurodytos bandomosios medžiagos (identiškų arba skirtingų matricų) mėginių rinkinys, sodrintas analite (-ėmis), kad susidarytų tokia koncentracija:

   a) 0,5([5]), 1,0 ir 1,5 karto didesnė už KAT;

   b) 0,1([6]), 1,0 ir 1,5 karto didesnė už DLLK arba DLK leidžiamų naudoti medžiagų atveju;

   c) 1,0, 2,0 ir 3,0 karto didesnė už neleidžiamų naudoti arba draudžiamų medžiagų, kurioms netaikomas joks KAT, ŽKL.

2. Kiekvienu koncentracijos lygiu analizė atliekama ne mažiau kaip su šešiomis tuščiosios medžiagos kopijomis.

3. Mėginiai išanalizuojami.

4. Apskaičiuojama nustatyta kiekvieno mėginio koncentracija.

([5]) Jeigu neleidžiamos farmakologiškai aktyvios medžiagos validavimas, kai koncentracija yra 0,5 karto didesnė už KAT, yra neįmanomas, 0,5 karto didesnę už KAT koncentraciją galima pakeisti mažiausia praktiškai pasiekiama koncentracija, nuo 0,5 iki 1,0 karto viršijančia KAT.

([6]) Jeigu konkrečios farmakologiškai aktyvios medžiagos validavimas, kai koncentracija yra 0,1 karto didesnė už DLLK, yra neįmanomas, 0,1 karto didesnę už KAT koncentraciją galima pakeisti mažiausia praktiškai pasiekiama koncentracija, nuo 0,1 iki 0,5 karto viršijančia DLLK.

([7]) ISO 5725–2:2019 „Matavimo metodų tikslumas (teisingumas ir glaudumas) ir įvertinimo rezultatai. 2 dalis. Pagrindinis metodas standartinio matavimo metodo pakartojamumui ir palyginamumui nustatyti“ (3 skirsnis).

5. Ši procedūra pakartojama mažiausiai du kartus, naudojant skirtingas tuščiosios medžiagos partijas, dirbant skirtingiems operatoriams ir esant kuo daugiau skirtingų aplinkos sąlygų, pvz., skirtingoms reagentų, tirpiklių partijoms, skirtingai patalpos temperatūrai, skirtingiems prietaisams ar kitų parametrų įvairovei.

6. Nustatomas sodrintų mėginių koncentracijos vidurkis, standartinis nuokrypis ir variacijos koeficientas (%).

Leidžiamų naudoti medžiagų atveju taikant metodus, kurie buvo validuoti iki šio reglamento įsigaliojimo dienos, pakanka atkuriamumą laboratorijoje nustatyti naudojant sodrintas matricas, 0,5, 1,0 ir 1,5 karto viršijant DLLK arba DLK.

Atkuriamumo ir (arba) tarpinio glaudumo apskaičiavimas laboratorijoje taip pat gali būti atliekamas pagal ISO 5725–2:2019, ISO 11843–1:1997 ([8]), Codex CAC/GL 59–2006 ([9]).

2.2.2. *Validavimas alternatyviais būdais*

Skaičiuojant parametrus alternatyviais metodais, reikia parengti eksperimento planą. Eksperimento planas turi būti sudarytas atsižvelgiant į skirtingų biologinių rūšių skaičių ir įvairius tiriamus veiksnius. Taigi, pirmasis visos validavimo procedūros etapas – įvertinti mėginių populiacijas, kurios bus analizuojamos laboratorijoje ateityje, siekiant nustatyti svarbiausias rūšis ir veiksnius, kurie gali turėti įtakos matavimo rezultatams. Faktorinės analizės metodas leidžia įvertinti tyrimo rezultatų matavimo neapibrėžtį, gautą tam tikroje laboratorijoje įvairiomis tyrimo sąlygomis, pvz., dirbant skirtingiems analitikams, naudojant skirtingus instrumentus, skirtingas reagentų partijas, skirtingas matricas, tyrimą atliekant skirtingą laiką ir skirtingoje temperatūroje. Vėliau koncentracijos intervalas turi būti pasirenkamas pagal paskirtį, atsižvelgiant į leidžiamų medžiagų DLLK ar DLK arba draudžiamų ar neleidžiamų naudoti medžiagų KAT ar ŽKL.

Faktorinės analizės metodu siekiama nustatyti patikimus glaudumo duomenis ir matavimo duomenis, vienu metu kontroliuojant pasirinktų veiksnių variacijas. Tai leidžia įvertinti bendrą faktoriaus ir atsitiktinio poveikio įtaką. Eksperimento planavimas taip pat leidžia ištirti analizės metodo atsparumą ([10]) ir nustatyti vidinio atkuriamumo standartinį nuokrypį tarp matricų.

Toliau pateikiamas alternatyvaus metodo, naudojant ortogonalųjį eksperimento planą, pavyzdys.

Galima ištirti ne daugiau kaip septynis veiksnius (triukšmo veiksnius). Tyrimas parengtas taip, kad glaudumą, teisingumą (pagrįstą sodrintais mėginiais), jautrumą, matavimo neapibrėžtį ir ribines koncentracijas būtų galima nustatyti vienu metu, įgyvendinant eksperimentinį planą.

6 lentelė

Dviejų lygių (A/B) ortogonalaus eksperimento plano su 7 veiksniais (I–VII) aštuonių bandymo kartų (veiksnių lygio derinio) validavimo tyrime pavyzdys

Veiksnys	I	II	III	IV	V	VI	VII
01 bandymo kartas	A	A	A	A	A	A	A
02 bandymo kartas	A	A	B	A	B	B	B
03 bandymo kartas	A	B	A	B	A	B	B
04 bandymo kartas	A	B	B	B	B	A	A

([8]) ISO 11843-1:1997 „Aptikimo geba. 1 dalis. Sąvokos ir apibrėžtys“.

([9]) Maisto kodekso komisija, Jungtinių Tautų Maisto ir žemės ūkio organizacija, Pasaulio sveikatos organizacija, „Rezultatų neapibrėžties vertinimo gairės“ (CAC/GL 59-2006).

([10]) Nurodytus eksperimentinių sąlygų pokyčius gali sudaryti mėginių medžiagos, analitės, laikymo sąlygos, aplinkos ir (arba) mėginio paruošimo sąlygos. Turi būti nurodomi visų eksperimentinių sąlygų, kurios iš tikrųjų gali kisti (pvz., reagentų stabilumas, mėginio sudėtis, pH, temperatūra), pokyčiai, kurie gali turėti įtakos analizės rezultatams.

05 bandymo kartas	B	A	A	B	B	A	B
06 bandymo kartas	B	A	B	B	A	B	A
07 bandymo kartas	B	B	A	A	B	B	A
08 bandymo kartas	B	B	B	A	A	A	B

Metodo požymiai apskaičiuojami taip, kaip aprašo Jülicher et al. ([11]).

2.2.3. *Kiti validavimo metodai*

Gali būti taikomi kiti būdai, kuriais įrodoma, kad metodas atitinka veiksmingumo požymių veiksmingumo kriterijus, su sąlyga, kad jais pasiekiamas toks pat informacijos lygis ir kokybė. Validuoti galima ir atlikus tarplaboratorinį lyginamąjį tyrimą taip, kaip nurodyta Maisto kodekse, ISO arba IUPAC ([12]), arba alternatyviais metodais, pvz., tyrimais vienoje laboratorijoje arba vietiniu validavimu ([13]). Kai vykdomos alternatyvios validavimo procedūros, jų būdas, strategija, išankstinės sąlygos, prielaidos ir formulės surašomos validavimo protokole arba bent pateikiamos nuorodos, kur visa tai yra pateikta.

2.3. **Atrankumas (specifiškumas)**

Kuo geriau nustatoma analitės ir glaudžiai susijusių medžiagų skiriamoji geba. Nustatoma homologų, izomerų, skilimo produktų, endogeninių medžiagų, analogų, dominančių liekanų metabolinių produktų, matricos junginių ar bet kurios kitos galimai trukdančiosios medžiagos interferencija ir, jeigu reikia, metodas turi būti koreguojamas, kad būtų išvengta nustatytų interferencijų. Metodo specifiškumui nustatyti turi būti taikomas šis metodas:

1) pasirenkami tam tikri chemiškai giminingi junginiai ar kitos medžiagos, kurie gali turėti sąlytį su dominančiu junginiu ir kurių gali būti mėginiuose, ir patikrinama, ar jie gali trukdyti tikslinės (-ių) analitės (-ių) analizei;

2) išanalizuojamas reikiamas pavyzdinių tuščiųjų mėginių skaičius, pvz., skirtingos partijos arba skirtingų rūšių gyvūnų partijos ($n \geq 20$) ir patikrinama, ar dominančioje srityje, kurioje turėtų būti išplauta tikslinė analitė, nėra interferencijos signalų, smailių, jonų pėdsakų;

3) pavyzdiniai tuštieji mėginiai sodrinami iki reikiamos koncentracijos medžiagomis, kurios galėtų trukdyti identifikuoti ir (arba) kiekybiškai įvertinti analitę, ir patikrinama, ar pridėta medžiaga:

   a) gali lemti klaidingą identifikavimą;

   b) trukdo identifikuoti tikslinę analitę;

   c) žymiai paveikia kiekio nustatymo rezultatus.

2.4. **Atsparumas**

Analizės metodo tęstinio veiksmingumo bandymai turi būti atliekami įvairiomis eksperimentinėmis sąlygomis, pvz., skirtingomis mėginių ėmimo sąlygomis ir esant nežymiems pokyčiams, kurie gali įvykti atliekant įprastus tyrimus. Tikrinant metodo atsparumą, eksperimento sąlygų pakeitimai turėtų būti nedideli. Įvertinama šių pakeitimų svarba. Turi būti nustatomi visų nežymių pokyčių, kurie smarkiai keičia analizės veiksmingumo charakteristikas, veiksmingumo požymiai.

([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. **Stabilumas**

Turi būti nustatomas kalibravimo etalono, matricą atitinkančio etalono ir (arba) matrica sodrintų etalonų ir analitės ar matricos sudedamųjų dalių stabilumas mėginyje laikymo arba analizės metu, nes nestabilumas gali turėti įtakos tyrimo rezultatams.

Paprastai analitės stabilumas gerai apibūdinamas pagal įvairias laikymo sąlygas. Eksperimentai, skirti etalonų ir mėginių laikymo sąlygoms stebėti, atliekami kaip įprastos laboratorijos akreditavimo ir kokybės kontrolės sistemos dalis, gali suteikti reikiamos informacijos. Jei turima matricoje esančių analičių stabilumo duomenų (pvz., remiantis ES etaloninių laboratorijų pateikta informacija, paskelbtais duomenimis ir kt.), šių duomenų kiekvienai laboratorijai nustatyti nereikia. Tačiau turimais tirpale ir matricoje esančių analičių stabilumo duomenimis galima remtis tik tuo atveju, jeigu taikomos vienodos sąlygos.

Jei reikiamų stabilumo duomenų nėra, turėtų būti taikomi toliau nurodyti metodai.

2.5.1. *Analitės stabilumo tirpale nustatymas*

1. Paruošiami švieži pradiniai analitės (-ių) tirpalai ir jie atskiedžiami taip, kaip nurodyta tyrimo nurodymuose reikiamam kiekvienos pasirinktos koncentracijos mėginių skaičiui gauti (pvz., 40). Mėginiai paruošiami iš:

   a) analitės tirpalų, naudojamų sodrinimui;

   b) analitės tirpalų, naudojamų galutinei analizei;

   c) bet kokio kito dominančio tirpalo (pvz., derivatinių etalonų).

2. Pagal tyrimo nurodymus išmatuojamas analitės kiekis šviežiai paruoštame tirpale.

3. Atitinkamas tūris išpilstomas į tinkamas talpas, paženklinamas ir laikomas pagal 7 lentelėje pateiktoje schemoje nustatytas šviesos ir temperatūros sąlygas. Laikymo trukmė pasirenkama atsižvelgiant į taikomą analitinę praktiką, geriausia – kol identifikavimo ir (arba) kiekybinio nustatymo metu bus pastebimi pirmieji irimo požymiai. Jei stabilumo tyrimo metu irimo požymių nepastebima, stabilumo tyrimo laikymo trukmė turi būti lygi ilgiausio tirpalo laikymo laikotarpio trukmei.

4. Analitės (-ių) koncentracija kiekviename mėginyje skaičiuojama prilyginant ją šviežiai paruoštam analitės tirpalui pagal toliau pateiktą formulę:

$$\text{Likusi analitė (\%)} = C_i \times 100/C_{\text{švież.}}$$

C_i = koncentracija laiko momentu i

$C_{\text{švież.}}$ = šviežio tirpalo koncentracija

Penkių kartotinių mėginių tirpalų, kurie buvo saugojami, vidutinė vertė nuo penkių naujai paruoštų kartotinių mėginių tirpalų vidutinės vertės neturi skirtis daugiau kaip 15 %. Apskaičiuojant procentinį skirtumą turi būti remiamasi penkių naujai paruoštų tirpalų vidutine verte.

7 lentelė

Analitės stabilumo tirpale nustatymo schema

	–20 °C	+4 °C	+20 °C
Tamsa	10 mėginių	10 mėginių	10 mėginių
Šviesa			10 mėginių

2.5.2. *Analitės (-ių) stabilumo matricoje nustatymas*

1. Jeigu įmanoma, naudojami natūralūs mėginiai. Jeigu natūralios matricos nėra, turi būti naudojama tuščioji matrica, sodrinta analite.

2. Kai turima natūrali matrica, jos koncentracija nustatoma, kol matrica dar šviežia. Kiti homogenizuotos natūralios matricos mėginiai laikomi −20 °C, o jei reikia – žemesnėje temperatūroje ir analitės koncentracija nustatinėjama tol, kol mėginys laikomas laboratorijoje.

3. Jei natūralios matricos neturima, imama tuščioji matrica ir homogenizuojama. Matrica padalijama į penkis mėginius. Kiekvienas mėginys sodrinamas tokia analite, kurią geriausia paruošti mažame kiekyje vandens tirpalo. Mėginys tuoj pat išanalizuojamas. Likę mėginiai laikomi bent jau −20 °C, o jei reikia – žemesnėje temperatūroje ir analizuojami po trumpo, vidutinės trukmės ir ilgo saugojimo, atsižvelgiant į taikomus analizės metodus.

4. Užregistruojama ilgiausioji laikymo trukmė ir optimalios saugojimo sąlygos.

Penkių kartotinių mėginių tirpalų, kurie buvo saugomi, vidutinė vertė nuo penkių naujai paruoštų kartotinių mėginių tirpalų vidutinės vertės neturi skirtis daugiau nei metodo atkuriamumu laboratorijoje. Apskaičiuojant procentinį skirtumą turi būti remiamasi penkių naujai paruoštų tirpalų vidutine verte.

2.6. **Patvirtinimo sprendimo riba (CCα)**

CCα turi būti nustatoma patvirtinamiesiems metodams. CCα turi būti nustatoma laikantis identifikacijos arba identifikacijos bei kiekio nustatymo reikalavimų taip, kaip nurodyta 1 skyriuje, skirsnyje „Analizės metodų veiksmingumo kriterijai ir kiti reikalavimai“.

Tikrinant mėginių atitiktį, CCα vertėje (patvirtinimo sprendimo riboje) jau atsižvelgta į bendrą standartinę matavimo neapibrėžtį.

1. Neleidžiamų naudoti arba uždraustų farmakologiškai aktyvių medžiagų CCα turi būti apskaičiuojama taip:

   a) 1 metodas: kalibravimo kreivės procedūra pagal standartą ISO 11843-1:1997 ([14]) (čia vadinama grynojo būsenos kintamojo kritine verte). Šiuo atveju turi būti naudojama tuščioji medžiaga, kuri tolygiais žingsniais sodrinama iki ir virš KAT arba ŽKL. Mėginiai išanalizuojami. Po identifikavimo, jeigu įmanoma, nubraižoma signalo arba perskaičiuotos koncentracijos funkcijos pridėtos koncentracijos atžvilgiu kreivė. Sprendimo riba yra koncentracija ties sankirta su y ašimi plius 2,33 karto padaugintas atkuriamumo laboratorijoje standartinis nuokrypis ties sankirta. Tai galioja tik kiekybinei analizei. Taikant šį metodą gautos sprendimo ribos turi būti patikrinamos analizuojant tuščiąją matricą, sodrintą ties apskaičiuota sprendimo riba.

   b) 2 metodas: analizuojant ne mažiau kaip po 20 pavyzdinių tuščiųjų medžiagų vienoje matricoje, kad būtų galima apskaičiuoti signalo ir triukšmo santykį tuo laiko tarpu, kuriuo tikimasi analitės. Sprendimo riba gali būti triguba signalo ir triukšmo santykio vertė. Tai galioja kiekybinei ir kokybinei analizei. Taikant šį metodą gautos sprendimo ribos turi būti patikrinamos analizuojant tuščiąją matricą, sodrintą ties apskaičiuota sprendimo riba.

   c) 3 metodas: CCα = ŽKL + k (vienpusis, 99 %) × (sudėtinė) standartinė matavimo neapibrėžtis ties ŽKL.

      Neleidžiamų naudoti arba draudžiamų farmakologiškai aktyvių medžiagų atveju, atsižvelgiant į validavimo eksperimentą (ir atitinkamą jo laisvės laipsnį), galima pagrįstai taikyti t skirstinį arba, jeigu remiamasi Gauso skirstiniu (vienpusiu, n=∞), turi būti taikomas k faktorius, lygus 2,33.

      Atkuriamumas laboratorijoje ir teisingumas yra tinkami (sudėtinei) standartinei matavimo neapibrėžčiai nustatyti, jeigu ji nustatoma atsižvelgiant į visus svarbius įtaką darančius veiksnius.

   2 metodas CCα apskaičiuoti gali būti taikomas tik iki 2026 m. sausio 1 d., jeigu metodai buvo validuoti iki šio reglamento įsigaliojimo dienos. Taikant metodus, validuotus po šio reglamento įsigaliojimo dienos, naudojami tik 1 arba 3 metodai.

([14]) ISO 11843-1:1997 „Aptikimo geba. 1 dalis. Sąvokos ir apibrėžtys“.

2. Leidžiamų naudoti CCα turi būti apskaičiuojama taip:

a) Leidžiamų naudoti medžiagų matricose arba rūšyse, kurių DLLK arba DLK nebuvo nustatyta:

i) 1 metodas: kalibravimo kreivės procedūra pagal standartą ISO 11843–1:1997 (čia vadinama grynojo būsenos kintamojo kritine verte). Šiuo atveju turi būti naudojama tuščioji medžiaga, kuri tolygiais žingsniais sodrinama iki ir virš DLLK arba DLK. Mėginiai išanalizuojami. Po identifikavimo, jeigu įmanoma, nubraižoma signalo arba perskaičiuotos koncentracijos funkcijos pridėtos koncentracijos atžvilgiu kreivė. Sprendimo riba yra koncentracija ties DLLK arba DLK plius 1,64 karto padidintas atkuriamumo laboratorijoje ties leistinu kiekiu standartinis nuokrypis (α = 5 %);

ii) 2 metodas: CCα = DLLK (arba DLK) + k (vienpusis, 95 %) × (sudėtinė) standartinė matavimo neapibrėžtis ties DLLK arba DLK.

Leidžiamų naudoti medžiagų atveju, atsižvelgiant į validavimo eksperimentą (ir atitinkamą jo laisvės laipsnį), galima pagrįstai taikyti t skirstinį arba, jeigu remiamasi Gauso skirstiniu (vienpusiu, n=∞), turi būti taikomas k faktorius, lygus 1,64.

Atkuriamumas laboratorijoje ir teisingumas yra tinkami (sudėtinei) standartinei matavimo neapibrėžčiai nustatyti, jeigu ji nustatoma atsižvelgiant į visus svarbius įtaką darančius veiksnius.

Farmakologiškai aktyvių medžiagų, kurioms nustatyta įvairių medžiagų bendra DLLK, atveju medžiagos, kurios koncentracija mėginyje yra didžiausia, CCα turi būti naudojama kaip CCα, siekiant įvertinti medžiagų sumą tiriamame mėginyje.

b) Leidžiamų naudoti medžiagų matricų arba rūšių derinių, kurių DLLK nebuvo nustatyta, atveju liekanų neturi būti, išskyrus atvejus, kai buvo atliktas apdorojimas leidžiamais būdais pagal Direktyvos 2001/82/EB 11 straipsnį. Leidžiamų naudoti medžiagų, kurių DLLK nenustatyta, apskaičiuojant CCα turi būti naudojama kaskadinė DLLK, nustatyta Komisijos įgyvendinimo reglamentu (ES) 2018/470 ([15]). Turi būti taikomas pirmesnėje pastraipoje nurodytas 1 arba 2 metodas, tačiau DLLK reiškia 0,5 karto padidintą kaskadinę DLLK, kai siekiama 0,1 karto padidintos kaskadinės DLLK, kai tai pagrįstai įmanoma.

2.7. **Atrankinės patikros aptikimo geba (CCβ)**

CCβ turi būti nustatoma atrankiniams metodams. CCβ turi būti nustatoma taip, kaip apibrėžta šio priedo 1 skyriuje, skirsnyje „Analizės metodų veiksmingumo kriterijai ir kiti reikalavimai“, ir pagal 5 lentelėje nustatytus reikalavimus. Tačiau visų identifikavimo reikalavimų (plg. 1.2.3, 1.2.4, 1.2.5 skirsnius) atrankiniams metodams taikyti nereikia.

1. Neleidžiamų naudoti arba draudžiamų farmakologiškai aktyvių medžiagų atveju turi būti užtikrinama ne didesnė kaip 5 % antrosios rūšies klaida. CCβ apskaičiuojama taip:

a) 1 metodas: kalibravimo kreivės procedūra pagal standartą ISO 11843–1:1997 (čia vadinama grynojo būsenos kintamojo mažiausia aptinkama verte). Šiuo atveju turi būti naudojama tuščioji medžiaga, kuri tolygiais žingsniais sodrinama iki ir žemiau KAT arba, jeigu KAT nebuvo nustatytas, apytiksliai iki STC. Mėginiai išanalizuojami. Nubraižoma signalo funkcijos pridėtos koncentracijos atžvilgiu kreivė. Aptikimo geba yra koncentracija ties STC plius 1,64 karto padidintas išmatuoto kiekio vidurkio atkuriamumo laboratorijoje standartinis nuokrypis ties STC. Ekstrapoliacija, kuri yra gerokai mažesnė už mažiausią pridėtos analitės kiekį (< 50 % mažiausio pridėtos analitės kiekio), patvirtinama eksperimentiniais duomenimis validavimo etape.

b) 2 metodas: sodrintos tuščiosios medžiagos tyrimas esant STC ir didesnei koncentracijai. Siekiant užtikrinti patikimą šio nustatymo pagrindą, turi būti analizuojama 20 kiekvieno koncentracijos lygio sodrintų tuščiųjų mėginių. Metodo aptikimo geba yra koncentracijos lygis, kuriam esant lieka tik ≤ 5 % neteisingų sprendimų dėl neigiamo rezultato.

c) 3 metodas: CCβ = STC + k (vienpusis, 95 %) × (sudėtinė) standartinė matavimo neapibrėžtis ties arba virš STC.

([15]) 2018 m. kovo 21 d. Komisijos įgyvendinimo reglamentas (ES) 2018/470 dėl išsamių kontrolės tikslais taikomos didžiausios leidžiamosios liekanų koncentracijos maisto produktuose, gautuose iš gyvūnų, gydytų ES pagal Direktyvos 2001/82/EB 11 straipsnį, taisyklių (OL L 79, 2018 3 22, p. 16).

Neleidžiamų naudoti arba draudžiamų farmakologiškai aktyvių medžiagų atveju, atsižvelgiant į validavimo eksperimentą (ir atitinkamą jo laisvės laipsnį), galima pagrįstai taikyti t skirstinį arba, jeigu remiamasi Gauso skirstiniu (vienpusiu, n=∞), turi būti taikomas k faktorius, lygus 1,64.

Atkuriamumas laboratorijoje ir teisingumas yra tinkami (sudėtinei) standartinei matavimo neapibrėžčiai nustatyti, jeigu ji nustatoma atsižvelgiant į visus svarbius įtaką darančius veiksnius.

2. Leidžiamų naudoti medžiagų atveju turi būti užtikrinama ne didesnė kaip 5 % β paklaida. CCβ apskaičiuojama taip:

a) 1 metodas: kalibravimo kreivės procedūra pagal standartą ISO 11843-1:1997 (čia vadinama grynojo būsenos kintamojo mažiausia aptinkama verte). Šiuo atveju turi būti naudojama tuščioji medžiaga, kuri tolygiais žingsniais, pradedant nuo STC, sodrinama iki ir žemiau leistino kiekio. Mėginiai išanalizuojami ir identifikuojama (-os) analitė (-ės). Apskaičiuojamas išmatuoto kiekio vidurkio standartinis nuokrypis ties STC.

Aptikimo geba yra koncentracija ties STC plius 1,64 karto padidintas išmatuoto kiekio vidurkio atkuriamumo laboratorijoje standartinis nuokrypis ties STC.

b) 2 metodas: sodrintos tuščiosios medžiagos tyrimas, kai koncentracija yra mažesnė leistiną kiekį. Siekiant užtikrinti patikimą šio nustatymo pagrindą, turi būti analizuojama 20 kiekvieno koncentracijos lygio sodrintų tuščiųjų mėginių. Metodo aptikimo geba yra koncentracijos lygis, kuriame lieka tik ≤ 5 % neteisingų sprendimų dėl neigiamo rezultato.

c) 3 metodas: CCβ = STC + k (vienpusis, 95 %) × (sudėtinė) standartinė matavimo neapibrėžtis ties arba virš STC.

Leidžiamų naudoti medžiagų atveju, atsižvelgiant į validavimo eksperimentą (ir atitinkamą jo laisvės laipsnį), galima pagrįstai taikyti t skirstinį arba, jeigu remiamasi Gauso skirstiniu (vienpusiu, n=∞), turi būti taikomas k faktorius, lygus 1,64 (tai, kam naudojama kaskadinė arba įprasta DLLK).

Atkuriamumas laboratorijoje ir teisingumas yra tinkami (sudėtinei) standartinei matavimo neapibrėžčiai nustatyti, jeigu ji nustatoma atsižvelgiant į visus svarbius įtaką darančius veiksnius.

Farmakologiškai aktyvių medžiagų, kurioms nustatyta įvairių medžiagų bendra DLLK, atveju medžiagos, kurios koncentracija mėginyje yra didžiausia, CCβ turi būti naudojama kaip CCβ, siekiant įvertinti medžiagų sumą tiriamame mėginyje.

2.8. **Kalibravimo kreivės**

Kai kiekiui nustatyti naudojamos kalibravimo kreivės:

1) kreivei sudaryti naudojami ne mažiau kaip penki, pageidautina, vienodi lygiai (įskaitant nulinį lygį);

2) nurodoma kreivės darbinė sritis;

3) nurodoma kreivės matematinė formulė ir duomenų atitikties su kreive laipsnis (determinacijos koeficientas R^2);

4) nurodoma kreivės parametrų priimtinumo sritis.

Naudojant kalibracines kreives, pagrįstas etaloniniu tirpalu, matricą atitinkančiu etalonu arba matrica sodrintais etalonais, nurodomi kalibravimo kreivės parametrų, kurie gali skirtis priklausomai nuo serijos, priimtini intervalai.

2.9. **Absoliučioji išgava**

Absoliučioji metodo išgava nustatoma, kai nenaudojamas vidinis etalonas arba matrica sodrintas kalibravimas.

Jeigu įvykdomi 1 lentelėje nustatyti teisingumo reikalavimai, gali būti taikomas fiksuotas pataisos koeficientas. Priešingu atveju turi būti naudojamas tai konkrečiai partijai nustatytas išgavos koeficientas. Kaip alternatyva, vietoje išgavos pataisos koeficiento naudojamas etalono pridėjimo metodas ([16]) arba vidinis etalonas.

Absoliučioji išgava turi būti apskaičiuojama bent šešioms pavyzdinėms matricos partijoms.

Prieš ekstrahavimą analite turi būti sodrinamas tuščiosios matricos mėginys, o antrasis tuščiosios matricos mėginys turi būti sodrinamas po mėginio paruošimo atitinkamu koncentracijos lygiu ir turi būti nustatoma analitės koncentracija.

Išgava apskaičiuojama taip:

Išgav. (analitės) = (matrica sodrinto etalono plotas)/(matricą atitinkančio etalono plotas) × 100

2.10. **Santykinis matricos poveikis**

Santykinis matricos poveikis turi būti nustatomas visais atvejais. Tai galima padaryti atliekant validavimo procedūrą arba atskirus eksperimentus. Santykinis matricos poveikis apskaičiuojamas bent 20 skirtingų tuščiųjų matricos ir (arba) rūšių partijų, atsižvelgiant į metodo taikymo sritį, pvz., skirtingas rūšis, kurios turi būti įtrauktos.

Tuščioji matrica, po ekstrahavimo analite ties KAT, DLLK arba DLK, turėtų būti sodrinta ir analizuojama kartu su grynu analitės tirpalu.

Santykinis matricos poveikis arba matricos faktorius (MF) apskaičiuojamas taip:

$$\text{MF (etalonas)} = \frac{\text{etalono MAE smailės plotas}}{\text{etaloninio tirpalo smailės plotas}}$$

$$\text{MF (IS)} = \frac{\text{MAE IS smailės plotas}}{\text{IS tirpalo smailės plotas}}$$

$$\text{MF (normalizuotas VE etalonas)} = \frac{\text{MF (etalonas)}}{\text{MF (IS)}}$$

VE: vidinis etalonas

MAE: matricą atitinkantis etalonas

MF (normalizuoto VE etalono) variacijos koeficientas turi būti ne didesnis kaip 20 %.

3 SKYRIUS

KOKYBĖS KONTROLĖ ATLIEKANT ĮPRASTINĘ ANALIZĘ. NUOLATINIS METODO VEIKSMINGUMO TIKRINIMAS

Laikomasi standarto ISO/IEC 17025:2017 ([17]) 7.7 skyriuje nustatytų analizės rezultatų kokybės užtikrinimo reikalavimų.

Atliekant įprastinę analizę, siekiant įrodyti metodo veiksmingumą, pageidautina atlikti sertifikuotų pamatinių medžiagų (SPM) analizę. Kadangi SPM, kuriose yra atitinkamų reikiamo koncentracijos lygio analičių, retai būna prieinamos, kaip alternatyva gali būti naudojamos pamatinės medžiagos, kurias teikia ir apibūdina ES etaloninės laboratorijos arba laboratorijos, turinčios ISO/IEC 17043:2010 ([18]) akreditaciją. Kaip kita alternatyva gali būti naudojamos savos reguliariai kontroliuojamos pamatinės medžiagos.

Nuolatinis metodo veiksmingumo tikrinimas atliekant įprastinę analizę turėtų būti atliekamas atrankinės patikros etapu ir patvirtinamuoju etapu.

([16]) Etaloninės analitės pridedama, pavyzdžiui, du–penkis kartus daugiau, nei numatomas analitės kiekis mėginyje. Ši procedūra skirta analitės kiekiui mėginyje nustatyti atsižvelgiant į analizės procedūros aptinkamosios dalies rodiklį.

([17]) ISO/IEC 17025: 2017 „Bendrieji bandymų ir kalibravimo laboratorijų kompetencijos reikalavimai“ (7.7 skyrius).

([18]) ISO/IEC 17043:2010 „Atitikties įvertinimas. Bendrieji kvalifikacijos tikrinimo reikalavimai“.

1. Atrankinės patikros etapu:

   tuo pačiu metu analizuojamas kiekvienos atliktos analizės serijos (partijos) toliau pateiktų kokybės kontrolės mėginių rinkinys:

   a) kontrolinis mėginys priemonės tinkamumui sistemai nustatyti, geriausia – būdingas konkrečiam metodui;

   b) leidžiamų naudoti farmakologiškai aktyvių medžiagų, taip pat draudžiamų arba neleidžiamų naudoti medžiagų atrankinės patikros kokybės kontrolės mėginiai, sodrinti iki arti STC, o geriausia – ties CCβ esančios koncentracijos;

   c) neigiamas kontrolinis mėginys (tuštieji mėginiai) ir, jeigu reikia, reagento tuštieji mėginiai.

2. Patvirtinamuoju etapu:

   tuo pačiu metu analizuojamas kiekvienos atliktos analizės serijos (partijos) toliau pateiktų kokybės kontrolės mėginių rinkinys:

   a) kontrolinis mėginys priemonės tinkamumui sistemai nustatyti, geriausia – būdingas konkrečiam metodui;

   b) kokybės kontrolės mėginiai, leidžiamų naudoti farmakologiškai aktyvių medžiagų atveju sodrinti iki DLLK arba DLK artimos koncentracijos arba, jeigu naudojamos draudžiamos arba neleidžiamos naudoti medžiagos (teigiami kontroliniai mėginiai) – iki KAT ar ŽKL artimos koncentracijos;

   c) neigiamas kontrolinis mėginys (tuštieji mėginiai) ir, jeigu reikia, reagento tuštieji mėginiai.

Rekomenduojama tokia kokybės kontrolės mėginių tvarka: kontrolinis mėginys priemonės tinkamumui sistemai nustatyti, neigiamas kontrolinis mėginys, patvirtintinas (-i) mėginys (-iai), vėl neigiamas kontrolinis mėginys ir sodrintas kokybės kontrolės mėginys (teigiami kontroliniai mėginiai).

Kiekybinių metodų, naudojant kiekvieną oficialių mėginių partiją, atveju kalibravimo kreivė turi būti analizuojama ir matuojama prieš analizuojant pirmiau išvardytus mėginius arba po to.

Kai praktiškai tikslinga ir įmanoma, visų tikslinių analičių teigiamuose kontroliniuose mėginiuose teisingumas (remiantis sodrintais mėginiais) turi būti įvertinamas naudojant kokybės kontrolės diagramas pagal standarto ISO/IEC 17025:2017 7.7 skyrių. Jeigu tam reikia neproporcingai daug teisingumo nustatymų, analičių skaičius gali būti sumažintas iki pavyzdinių analičių skaičiaus.

4 SKYRIUS

ANKSČIAU VALIDUOTO METODO PATVIRTINTOS TAIKYMO SRITIES IŠPLĖTIMAS

Kartais būtina išplėsti anksčiau visapusiškai validuoto metodo taikymo sritį. Tokiais atvejais taikymo sritis turėtų būti išplėsta veiksmingu ir analitiškai patikimu būdu. Tai galima pasiekti validavimo procedūros metu naudojant mažesnį mėginių skaičių (pvz., pusę mėginių skaičiaus), palyginti su išsamiu validavimu.

Nepaisant to, pakeitimų, kurie validuojami naudojant vieną supaprastintą validavimo schemą, tipas ir skaičius visada grindžiami praktinėmis žiniomis ir ankstesne patirtimi, pvz., keičiant aptikimo metodą, bet kuriuo atveju reikėtų išsamaus validavimo.

Apskritai, siekiant užtikrinti nuolatinį metodo pagrįstumą, jo veiksmingumas nuolat stebimas ir palyginamas su iš pradžių gautais validavimo parametrais. Geriausia, jei ši nuolatinė metodo veiksmingumo kontrolė sukurta taip, kad trūkstamus duomenis, reikalingus išsamiam validavimui, laikui bėgant būtų galima surinkti (pvz., pasinaudojus keliais KK mėginių duomenų taškais kiekvienoje analitinėje serijoje).

4.1. **Metodo taikymo srities, susijusios su koncentracijų intervalu, išplėtimas**

Pasikeitus DLLK, DLK ir KAT, gali prireikti pakoreguoti koncentracijos intervalą, kuriam metodas yra validuotas. Tokiu atveju supaprastintos validavimo schemos taikymas yra priimtinas.

Pakoreguoto intervalo kalibravimo kreivės turėtų būti parengtos pagal patvirtintą metodiką. Turėtų būti analizuojamos skirtingos partijos, sodrintos iki skirtingo koncentracijos lygio (plg. 2.2.1, 2.2.2 skirsnius). Teisingumas, pakartojamumas ir atkuriamumas laboratorijoje (tarpinis glaudumas) turėtų atitikti priimtiną intervalą, palyginti su iš pradžių validuoto metodo teisingumu, pakartojamumu ir atkuriamumu laboratorijoje / tarpiniu glaudumu. Kai reikia, turėtų būti perskaičiuotos CCβ (atrankiniai metodai) ir CCα (patvirtinimo metodai).

4.2. **Metodo taikymo srities, susijusios su papildomomis medžiagomis, išplėtimas**

Paprastai metodą papildomiems junginiams galima taikyti tik naudojant analites, kurių struktūra ir požymiai yra panašūs į tų analičių, kurioms jau taikomas tas analizės metodas. Tokiu atveju supaprastintos validavimo schemos taikymas yra priimtinas. Taip pat negalima nukrypti nuo metodo aprašymo.

Papildomų medžiagų kalibravimo kreivės turėtų būti parengtos pagal patvirtintą metodiką. Turėtų būti analizuojamos skirtingos matricos medžiagų partijos, sodrintos iki skirtingo koncentracijos lygio (plg. 2.2.1, 2.2.2 skirsnius). Teisingumas, pakartojamumas ir atkuriamumas laboratorijoje (tarpinis glaudumas) turėtų būti panašūs į kitų analičių, kurioms taikomas iš pradžių validuotas metodas, teisingumą, pakartojamumą ir atkuriamumą laboratorijoje (tarpinį glaudumą) ir atitikti 1.2.2 skirsnyje nustatytus reikalavimus. Turi būti apskaičiuotos naujų analičių CCβ (atrankiniai metodai) ir CCα (patvirtinimo metodai).

4.3. **Metodo taikymo srities, susijusios su matricomis ir (arba) rūšimis, išplėtimas**

Sprendimas taikyti jau validuotą analizės metodą naudojant naujas matricas ir rūšis visada turi būti priimamas kiekvienu konkrečiu atveju, remiantis žiniomis ir patirtimi, įgyta taikant šį metodą, ir išankstiniais bandymais, kuriais vertinami galimi matricos poveikiai ir trukdžiai. Paprastai tai bus įmanoma tik matricoms, pasižyminčioms panašiomis savybėmis, ir nekritinėms analitėms (stabilumas, aptinkamumas).

Kalibravimo kreivės (etalono arba matricos) turėtų būti parengtos pagal patvirtintą metodiką. Turėtų būti analizuojamos skirtingos matricos medžiagos partijos, sodrintos iki skirtingo koncentracijos lygio (plg. 2.2.1, 2.2.2 skirsnius). Teisingumas, pakartojamumas ir atkuriamumas laboratorijoje (tarpinis glaudumas) turėtų atitikti iš pradžių patvirtinto metodo leistinus intervalus ir atitikti 1.2.2 skirsnyje nustatytus reikalavimus. Priklausomai nuo validavimo metodo, gali prireikti perskaičiuoti CCβ (atrankiniai metodai) arba CCα (patvirtinimo metodai).

Jei rezultatai neatitinka priimtino intervalo, palyginti su pradinės matricos vertėmis, reikės atlikti papildomą išsamų validavimą, kad būtų galima nustatyti matricos ir (arba) rūšies specifinius veiksmingumo parametrus.

Tais atvejais, kai konkrečios medžiagos DLLK tam tikrose matricose skiriasi, greičiausiai bus sunku pritaikyti metodo taikymo sritį prie papildomos matricos ir (arba) rūšies bei koncentracijos, nes šiuo atveju reikia apsvarstyti du pakeitimus. Tokiais atvejais rekomenduojamas išsamus validavimas.

II PRIEDAS

MĖGINIŲ ĖMIMO PROCEDŪROS IR OFICIALUS MĖGINIŲ APDOROJIMAS

1. **Mėginių kiekis**

Mažiausias mėginių kiekis nustatomas nacionalinėje liekanų kontrolės programoje. Mažiausias mėginių kiekis turi būti pakankamas, kad patvirtintosios laboratorijos galėtų atlikti analizės procedūras, būtinas atrankinės patikros ir patvirtinamosioms analizėms užbaigti. Konkrečiai naminių paukščių, akvakultūros, triušių, ūkiuose auginamų medžiojamųjų gyvūnų, roplių ir vabzdžių atveju mėginį sudaro vienas ar daugiau gyvūnų, atsižvelgiant į analizės metodų reikalavimus. Atsižvelgiant į naudojamus analizės metodus, kiaušinių atveju mėginio dydis yra ne mažiau kaip 12 (arba daugiau) kiaušinių. Jeigu viename mėginyje, taikant skirtingus analizės metodus, reikia išanalizuoti kelias medžiagų kategorijas, mėginio dydis atitinkamai padidinamas.

2. **Mėginio padalinimas į tiriamąsias dalis**

Išskyrus atvejus, kai tai neįmanoma techniškai arba to nereikalauja nacionalinės teisės aktai, visi mėginiai turi būti padalinami ne mažiau kaip į dvi tapačias tiriamąsias dalis, kurios kiekvienos pakaktų išsamiai analizės procedūrai atlikti. Padalinti mėginius galima jų ėmimo vietoje arba laboratorijoje.

3. **Atsekamumas**

Kiekvienas mėginys turi būti imamas taip, kad visada būtų galima susekti jo kilmės ūkį ir gyvūnų partiją arba, kai reikia, atskirą gyvūną. Visų pirma, pieno mėginiai, atsižvelgiant į valstybės narės pasirinkimą, gali būti imami bet kurioje iš šių vietų:

1) ūkyje iš surinkimo talpyklos;

2) pieninėse prieš išpilant pieną.

4. **Mėginių talpyklos**

Mėginiai surenkami į tinkamą tarą, kad išliktų vientisi ir juos būtų galima susekti. Visų pirma, tara turi būti tokia, kad būtų užkirstas kelias mėginių sukeitimui, kryžminiam užterštumui ir sugedimui. Tara oficialiai užplombuojama.

5. **Mėginių ėmimo ataskaita**

Tokia ataskaita surašoma po kiekvienos mėginių ėmimo procedūros.

Mėginių ėmimo ataskaitoje inspektorius turi pateikti bent šią informaciją:

1) kompetentingos institucijos adresą;

2) inspektoriaus vardą, pavardę arba identifikavimo kodą;

3) mėginio oficialaus kodo numerį;

4) mėginio ėmimo datą;

5) gyvūnų arba gyvūninės kilmės produktų savininko ar atsakingo asmens vardą, pavardę ir adresą;

6) gyvūno kilmės ūkio pavadinimą ir adresą (kai mėginiai imami ūkiuose);

7) skerdyklos registracijos numerį;

8) gyvūno arba produkto identifikavimo duomenis;

9) gyvūnų rūšis;

10) mėginių matricą;

11) kai reikia, informaciją apie gydymą vaistais pastarąsias keturias savaites prieš imant mėginius (kai mėginiai imami ūkiuose);

12) tiriamas medžiagas arba jų grupes;

13) konkrečias pastabas.

Atsižvelgiant į mėginių ėmimo procedūrą, turi būti pateiktos popierinės arba elektroninės ataskaitos kopijos. Mėginių ėmimo ataskaita ir jos kopijos turi būti pildomos taip, kad būtų užtikrintas jų autentiškumas ir teisinis galiojimas, todėl gali būti reikalaujama, kad šiuos dokumentus pasirašytų inspektorius. Jeigu mėginiai imami ūkyje, ūkininkas arba jo pavaduotojas gali būti kviečiami pasirašyti mėginių ėmimo ataskaitos originalą.

Mėginių ėmimo ataskaitos originalas pasilieka kompetentingoje institucijoje, kuri privalo užtikrinti, kad jo negalės gauti pašaliniai asmenys.

Jei reikia, ūkininkas arba įmonės savininkas gali būti informuojami apie vykdomą mėginių ėmimą.

6. **Mėginių ėmimo ataskaita, skirta laboratorijai**

Mėginių ėmimo ataskaita, skirta kompetentingų institucijų įsteigtai laboratorijai, turi atitikti standarto ISO/IEC 17025:2017 ([1]) 7 skyriaus reikalavimus ir joje pateikiama bent ši informacija:

1) kompetentingos institucijos arba paskirtosios įstaigos adresas;
2) inspektoriaus vardas, pavardė arba identifikavimo kodas;
3) mėginio oficialaus kodo numeris;
4) mėginio ėmimo data;
5) gyvūnų rūšis;
6) mėginių matrica;
7) tiriamos medžiagos arba jų grupės;
8) konkrečios pastabos.

Laboratorijai skirta mėginių ėmimo ataskaita pateikiama kartu su mėginiu, kai jis siunčiamas į laboratoriją.

7. **Vežimas ir saugojimas**

Liekanų kontrolės programose numatomos tinkamos saugojimo ir vežimo sąlygos, kad kiekvienos tiriamosios medžiagos ir matricos junginys užtikrintų tiriamosios medžiagos stabilumą ir mėginių vientisumą. Vežimo laikas turi būti kuo trumpesnis, o vežimo temperatūra turi būti tokia, kad būtų užtikrintas analitės stabilumas.

Ypatingą dėmesį reikia atkreipti į vežimo dėžes, temperatūrą ir pristatymo į atsakingą laboratoriją laiką.

Jeigu nesilaikoma kokių nors kontrolės programos reikalavimų, laboratorija nedelsdama apie tai praneša kompetentingai institucijai.

([1]) ISO/IEC 17025: 2017 „Bendrieji bandymų ir kalibravimo laboratorijų kompetencijos reikalavimai“ (7.7 skyrius).