

DURCHFÜHRUNGSVERORDNUNG (EU) 2021/808 DER KOMMISSION**vom 22. März 2021****über Leistungskriterien für Analysemethoden für Rückstände pharmakologisch wirksamer Stoffe in zur Lebensmittelerzeugung genutzten Tieren und über die Auswertung von Ergebnissen sowie über die für Probenahmen anzuwendenden Methoden und zur Aufhebung der Entscheidungen 2002/657/EG und 98/179/EG****(Text von Bedeutung für den EWR)**

DIE EUROPÄISCHE KOMMISSION —

gestützt auf den Vertrag über die Arbeitsweise der Europäischen Union,

gestützt auf die Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. März 2017 über amtliche Kontrollen und andere amtliche Tätigkeiten zur Gewährleistung der Anwendung des Lebens- und Futtermittelrechts und der Vorschriften über Tiergesundheit und Tierschutz, Pflanzengesundheit und Pflanzenschutzmittel, zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 999/2001, (EG) Nr. 396/2005, (EG) Nr. 1069/2009, (EG) Nr. 1107/2009, (EU) Nr. 1151/2012, (EU) Nr. 652/2014, (EU) 2016/429 und (EU) 2016/2031 des Europäischen Parlaments und des Rates, der Verordnungen (EG) Nr. 1/2005 und (EG) Nr. 1099/2009 des Rates sowie der Richtlinien 98/58/EG, 1999/74/EG, 2007/43/EG, 2008/119/EG und 2008/120/EG des Rates und zur Aufhebung der Verordnungen (EG) Nr. 854/2004 und (EG) Nr. 882/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates, der Richtlinien 89/608/EWG, 89/662/EWG, 90/425/EWG, 91/496/EWG, 96/23/EG, 96/93/EG und 97/78/EG des Rates und des Beschlusses 92/438/EWG des Rates (Verordnung über amtliche Kontrollen) ⁽¹⁾, insbesondere auf Artikel 34 Absatz 6,

in Erwägung nachstehender Gründe:

- (1) Die Verordnung (EU) 2017/625 regelt die amtlichen Kontrollen und die anderen amtlichen Tätigkeiten, die von den zuständigen Behörden der Mitgliedstaaten durchgeführt werden, um zu überprüfen, ob das Unionsrecht unter anderem im Bereich der Lebensmittelsicherheit auf allen Produktions-, Verarbeitungs- und Vertriebsstufen eingehalten wird. Sie enthält spezifische Vorschriften für die amtlichen Kontrollen in Bezug auf Stoffe, deren Verwendung zu Rückständen in Lebens- und Futtermitteln führen kann, und legt allgemeine Anforderungen an die Methoden fest, die für die Probenahmen, Laboranalysen und Tests im Rahmen der amtlichen Kontrollen und anderen amtlichen Tätigkeiten anzuwenden sind.
- (2) Die Entscheidung 2002/657/EG der Kommission ⁽²⁾ enthält Anforderungen an die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen der Analysen bestimmter Stoffe und deren Rückstände in lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen, und in der Entscheidung 98/179/EG der Kommission ⁽³⁾ sind Durchführungsvorschriften für die amtlichen Probenahmen zur Kontrolle von lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen auf bestimmte Stoffe und deren Rückstände festgelegt. Beide Entscheidungen wurden auf der Grundlage der Richtlinie 96/23/EG des Rates ⁽⁴⁾ erlassen, die durch die Verordnung (EU) 2017/625 aufgehoben wurde. In Anbetracht neuer wissenschaftlicher Entwicklungen sollten diese Vorschriften aktualisiert und in den mit der Verordnung (EU) 2017/625 festgelegten Rahmen für amtliche Kontrollen integriert werden.
- (3) Gemäß Artikel 1 Absatz 2 der Entscheidung 2002/657/EG gilt die genannte Entscheidung nicht für Stoffe, für die in anderen Rechtsvorschriften der Union speziellere Regelungen festgelegt worden sind. Bei diesen Stoffen handelt es sich um Mykotoxine in Lebensmitteln, Dioxine und dioxinähnliche polychlorierte Biphenyle (PCB) in Lebensmitteln sowie Blei, Cadmium, Quecksilber und Benzo(a)pyren in Lebensmitteln. Mykotoxine in Lebensmitteln müssen die in der Verordnung (EG) Nr. 401/2006 der Kommission ⁽⁵⁾ zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln festgelegten Anforderungen erfüllen. Die Verordnung (EU) 2017/644 der Kommission ⁽⁶⁾ zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die Kontrolle der Gehalte an Dioxinen, dioxinähnlichen PCB und nicht dioxinähnlichen PCB

⁽¹⁾ ABl. L 95 vom 7.4.2017, S. 1.

⁽²⁾ Entscheidung 2002/657/EG der Kommission vom 14. August 2002 zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen (ABl. L 221 vom 17.8.2002, S. 8).

⁽³⁾ Entscheidung 98/179/EG der Kommission vom 23. Februar 1998 mit Durchführungsvorschriften für die amtlichen Probenahmen zur Kontrolle von lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen auf bestimmte Stoffe und ihre Rückstände (ABl. L 65 vom 5.3.1998, S. 31).

⁽⁴⁾ Richtlinie 96/23/EG des Rates vom 29. April 1996 über Kontrollmaßnahmen hinsichtlich bestimmter Stoffe und ihrer Rückstände in lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Richtlinien 85/358/EWG und 86/469/EWG und der Entscheidungen 89/187/EWG und 91/664/EWG (ABl. L 125 vom 23.5.1996, S. 10).

⁽⁵⁾ Verordnung (EG) Nr. 401/2006 der Kommission vom 23. Februar 2006 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln (ABl. L 70 vom 9.3.2006, S. 12).

⁽⁶⁾ Verordnung (EU) 2017/644 der Kommission vom 5. April 2017 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die Kontrolle der Gehalte an Dioxinen, dioxinähnlichen PCB und nicht dioxinähnlichen PCB in bestimmten Lebensmitteln sowie zur Aufhebung der Verordnung (EU) Nr. 589/2014 (ABl. L 92 vom 6.4.2017, S. 9).

in bestimmten Lebensmitteln findet im Fall von Dioxinen und dioxinähnlichen PCB Anwendung. Vorschriften für die Probenahme und Analyse im Rahmen der amtliche Kontrolle in Bezug auf Blei, Cadmium, Quecksilber und Benzo(a)pyren in Lebensmitteln sind in der Verordnung (EG) Nr. 333/2007 der Kommission ⁽⁷⁾ festgelegt.

- (4) Im Interesse der Klarheit und der Rechtssicherheit sollten die für die Probenahme und Analyse in Bezug auf pharmakologisch wirksame Stoffe geltenden Vorschriften in einem einzigen Rechtsakt zusammengeführt werden, wie im Fall von Mykotoxinen, Dioxinen, dioxinähnlichen PCB, Blei, Cadmium, Quecksilber und Benzo(a)pyren in Lebensmitteln bereits geschehen.
- (5) Die Entscheidungen 98/179/EG und 2002/657/EG sollten daher aufgehoben und durch die vorliegende Verordnung ersetzt werden.
- (6) Gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates ⁽⁸⁾ dürfen Kokzidiostatika und Histomonostatika als Futtermittelzusatzstoffe verwendet werden; somit gilt für Analysen ihres Gehalts in Futtermitteln die Verordnung (EG) Nr. 152/2009 der Kommission ⁽⁹⁾ zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln. Hingegen sollte die vorliegende Verordnung gelten für Analysen von Futtermitteln im Rahmen von Folgemaßnahmen bei Nachforschungen bezüglich der Quelle nicht konformer Proben in Fällen mutmaßlicher oder festgestellter Verstöße gegen Unionsvorschriften über die Verwendung oder über Rückstände pharmakologisch wirksamer Stoffe, die in Tierarzneimitteln oder als Futtermittelzusatzstoffe zugelassen sind, bzw. gegen Unionsvorschriften über die Verwendung oder über Rückstände verbotener oder nicht zugelassener pharmakologisch wirksamer Stoffe.
- (7) Um die Kontinuität der Durchführung amtlicher Kontrollen und anderer amtlicher Tätigkeiten in Bezug auf Rückstände pharmakologisch wirksamer Stoffe zu gewährleisten und um zu vermeiden, dass sämtliche Verfahren und Methoden gleichzeitig revalidiert werden müssen, dürfen Verfahren und Methoden, die vor Inkrafttreten der vorliegenden Verordnung validiert wurden, vorbehaltlich der Anforderungen in Anhang I Nummern 2 und 3 der Entscheidung 2002/657/EG während eines begrenzten Zeitraums weiter angewandt werden. Daher sollte den Mitgliedstaaten ausreichend Zeit eingeräumt werden, damit die in der vorliegenden Verordnung festgelegten Anforderungen bei allen Analysemethoden erfüllt werden können.
- (8) Die in dieser Verordnung vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Ausschusses für Pflanzen, Tiere, Lebensmittel und Futtermittel —

HAT FOLGENDE VERORDNUNG ERLASSEN:

Artikel 1

Gegenstand und Geltungsbereich

Diese Verordnung enthält Vorschriften zu den Analysemethoden für Probenahmen und Laboranalysen in Bezug auf Rückstände pharmakologisch wirksamer Stoffe in zur Lebensmittelerzeugung genutzten Tieren, deren Körperteilen und -flüssigkeiten, Exkrementen und Geweben, in von ihnen gewonnenen Erzeugnissen tierischen Ursprungs und tierischen Nebenprodukten sowie in Futtermitteln und Tränkwasser für diese Tiere. Des Weiteren sind dort Vorschriften für die Auswertung der Ergebnisse dieser Laboranalysen festgelegt.

Diese Verordnung gilt für amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung der Anforderungen bezüglich Rückständen pharmakologisch wirksamer Stoffe.

⁽⁷⁾ Verordnung (EG) Nr. 333/2007 der Kommission vom 28. März 2007 zur Festlegung der Probenahme- und Analysemethoden für die Kontrolle des Gehalts an Spurenelementen und Prozesskontaminanten in Lebensmitteln (ABl. L 88 vom 29.3.2007, S. 29).

⁽⁸⁾ Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung (ABl. L 268 vom 18.10.2003, S. 29).

⁽⁹⁾ Verordnung (EG) Nr. 152/2009 der Kommission vom 27. Januar 2009 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln (ABl. L 54 vom 26.2.2009, S. 1).

Artikel 2

Begriffsbestimmungen

Für die Zwecke dieser Verordnung gelten die Begriffsbestimmungen in Artikel 2 der Delegierten Verordnung (EU) 2019/2090 der Kommission ⁽¹⁰⁾, in der Verordnung (EU) 2019/1871 der Kommission ⁽¹¹⁾, in Artikel 2 der Verordnung (EG) Nr. 470/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates ⁽¹²⁾ sowie in der Verordnung (EWG) Nr. 315/93 des Rates ⁽¹³⁾.

Ferner gelten folgende Begriffsbestimmungen:

- (1) „absolute Wiederfindungsrate“ bezeichnet die in der letzten Phase eines analytischen Prozesses gemessene Menge eines Analyten, dividiert durch die Menge des Analyten in der ursprünglichen Probe, ausgedrückt in Prozent;
- (2) „Genauigkeit“ bezeichnet den Grad der Übereinstimmung zwischen einem Testergebnis und dem anerkannten richtigen Referenzwert, bestimmt durch Richtigkeit und Präzision ⁽¹⁴⁾;
- (3) „Alpha-Fehler (α -Fehler)“ bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, dass die untersuchte Probe konform ist, obwohl ein nicht konformes Messergebnis erzielt wurde;
- (4) „Analyt“ bezeichnet die zu analysierende Komponente eines Systems;
- (5) „zugelassener Stoff“ bezeichnet einen pharmakologisch wirksamen Stoff, der zur Verwendung bei zur Lebensmittelerzeugung genutzten Tieren zugelassen ist, im Sinne der Richtlinie 2001/82/EG des Europäischen Parlaments und des Rates ⁽¹⁵⁾;
- (6) „Beta-Fehler (β -Fehler)“ bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, dass die untersuchte Probe tatsächlich nicht konform ist, obwohl ein konformes Messergebnis erzielt wurde;
- (7) „Bias“ bezeichnet den Unterschied zwischen dem erwarteten Wert des Testergebnisses und einem anerkannten Referenzwert;
- (8) „Kalibrierstandard“ bezeichnet eine rückführbare Referenz für Messungen, welche die Menge des fraglichen Stoffs so darstellt, dass ihr Wert mit einer Referenzbasis in Beziehung gesetzt wird;
- (9) „zertifiziertes Referenzmaterial“ bezeichnet ein Referenzmaterial mit Unterlagen, die von einer autorisierten Stelle herausgegeben wurden, und das einen oder mehrere spezifiziertere Merkmalswerte mit beigeordneten Unsicherheiten und Rückführbarkeiten liefert, unter Anwendung gültiger Verfahren ⁽¹⁶⁾;
- (10) „Co-Chromatografie“ bezeichnet eine Technik, bei der ein unbekannter Stoff zusammen mit einer bekannten Verbindung oder mehreren bekannten Verbindungen einer chromatografischen Trennung unterzogen wird, mit der Erwartung, dass das relative Verhalten des unbekanntes Stoffs und der bekannten Stoffe zur Identifizierung des unbekanntes Stoffs beiträgt;
- (11) „Methodenvergleichsstudie“ bezeichnet die Analyse derselben Probe(n) mittels derselben Methode, um Leistungseigenschaften der Methode in verschiedenen Laboren zu bestimmen, wobei die Studie die Berechnung der zufälligen Messabweichung und der systematischen Abweichung für die angewandte Methode ermöglicht;

⁽¹⁰⁾ Delegierte Verordnung (EU) 2019/2090 der Kommission vom 19. Juni 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates in Bezug auf mutmaßliche oder festgestellte Verstöße gegen Unionsvorschriften über die Verwendung oder über Rückstände pharmakologisch wirksamer Stoffe, die in Tierarzneimitteln oder als Futtermittelzusatzstoffe zugelassen sind, bzw. gegen Unionsvorschriften über die Verwendung oder über Rückstände verbotener oder nicht zugelassener pharmakologisch wirksamer Stoffe (ABl. L 317 vom 9.12.2019, S. 28).

⁽¹¹⁾ Verordnung (EU) 2019/1871 der Kommission vom 7. November 2019 betreffend die Referenzwerte für Maßnahmen für nicht zulässige pharmakologisch wirksame Stoffe, die in Lebensmitteln tierischen Ursprungs enthalten sind, und zur Aufhebung der Entscheidung 2005/34/EG (ABl. L 289 vom 8.11.2019, S. 41).

⁽¹²⁾ Verordnung (EG) Nr. 470/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 6. Mai 2009 über die Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Rückstände pharmakologisch wirksamer Stoffe in Lebensmitteln tierischen Ursprungs, zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 des Rates und zur Änderung der Richtlinie 2001/82/EG des Europäischen Parlaments und des Rates und der Verordnung (EG) Nr. 726/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates (ABl. L 152 vom 16.6.2009, S. 11).

⁽¹³⁾ Verordnung (EWG) Nr. 315/93 des Rates vom 8. Februar 1993 zur Festlegung von gemeinschaftlichen Verfahren zur Kontrolle von Kontaminanten in Lebensmitteln (ABl. L 37 vom 13.2.1993, S. 1).

⁽¹⁴⁾ ISO 3534-1: 2006 Statistik — Begriffe und Formelzeichen — Teil 1: Wahrscheinlichkeit und allgemeine statistische Begriffe (Kapitel 1).

⁽¹⁵⁾ Richtlinie 2001/82/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 6. November 2001 zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Tierarzneimittel (ABl. L 311 vom 28.11.2001, S. 1).

⁽¹⁶⁾ JCGM 200:2008, International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM), Third Edition 2008: <https://www.iso.org/sites/JCGM/VIM-JCGM200.htm>

- (12) „Bestätigungsmethode“ bezeichnet eine Methode, die vollständige oder ergänzende Daten dafür liefert, dass der Stoff eindeutig identifiziert und, falls erforderlich, auf einem der folgenden Niveaus quantifiziert werden kann:
- a) an der Rückstandshöchstmenge („MRL“, maximum residue level) oder dem Höchstgehalt („ML“, maximum level) für zugelassene Stoffe;
 - b) an den Referenzwerten für Maßnahmen („RPA“, reference point for action) für verbotene oder nicht zugelassene Stoffe, für die ein Referenzwert für Maßnahmen festgelegt ist;
 - c) bei einer so niedrigen Konzentration wie nach dem ALARA-Prinzip („as low as reasonably achievable“) erreichbar für verbotene oder nicht zugelassene Stoffe, für die kein Referenzwert für Maßnahmen festgelegt ist;
- (13) „Erweiterungsfaktor (k)“ bezeichnet eine Zahl, die das erwünschte Konfidenzniveau ausdrückt und zur Ermittlung der erweiterten Messunsicherheit dient;
- (14) „Entscheidungsgrenze für die Bestätigung (CC α)“ bezeichnet den Grenzwert, an und über dem mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von α geschlossen werden kann, dass eine Probe nicht konform ist. Der Wert $1-\alpha$ drückt die statistische Sicherheit in Prozent aus, dass der zulässige Grenzwert überschritten ist;
- (15) „Nachweisvermögen von Screening (CC β)“ bezeichnet den niedrigsten Analytengehalt, der mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von β in einer Probe nachgewiesen oder quantifiziert werden kann:
- a) im Fall verbotener oder nicht zugelassener pharmakologisch wirksamer Stoffe ist CC β die niedrigste Konzentration, bei der eine Methode mit einer statistischen Sicherheit von $1-\beta$ Proben mit Rückständen verbotener oder nicht zugelassener Stoffe nachweisen oder quantifizieren kann;
 - b) im Fall zugelassener Stoffe ist CC β die Konzentration, bei der die Methode mit einer statistischen Sicherheit von $1-\beta$ Konzentrationen unterhalb des zulässigen Grenzwerts nachweisen kann;
- (16) „dotiertes Probenmaterial“ bezeichnet eine Probe, die mit einer bekannten Menge des nachzuweisenden oder zu quantifizierenden Analyten angereichert ist;
- (17) „Laborvergleichsstudie“ bezeichnet die Organisation, Durchführung und Bewertung von Tests mit derselben Probe bzw. denselben Proben durch zwei oder mehr Labore unter zuvor festgelegten Bedingungen, um die Leistungsfähigkeit der Tests zu bewerten; dabei kann es sich um eine Methodenvergleichsstudie oder eine Eignungsprüfung handeln;
- (18) „interner Standard (IS)“ bezeichnet einen nicht in der Probe enthaltenen Stoff mit physikalisch-chemischen Eigenschaften, die denen des zu identifizierenden oder quantifizierenden Analyten möglichst ähnlich sind;
- (19) „relevantes Konzentrationsniveau“ bezeichnet die Konzentration eines Stoffs oder Analyten in einer Probe, die wesentlich ist, um die Einhaltung der Rechtsvorschriften in Bezug auf Folgendes zu bestimmen:
- a) den Rückstandshöchstgehalt oder den Höchstgehalt für zugelassene Stoffe gemäß der Verordnung (EG) Nr. 124/2009 der Kommission ⁽¹⁷⁾ und der Verordnung (EU) Nr. 37/2010 der Kommission ⁽¹⁸⁾;
 - b) Referenzwerte für Maßnahmen (RPA) für verbotene oder nicht zugelassene Stoffe, für die ein Referenzwert für Maßnahmen gemäß der Verordnung (EU) 2019/1871 festgelegt ist;
 - c) eine so niedrige Konzentration wie analytisch erreichbar für verbotene oder nicht zugelassene Stoffe, für die kein Referenzwert für Maßnahmen festgelegt ist;
- (20) „niedrigstes Dotierniveau“ („LCL“, lowest calibrated level) bezeichnet die geringste Konzentration, für die das Messsystem kalibriert wurde;
- (21) „Matrix“ bezeichnet das Material, aus dem eine Probe entnommen wird;
- (22) „Matrixeffekt“ bezeichnet die Differenz des Analyseergebnisses zwischen einem im Lösungsmittel gelösten Standard und einem matrix-angepassten Standard, entweder ohne Korrektur mittels eines internen Standards oder einschließlich einer Korrektur mittels eines internen Standards;

⁽¹⁷⁾ Verordnung (EG) Nr. 124/2009 der Kommission vom 10. Februar 2009 zur Festlegung von Höchstgehalten an Kokzidiostatika und Histomonostatika, die in Lebensmitteln aufgrund unvermeidbarer Verschleppung in Futtermittel für Nichtzieltierarten vorhanden sind (ABl. L 40 vom 11.2.2009, S. 7).

⁽¹⁸⁾ Verordnung (EU) Nr. 37/2010 der Kommission vom 22. Dezember 2009 über pharmakologisch wirksame Stoffe und ihre Einstufung hinsichtlich der Rückstandshöchstmengen in Lebensmitteln tierischen Ursprungs (ABl. L 15 vom 20.1.2010, S. 1).

- (23) „matrix-angepasster Standard“ bezeichnet eine (analytfreie) Leerwertmatrix, der nach der Probenaufarbeitung der Analyt in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt wird;
- (24) „Matrixstandard“ bezeichnet eine (analytfreie) Leerwertmatrix, die vor der Lösungsmittelextraktion und der Probenaufarbeitung mit dem Analyten in verschiedenen Konzentrationen dotiert wird;
- (25) „Messgröße“ bezeichnet die spezielle Größe, die Gegenstand der Messung ist;
- (26) „Messunsicherheit“ bezeichnet einen nicht-negativen Parameter, der die Streuung der Werte kennzeichnet, die der Messgröße auf der Grundlage der genutzten Information beigeordnet ist;
- (27) „Leistungskriterien“ bezeichnet die Anforderungen an ein Leistungsmerkmal, nach denen beurteilt werden kann, ob die Analysemethode für den vorgesehenen Zweck geeignet ist und zuverlässige Ergebnisse liefert;
- (28) „Präzision“ bezeichnet den Grad der Übereinstimmung zwischen unabhängigen, unter festgelegten Bedingungen erzielten Testergebnissen und wird als Standardabweichung oder Variationskoeffizient der Testergebnisse ausgedrückt;
- (29) „qualitative Methode“ bezeichnet eine Analysemethode, die einen Stoff oder eine Stoffgruppe aufgrund seiner bzw. ihrer chemischen, biologischen oder physikalischen Eigenschaften bestimmt oder identifiziert;
- (30) „quantitative Methode“ bezeichnet eine Analysemethode, welche die Menge oder den Massenanteil eines Stoffs so bestimmt, dass sie bzw. er als numerischer Wert geeigneter Einheiten ausgedrückt werden kann;
- (31) „Wiederfindungsrate“ bezeichnet die wiederfindungskorrigierte Menge eines Analyten, dividiert durch die dotierte Menge des Analyten in der Matrixprobe, ausgedrückt in Prozent;
- (32) „Wiederfindungskorrektur“ bezeichnet die Anwendung interner Standards, die Verwendung einer Matrixkalibrierkurve und die Anwendung eines Wiederfindungskorrekturfaktors sowie eine Kombination dieser Ansätze;
- (33) „Referenzmaterial“ bezeichnet ein hinsichtlich einer festgelegten Eigenschaft oder mehrerer festgelegter Eigenschaften ausreichend homogenes und stabiles Material, das für die vorgesehene Verwendung in einem Messverfahren oder bei einer Untersuchung nominaler Eigenschaften als geeignet erachtet wurde ⁽¹⁹⁾;
- (34) „relativer Matrixeffekt“ bezeichnet die Differenz des Analyseergebnisses zwischen einem im Lösungsmittel gelösten Standard und einem matrixbezogenen Standard einschließlich einer Korrektur mittels eines internen Standards;
- (35) „Wiederholpräzision“ bezeichnet Präzision unter Bedingungen, bei denen unabhängige Testergebnisse mittels derselben Methode an identischem Testmaterial im selben Labor durch denselben Untersuchenden mit derselben Ausrüstung kurz nacheinander erzielt werden;
- (36) „Reproduzierbarkeit“ bezeichnet Präzision unter Bedingungen, bei denen Testergebnisse mittels derselben Methode an identischem Testmaterial in verschiedenen Laboren durch verschiedene Untersuchende mit unterschiedlicher Ausrüstung erzielt werden ⁽²⁰⁾;
- (37) „Robustheit“ bezeichnet die Anfälligkeit einer Analysemethode gegenüber Änderungen in den Versuchsbedingungen, unter denen die Methode wie beschrieben oder mit festgelegten geringfügigen Änderungen angewandt werden kann;
- (38) „Screeningmethode“ bezeichnet eine Methode, die für das Screening eines Stoffs oder einer Klasse von Stoffen am jeweils relevanten Konzentrationsniveau verwendet wird;
- (39) „Screening-Zielkonzentration“ („STC“, screening target concentration) bezeichnet die Konzentration unterhalb oder gleich dem CC β , bei der ein Screeningergebnis die Probe als potenziell nicht konform („Screening-positiv“) einstuft und das einen Bestätigungstest veranlasst;
- (40) „Selektivität“ bezeichnet die Fähigkeit einer Methode, zwischen dem gemessenen Analyten und anderen Stoffen zu unterscheiden;
- (41) „laborinterne Validierungsstudie“ bezeichnet eine analytische Studie in einem einzelnen Labor unter Anwendung einer einzigen Methode zur Analyse desselben Testmaterials oder verschiedener Testmaterialien unter unterschiedlichen Bedingungen und über angemessen lange Zeiträume;

⁽¹⁹⁾ Codex-Alimentarius-Kommission, Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen/Weltgesundheitsorganisation, Guidelines on analytical terminology (CAC/GL 72-2009).

⁽²⁰⁾ ISO 5725-1:1994 Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe (Kapitel 3).

- (42) „Standardaddition“ bezeichnet ein Verfahren, bei dem ein Teil der Probe als solcher analysiert wird und den anderen Analysenproben vor der Analyse bekannte Mengen der Standardsubstanz zugesetzt werden;
- (43) „Standardsubstanz“ bezeichnet einen Analyten mit bekanntem und zertifiziertem Gehalt bzw. bekannter und zertifizierter Reinheit, der bei der Analyse als Referenz zu verwenden ist;
- (44) „Substanz“ bezeichnet einen Stoff mit konstanter Zusammensetzung, der durch die Einheiten, aus denen er sich zusammensetzt, sowie durch bestimmte physikalische Eigenschaften gekennzeichnet ist;
- (45) „Analysenprobe“ bezeichnet die Menge des entnommenen Materials einer Probe, an der die Analyse oder Beobachtung durchgeführt wird;
- (46) „Richtigkeit“ bezeichnet den Grad der Übereinstimmung zwischen dem aus einer langen Serie von Testergebnissen ermittelten Mittelwert und einem akzeptierten Referenzwert;
- (47) „Einheiten“ bezeichnet die in ISO 80000 ⁽²¹⁾ und in der Richtlinie 80/181/EWG des Rates ⁽²²⁾ beschriebenen Einheiten;
- (48) „Validierung“ bezeichnet die Demonstration durch Untersuchung und die Erbringung eines effektiven Nachweises, dass die besonderen Anforderungen eines bestimmten vorgesehenen Verwendungszwecks durch eine laborinterne Validierungsstudie oder eine Methodenvergleichsstudie erfüllt sind ⁽²³⁾;
- (49) „laborinterne Reproduzierbarkeit“ oder „In-Haus-Vergleichspräzision“ bezeichnet Messpräzision unter einer Reihe laborinterner Bedingungen in einem bestimmten Labor.

Artikel 3

Analysemethoden

Die Mitgliedstaaten gewährleisten, dass die gemäß Artikel 34 der Verordnung (EU) 2017/625 entnommenen Proben anhand von Methoden analysiert werden, die folgende Anforderungen erfüllen:

- (1) Sie sind in Prüfvorschriften dokumentiert, vorzugsweise gemäß den Anhängen von ISO 78-2:1999 (Chemie — Gestaltung von Normen — Teil 2: Verfahren der chemischen Analyse) ⁽²⁴⁾;
- (2) sie erfüllen die Leistungskriterien und die anderen Anforderungen an Analysemethoden, wie in Anhang I Kapitel 1 dieser Verordnung festgelegt;
- (3) sie wurden gemäß den Anforderungen des Anhangs I Kapitel 2 und 4 dieser Verordnung validiert;
- (4) sie ermöglichen die Durchsetzung der in der Verordnung (EU) 2019/1871 festgelegten Referenzwerte für Maßnahmen (RPA), den eindeutigen Nachweis verbotener und nicht zugelassener Stoffe sowie die Durchsetzung von Höchstgehalten (ML), die auf Grundlage der Verordnungen (EWG) Nr. 315/93 und (EG) Nr. 124/2009 festgelegt wurden, und von Rückstandshöchstmengen (MRL), die auf Grundlage der Verordnungen (EG) Nr. 1831/2003 und (EG) Nr. 470/2009 festgelegt wurden.

Artikel 4

Qualitätskontrolle

Die Mitgliedstaaten gewährleisten die Qualität der Ergebnisse der gemäß der Verordnung (EU) 2017/625 durchgeführten Analysen, insbesondere durch die Überwachung der Validität der Test- oder der Kalibrierergebnisse nach ISO/IEC 17025:2017 (Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien) und Anwendung der Anforderungen an die Qualitätskontrolle bei Routineanalysen, wie in Anhang I Kapitel 3 der vorliegenden Verordnung festgelegt.

⁽²¹⁾ ISO 80000-1:2009 Größen und Einheiten — Teil 1: Allgemeines (Einleitung).

⁽²²⁾ Richtlinie 80/181/EWG des Rates vom 20. Dezember 1979 zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über die Einheiten im Messwesen und zur Aufhebung der Richtlinie 71/354/EWG (Abl. L 39 vom 15.2.1980, S. 40).

⁽²³⁾ ISO/IEC 17025:2017 Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (Kapitel 3).

⁽²⁴⁾ ISO 78-2: 1999 Chemie — Gestaltung von Normen — Teil 2: Verfahren der chemischen Analyse (Anhänge).

*Artikel 5***Auswertung der Ergebnisse**

- (1) Das Ergebnis einer Analyse gilt als nicht konform, wenn es größer als die oder gleich der Entscheidungsgrenze für die Bestätigung (CCa) ist.
- (2) Bei zugelassenen Stoffen, für die ein MRL oder ein ML festgelegt wurde, gilt als Entscheidungsgrenze für die Bestätigung (CCa) die Konzentration, bei oder über der mit einer statistischen Sicherheit des numerischen Wertes $1-\alpha$ gesagt werden kann, dass der zulässige Grenzwert überschritten ist.
- (3) Bei nicht zugelassenen oder verbotenen Stoffen oder bei zugelassenen Stoffen, für die in Bezug auf eine bestimmte Tierart oder ein bestimmtes Erzeugnis kein RHG oder HG festgelegt wurde, gilt als Entscheidungsgrenze für die Bestätigung (CCa) die niedrigste Konzentration, bei der mit einer statistischen Sicherheit des numerischen Wertes $1-\alpha$ gesagt werden kann, dass der betreffende Analyt vorhanden ist.
- (4) Bei nicht zugelassenen oder verbotenen pharmakologisch wirksamen Stoffen muss der α -Fehler kleiner oder gleich 1 % sein. Bei allen anderen Stoffen muss der α -Fehler kleiner oder gleich 5 % sein.

*Artikel 6***Methoden für die Probenahme**

Die Mitgliedstaaten stellen sicher, dass Proben nach den detaillierten Methoden für die Probenahme, wie in Anhang II dieser Verordnung festgelegt, entnommen, gehandhabt und gekennzeichnet werden.

*Artikel 7***Aufhebungen und Übergangsmaßnahmen**

Die Entscheidungen 2002/657/EG und 98/179/EG werden mit Inkrafttreten dieser Verordnung aufgehoben.

Die Anforderungen gemäß Anhang I Abschnitte 2 und 3 der Entscheidung 2002/657/EG gelten jedoch bis zum 10. Juni 2026 weiterhin für Methoden, die vor Inkrafttreten dieser Verordnung validiert wurden.

*Artikel 8***Inkrafttreten**

Diese Verordnung tritt am zwanzigsten Tag nach ihrer Veröffentlichung im *Amtsblatt der Europäischen Union* in Kraft.

Diese Verordnung ist in allen ihren Teilen verbindlich und gilt unmittelbar in jedem Mitgliedstaat.

Brüssel, den 22. März 2021

Für die Kommission
Die Präsidentin
Ursula VON DER LEYEN

ANHANG I

KAPITEL 1

LEISTUNGSKRITERIEN UND SONSTIGE ANFORDERUNGEN FÜR ANALYSEMETHODEN**1.1. Anforderungen an Screeningmethoden****1.1.1. Kategorien geeigneter Screeningmethoden**

Qualitative, semi-quantitative oder quantitative Methoden sind als Screeningmethoden geeignet.

1.1.2. Anforderungen an biologische, biochemische oder physikalisch-chemische Screeningmethoden

Bei verbotenen oder nicht zugelassenen Stoffen muss das CC β so niedrig wie möglich (ALARA-Prinzip) sein, in jedem Fall aber unter dem RPA liegen, sofern für den betreffenden Stoff mit der Verordnung (EU) 2019/1871 ein solcher Wert festgelegt wurde.

Bei zugelassenen pharmakologisch wirksamen Stoffen muss das CC β unter dem MRL oder dem ML liegen.

Nur solche Analysemethoden, für die nachvollziehbar dokumentiert werden kann, dass sie validiert sind und eine nicht konforme („falsch negative“) Rate von 5 % oder darunter (β -Fehler) aufweisen, dürfen für Screeningzwecke eingesetzt werden. Bei Verdacht auf ein nicht konformes Ergebnis muss dieses Ergebnis durch eine Bestätigungsmethode abgesichert werden.

Quantitative Screeningmethoden, die sowohl für Screening- als auch für Bestätigungszwecke eingesetzt werden, müssen denselben Anforderungen an Genauigkeit, Bereich und Präzision genügen, wie unter 1.2.2.1 und 1.2.2.2 beschrieben.

1.2. Anforderungen an Bestätigungsmethoden**1.2.1. Allgemeine Anforderungen an Bestätigungsmethoden**

Bei verbotenen oder nicht zugelassenen Stoffen muss die CC α so niedrig wie nach vernünftigem Ermessen erreichbar sein. Bei verbotenen oder nicht zugelassenen Stoffen, für die mit der Verordnung (EU) 2019/1871 ein RPA festgelegt wurde, muss die CC α kleiner oder gleich diesem Referenzwert für Maßnahmen sein.

Bei zugelassenen Stoffen muss die CC α über dem MRL oder dem ML liegen, diesem jedoch so nahe wie möglich sein.

Für Bestätigungszwecke dürfen nur solche Analysemethoden eingesetzt werden, für die nachvollziehbar dokumentiert werden kann, dass sie validiert sind und eine falsch nicht konforme („falsch positive“) Rate von 1 % oder darunter (α -Fehler) bei verbotenen oder nicht zugelassenen Stoffen bzw. von 5 % oder darunter bei zugelassenen Stoffen aufweisen.

Bestätigungsmethoden müssen Informationen über die chemische Struktur des Analyten liefern. Folglich sind Bestätigungsmethoden, die sich auf chromatografische Techniken ohne massenspektrometrische Detektion stützen, für sich allein genommen als Bestätigungsmethoden für verbotene oder nicht zugelassene pharmakologisch wirksame Stoffe nicht geeignet. Sollte für zugelassene Stoffe die Massenspektrometrie nicht geeignet sein, so können auch andere Methoden wie zum Beispiel HPLC-DAD und HPLC-FLD oder eine Kombination aus beiden angewandt werden.

Wenn es die Bestätigungsmethode vorschreibt, muss zu Beginn des Extraktionsverfahrens der Analysenprobe ein geeigneter interner Standard zugesetzt werden. Je nach Verfügbarkeit werden entweder stabile isopenmarkierte Formen des Analyten, die besonders für die massenspektrometrische Detektion geeignet sind, oder analoge Verbindungen, die mit dem Analyten strukturell eng verwandt sind, verwendet. Wenn kein geeigneter interner Standard verwendet werden kann, muss die Identifizierung des Analyten vorzugsweise durch Co-Chromatografie⁽¹⁾ bestätigt werden. In diesem Fall darf nur ein Peak erhalten werden, wobei dann die Zunahme der Peakhöhe (oder -fläche) der Menge des zugesetzten Analyten entspricht. Ist dies nicht praktikabel, so sind matrix-angepasste Standards oder Matrixstandards zu verwenden.

⁽¹⁾ Co-Chromatografie ist eine Technik, bei der der Probenextrakt vor dem (den) chromatografischen Schritt(en) in zwei Teile aufgeteilt wird. Der eine Teil wird normal chromatografiert. Der zweite Teil wird mit der zu messenden Standardsubstanz gemischt. Dieses Gemisch wird dann ebenfalls chromatografiert. Die Menge an zugesetzter Standardsubstanz muss etwa gleich groß wie die geschätzte Menge des Analyten im Extrakt sein. Co-Chromatografie soll die Identifizierung eines Analyten verbessern, wenn chromatografische Methoden eingesetzt werden, besonders wenn kein geeigneter interner Standard verwendet werden kann.

1.2.2. Allgemeine Leistungskriterien für Bestätigungsmethoden

1.2.2.1. Richtigkeit durch Wiederfindung

Bei wiederholten Analysen eines zertifizierten Referenzmaterials muss die Abweichung des experimentell bestimmten wiederfindungskorrigierten mittleren Masseanteils vom zertifizierten Wert den in Tabelle 1 aufgeführten Mindestwerten der Richtigkeit entsprechen.

Tabelle 1

Mindestwerte der Richtigkeit quantitativer Methoden

Massenanteil	Bereich
≤ 1 µg/kg	-50 % bis +20 %
> 1 µg/kg bis 10 µg/kg	-30 % bis +20 %
≥ 10 µg/kg	-20 % bis +20 %

Wenn keine zertifizierten Referenzmaterialien zur Verfügung stehen, ist die Bestimmung der Richtigkeit der Messungen auf anderem Wege akzeptabel, zum Beispiel durch die Verwendung von Materialien mit zugewiesenen Werten (Referenzwerten) aus Laborvergleichsstudien oder durch den Zusatz bekannter Mengen des/der Analyten zu einer Leerwertmatrix.

1.2.2.2. Präzision

Bei wiederholter Analyse eines Referenzmaterials oder dotierten Materials darf der Variationskoeffizient (CV) unter laborinternen Reproduzierbarkeitsbedingungen den anhand der Horwitz-Gleichung berechneten Wert nicht überschreiten. Diese Gleichung lautet:

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

Dabei ist C der Massenanteil, ausgedrückt als Zehnerpotenz (Exponent) (z. B. 1 mg/g = 10⁻³). Für Massenanteile unter 120 µg/kg liefert die Horwitz-Gleichung unangemessen hohe Werte. Deshalb darf der zulässige maximale Variationskoeffizient nicht über den in Tabelle 2 aufgeführten Werten liegen.

Tabelle 2

Akzeptabler Variationskoeffizient

Massenanteil	Reproduzierbarkeits-CV (%)
> 1 000 µg/kg	16 (gemäß der Horwitz-Gleichung)
> 120 µg/kg — 1 000 µg/kg	22 (gemäß der Horwitz-Gleichung)
10-120 µg/kg	25 *
< 10 µg/kg	30 *

* Der angegebene Reproduzierbarkeits-CV (in %) stellt einen Richtwert dar und sollte so niedrig wie möglich sein (ALARA-Prinzip).

Bei Analysen unter Wiederholbedingungen soll der Variationskoeffizient unter Wiederholbedingungen zwei Drittel der in Tabelle 2 aufgeführten Werte oder weniger betragen.

1.2.3. Anforderungen an die chromatografische Trennung

Bei der Flüssigchromatografie (LC) oder der Gaschromatografie (GC) muss die Mindestretentionszeit für den/die untersuchten Analyten das Doppelte der Retentionszeit für das Totvolumen der Säule betragen. Die Retentionszeit des Analyten im Extrakt muss mit einer Toleranz von ± 0,1 Minute derjenigen des Kalibrierstandards, eines matrix-angepassten Standards oder eines Matrixstandards entsprechen. Bei schneller Chromatografie, bei der die Retentionszeit unter 2 Minuten beträgt, ist eine Abweichung von weniger als 5 % der Retentionszeit akzeptabel. Für alle Methoden, die ab Inkrafttreten dieser Verordnung validiert werden, muss bei Verwendung eines internen Standards das Verhältnis der chromatografischen Retentionszeit des Analyten zu

derjenigen des internen Standards, d. h. die relative Retentionszeit des Analyten, derjenigen des Kalibrierstandards, des matrix-angepassten Standards oder des Matrixstandards mit einer maximalen Abweichung von 0,5 % im Fall von Gaschromatografie und 1 % im Fall von Flüssigchromatografie entsprechen.

1.2.4. Spezifische Leistungskriterien für die Massenspektrometrie

1.2.4.1. Massenspektrometrische Detektion

Zur Durchführung massenspektrometrischer Detektionen stehen unter anderem folgende Datenaufnahmearten zur Verfügung:

1. Aufzeichnung vollständiger Massenspektren (Full Scan);
2. Selected Ion Monitoring (SIM);
3. sequentielle massenspektrometrische Verfahren (MS^n), zum Beispiel Selected Reaction Monitoring (SRM);
4. Kombination aus massenspektrometrischen Verfahren (MS) oder sequentiellen massenspektrometrischen Verfahren (MS^n) mit entsprechenden Ionisierungsarten.

Sowohl die niedrig auflösende Massenspektrometrie (LRMS, mit Nominalmassenauflösung) als auch die hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS), inklusive zum Beispiel doppelfokussierende Sektorfeld-, Flugzeit- und Orbitrap-Instrumente, sind hierfür geeignete Techniken.

Zur Bestätigung der Identität eines Analyten bei der hochauflösenden Massenspektrometrie (HRMS) muss die Massenabweichung aller diagnostischen Ionen weniger als 5 ppm (oder im Fall von $m/z < 200$ weniger als 1 mDa) betragen. Basierend hierauf sollte die effektive Massenauflösung zweckbezogen gewählt werden. Sie muss für den gesamten Massenbereich typischerweise höher als 10 000 (bei der 10 % Tal Definition) oder höher 20 000 (bei voller Halbwertsbreite, FWHM) sein.

Wenn die massenspektrometrische Bestimmung im Full Scan (Aufzeichnung vollständiger Spektren, sowohl LRMS als auch HRMS) durchgeführt wird, sind als diagnostische Ionen nur Ionen mit einer relativen Intensität von mehr als 10 % im Referenzspektrum des Kalibrierstandards, des matrix-angepassten Standards oder des Matrixstandards geeignet. Zu den diagnostischen Ionen gehören das Molekül-Ion (falls es mit einer Intensität von ≥ 10 % des Basispeaks detektiert wird) und die weiteren charakteristischen Fragment- oder Produkt-Ionen.

Auswahl der Vorläufer-Ionen: Wenn die massenspektrometrische Bestimmung durch Fragmentierung von Vorläufer-Ionen erfolgt, wird die Vorläufer-Ionenauswahl mit mindestens Nominalmassenauflösung vorgenommen. Bei dem ausgewählten Vorläufer-Ion muss es sich um das Molekül-Ion, charakteristische Addukte des Molekül-Ions, charakteristische Produkt-Ionen oder eines ihrer Isotopen-Ionen handeln. Ist der Massenauswahlbereich bei der Vorläufer-Ionenauswahl größer als ein Dalton (z. B. im Fall der „Data Independent Acquisition“-Methode), so gilt die Methode als Full-Scan-Bestätigungsanalyse.

Auswahl der Fragment- und Produkt-Ionen: Als Fragment- oder Produkt-Ionen sind für den gemessenen Analyten/das gemessene Produkt diagnostische Fragmente auszuwählen. Nichtselektive Übergänge (z. B. das Tropylium-Kation oder Wasserverlust) sind dabei weitestmöglich zu vermeiden. Die Signalintensität der einzelnen diagnostischen Ionen ist anhand der Peakfläche oder -höhe integrierter extrahierter Ionen-Chromatogramme zu bestimmen. Dies gilt auch, wenn Full-Scan-Messungen zur Identifizierung vorgenommen werden. Das Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) aller diagnostischen Ionen muss größer oder gleich drei zu eins (3:1) sein.

Relative Intensitäten: Die relativen Intensitäten der diagnostischen Ionen (Ionenverhältnis) werden in Prozent der Intensität des häufigsten Ions oder Übergangs ausgedrückt. Das Ionenverhältnis ist durch Vergleich von Spektren oder durch Integration der Signale der extrahierten Einzelmassen zu ermitteln. Das Ionenverhältnis des zu bestätigenden Analyten muss den Ionenverhältnissen der matrix-angepassten Standards, der Matrixstandards oder von Standardlösungen mit vergleichbaren Konzentrationen, die unter denselben Bedingungen gemessen wurden, mit einer relativen Abweichung von maximal ± 40 % entsprechen.

Für alle massenspektrometrischen Analysen ist mindestens ein Ionenverhältnis zu bestimmen. Dabei handelt es sich vorzugsweise um mittels eines einzelnen Scans gewonnene Ionen, doch sie können auch aus verschiedenen Scans derselben Injektion stammen (d. h. Full Scan und Fragmentierungsscan).

1.2.4.2. Identifizierung

Für die Auswahl geeigneter Datenaufnahmearten und Auswertungskriterien ist ein System von Identifizierungspunkten zu verwenden. Zur Bestätigung der Identität von Stoffen in einer Matrix, für die ein MRL festgelegt ist (zulässige Verwendung), sind mindestens 4 Identifizierungspunkte erforderlich. Für nicht zugelassene oder verbotene Stoffe sind 5 Identifizierungspunkte nötig. Einer dieser Punkte kann aus der chromatografischen Trennung stammen. Tabelle 3 zeigt die Anzahl der Identifizierungspunkte, die die einzelnen Verfahren liefern. Die zur Bestätigung benötigten Identifizierungspunkte können durch Einsatz verschiedener Techniken erhalten worden sein.

1. Alle massenspektrometrischen Analysen sind mit einem Trennverfahren zu kombinieren, das ein ausreichendes Trennvermögen und eine ausreichende Selektivität für die spezielle Anwendung aufweist. Geeignete Trennverfahren sind unter anderem die Flüssig- und Gaschromatografie, die Kapillarelektrophorese (CE) und die überkritische Flüssigchromatographie (SFC). Falls zu dem Analyten isobare oder isomere Verbindungen existieren, müssen die Akzeptanzkriterien für Retentionszeitabweichungen (d. h. $\pm 0,5$ % bei GC und ± 1 % bei LC und SFC) für die Bestätigung der Identität des Analyten erfüllt sein.
2. Maximal drei separate Verfahren können kombiniert werden, um die Mindestanzahl an Identifizierungspunkten zu erreichen.
3. Verschiedene Ionisierungsarten (z. B. Elektronenstoßionisation und chemische Ionisierung) gelten als verschiedene Verfahren.

Tabelle 3

Identifizierungspunkte pro Verfahren

Verfahren	Identifizierungspunkte
Trennverfahren (GC, LC, SFC, CE)	1
LR-MS Ion	1
Vorläufer-Ionenauswahl mit einem Massenbereich $< \pm 0,5$ Da	1 (indirekt)
LR-MS ⁿ Produkt-Ion	1,5
HR-MS Ion	1,5
HR-MS ⁿ Produkt-Ion	2,5

Tabelle 4

Beispiele für die Anzahl an Identifizierungspunkten für spezifische Verfahren und Kombinationen aus Verfahren (n = ganze Zahl)

Verfahren	Trennung	Anzahl von Ionen	Identifizierungspunkte
GC-MS (EI oder CI)	GC	n	1 + n
GC-MS (EI und CI)	GC	2 (EI) + 2 (CI)	1 + 4 = 5
GC-MS (EI oder CI) 2 Derivate	GC	2 (Derivat A) + 2 (Derivat B)	1 + 4 = 5
LC-MS	LC	n (MS)	1 + n
GC- oder LC-MS/MS	GC oder LC	1 Vorläufer + 2 Produkte	1 + 1 + 2 × 1,5 = 5
GC- oder LC-MS/MS	GC oder LC	2 Vorläufer + 2 Produkte	1 + 2 + 2 × 1,5 = 6
GC- oder LC-MS ³	GC oder LC	1 Vorläufer + 1 MS ² Produkt + 1 MS ³ Produkt	1 + 1 + 1,5 + 1,5 = 5
GC- oder LC-HRMS	GC oder LC	n	1 + n × 1,5

GC- oder LC-HRMS/MS	GC oder LC	1 Vorläufer ($< \pm 0,5$ Da Massenbereich) + 1 Produkt	$1 + 1 + 2,5 = 4,5$
GC- oder LC-HRMS und HRMS/MS	GC oder LC	1 Full-Scan-Ion + 1 HRMS Produkt-Ion ^a	$1 + 1,5 + 2,5 = 5$
GC- und LC-MS	GC und LC	2 Ionen (GCMS) + 1 Ion (LCMS)	$1 + 1 + 2 + 1 + 1 = 6$

^a Für die Vorläufer-Ionenauswahl gibt es keinen zusätzlichen Identifizierungspunkt, wenn dieses Vorläufer-Ion dasselbe Ion (oder ein Addukt oder Isotop) ist wie das bereits beim Full Scan berücksichtigte HRMS-Ion.

1.2.5. *Spezifische Leistungskriterien für die Bestimmung eines Analyten mittels Flüssigchromatografie mit Detektion, ausgenommen Massenspektrometrie*

Folgende Verfahren dürfen ausschließlich für zugelassene Stoffe alternativ zu massenspektrometrischen Methoden angewandt werden, sofern die für diese Verfahren relevanten Kriterien erfüllt sind:

1. Full-Scan-Diodenarray-Spektrofotometrie (DAD) gekoppelt mit HPLC;
2. Fluoreszenzdetektion (FLD) gekoppelt mit HPLC.

Flüssigchromatografie mit UV/VIS-Detektion (eine Wellenlänge) ist für sich allein nicht als Bestätigungsmethode geeignet.

1.2.5.1. *Leistungskriterien für die Full-Scan-Diodenarray-Spektrofotometrie*

Die Leistungskriterien für die chromatografische Trennung gemäß Kapitel 1.2.3 müssen erfüllt sein.

Die Absorptionsmaxima im UV-Spektrum des Analyten müssen mit einer maximalen Toleranz, die durch das Auflösungsvermögen des Detektionssystems bestimmt wird, bei denselben Wellenlängen wie denjenigen des Kalibrierstandards in der Matrix liegen. Bei der Dioden-Array-Detektion beträgt diese maximale Toleranz typischerweise ± 2 nm. Das Analytspektrum oberhalb von 220 nm darf sich für diese Teile der beiden Spektren mit einem relativen Absorptionsvermögen größer oder gleich 10 % optisch nicht vom Spektrum des Kalibrierstandards unterscheiden. Dieses Kriterium ist erfüllt, wenn zum einen die gleichen Maxima vorliegen und zum anderen der Unterschied zwischen den beiden Spektren an keinem Punkt mehr als 10 % des Absorptionsvermögens des Kalibrierstandards beträgt. Wenn mittels computergestützter Bibliothekssuche ein Spektrenvergleich durchgeführt wird, muss das Ergebnis des Spektrenvergleichs zwischen amtlichen Proben und Kalibrierlösung einen kritischen Übereinstimmungsgrad überschreiten. Dieser Übereinstimmungsgrad wird bei der Validierung für jeden Analyten auf der Basis von Spektren bestimmt, für welche die oben beschriebenen Kriterien erfüllt sind. Schwankungen in den Spektren, die durch die Probenmatrix und die Leistungsfähigkeit des Detektors verursacht werden, müssen überprüft werden.

1.2.5.2. *Leistungskriterien für die Fluoreszenzdetektion*

Die Leistungskriterien für die chromatografische Trennung gemäß Kapitel 1.2.3 müssen erfüllt sein.

Die Anregungs- und Emissionswellenlängen müssen in Verbindung mit den chromatografischen Bedingungen so gewählt werden, dass die Wirkungen störender Bestandteile in Leerwertprobenextrakten auf ein Mindestmaß reduziert werden. Zwischen den Anregungs- und Emissionswellenlängen sollten mindestens 50 Nanometer liegen.

Der jeweilige Analytpeak muss von dem nächstgelegenen Peakmaximum im Chromatogramm durch mindestens eine volle Peakbreite bei 10 % der maximalen Höhe des Analytpeaks getrennt sein.

Dies betrifft Moleküle, die eine natürliche Fluoreszenz aufweisen, und Moleküle, die nach Transformation oder Derivatisierung eine Fluoreszenz zeigen.

KAPITEL 2

VALIDIERUNG

2.1. Für die Analysemethoden zu bestimmende Leistungsmerkmale

Durch die Validierung der Methode ist nachzuweisen, dass die relevanten Leistungsmerkmale der Analysemethode die jeweils dafür gültigen Kriterien erfüllen. Unterschiedliche Kontrollzwecke erfordern unterschiedliche Arten von Methoden. Aus Tabelle 5 geht hervor, welche Leistungsmerkmale für welchen Methodentyp bestimmt werden müssen; nähere Erläuterungen zu jedem Parameter finden sich in diesem Kapitel.

Tabelle 5

Klassifikation von Analysemethoden nach den zu bestimmenden Leistungsmerkmalen

Methode	Bestätigung		Screening		
	qualitativ	quantitativ	qualitativ	semi-quantitativ	quantitativ
Stoffe	A	A, B	A, B	A, B	A, B
Identifizierung gemäß 1.2	x	x			
CC α	x	x			
CC β	-		x	x	x
Richtigkeit		x			x
Präzision		x		(x)	x
Relativer Matrixeffekt/absolute Wiederfindungsrate *		x			x
Selektivität/Spezifität		x	x	x	x
Stabilität #		x	x	x	x
Robustheit		x	x	x	x

x: Durch die Validierung muss nachgewiesen werden, dass die Anforderungen bezüglich der Leistungsmerkmale erfüllt sind.

(x) Die Anforderungen bezüglich der Präzision gemäß Kapitel 1.2.2.2 brauchen bei semi-quantitativen Screeningmethoden nicht erfüllt zu sein. Die Präzision ist jedoch zu bestimmen, um nachzuweisen, dass sich die Methode zur Vermeidung nicht konformer Analyseergebnisse eignet.

A: verbotene oder nicht zugelassene Stoffe

B: zugelassene Stoffe

Stehen für die Analyten in einer Matrix aus der wissenschaftlichen Literatur oder von einem anderen Labor Stabilitätsdaten zur Verfügung, so brauchen diese Daten von dem betreffenden Labor nicht nochmals ermittelt zu werden. Dagegen ist ein Verweis auf verfügbare Stabilitätsdaten für Analyten in Lösung nur akzeptabel, wenn identische Bedingungen vorliegen.

* Relevant für MS-Methoden, um durch die Validierung nachzuweisen, dass die Anforderungen bezüglich der Leistungsmerkmale erfüllt sind. Der relative Matrixeffekt der Methode ist zu bestimmen, wenn dieser nicht im Rahmen des Validierungsverfahrens bestimmt wurde. Die absolute Wiederfindungsrate der Methode ist zu bestimmen, wenn kein interner Standard oder kein Matrixstandard verwendet wird.

2.2. Richtigkeit, Wiederholpräzision und laborinterne Reproduzierbarkeit

Dieses Kapitel enthält Beispiele für bzw. Verweise auf Validierungsverfahren. Andere Ansätze zum Nachweis, dass die Methode die Leistungskriterien erfüllt, sind zulässig, sofern sie Informationen im selben Umfang und in derselben Qualität liefern.

2.2.1. Klassische Validierung

Zur Berechnung der Parameter nach den klassischen Validierungsmethoden müssen mehrere Einzeluntersuchungen durchgeführt werden. Jedes Leistungsmerkmal muss für jede größere Änderung bestimmt werden (siehe Abschnitt 2.4). Bei Multianalytmethoden können mehrere Analyten gleichzeitig analysiert werden, sofern möglicherweise relevante Störungen ausgeschlossen wurden. Mehrere Leistungsmerkmale können auf ähnliche Weise bestimmt werden. Daher empfiehlt es sich zur Reduzierung des Aufwands, die Untersuchungen soweit wie möglich zu kombinieren (z. B. Wiederholpräzision und laborinterne Reproduzierbarkeit mit der Spezifität, die Analyse von Leerwertproben zur Bestimmung der Entscheidungsgrenze zur Bestätigung und Prüfung auf Spezifität).

2.2.1.1. Richtigkeit auf der Grundlage eines zertifizierten Referenzmaterials

Die Richtigkeit einer Analysemethode ist vorzugsweise anhand eines zertifizierten Referenzmaterials zu bestimmen. Das Verfahren hierfür ist in ISO 5725-4:1994 ⁽²⁾ beschrieben.

Ein Beispiel findet sich nachstehend:

1. Analyse von sechs Replikaten des zertifizierten Referenzmaterials gemäß der Prüfvorschrift für die Methode;
2. Ermittlung der Konzentration des Analyten in jedem Replikat;
3. Berechnung des Mittelwerts, der Standardabweichung und des Variationskoeffizienten (%) für diese sechs Replikate;
4. Berechnung der Richtigkeit, indem die gemessene mittlere Konzentration durch den zertifizierten Wert (gemessen als Konzentration) dividiert, mit 100 multipliziert und das Ergebnis als Prozentwert angegeben wird.

Richtigkeit (%) = (mittlere wiederfindungskorrigierte gemessene Konzentration) x 100/zertifizierter Wert

2.2.1.2. Richtigkeit auf der Grundlage dotierter Proben

Ist kein zertifiziertes Referenzmaterial verfügbar, so muss die Richtigkeit der Methode durch Untersuchungen mit dotierter Leerwertmatrix bestimmt werden, und zwar mindestens wie folgt:

1. Bei Methoden, die ab Inkrafttreten dieser Verordnung validiert werden, ist Leerwertmatrix auszuwählen und auf folgenden Konzentrationsniveaus zu dotieren:
 - a) dem 0,5fachen ⁽³⁾, 1,0fachen und 1,5fachen des RPA oder
 - b) dem 0,1fachen ⁽⁴⁾, 1,0fachen und 1,5fachen des MRL oder ML bei zugelassenen Stoffen oder
 - c) dem 1,0fachen, 2,0fachen und 3,0fachen des niedrigsten Dotierniveaus bei nicht zugelassenen Stoffen (für die kein RPA festgelegt ist).
2. Für jedes Konzentrationsniveau ist die Analyse mit mindestens sechs Replikaten durchzuführen.
3. Analyse der Proben.
4. Berechnung der in jeder Probe festgestellten Konzentration.
5. Berechnung der Richtigkeit für jede Probe anhand der nachstehenden Gleichung und anschließend Berechnung der mittleren Richtigkeit und des Variationskoeffizienten für die sechs Ergebnisse bei jeder Konzentration.

Richtigkeit (%) = (mittlere wiederfindungskorrigierte gemessene Konzentration) x 100/Dotierungsniveau

Bei Methoden für zugelassene Stoffe, die vor dem Geltungsbeginn dieser Verordnung validiert wurden, ist eine Bestimmung der Richtigkeit der Methode anhand von 6 dotierten Aliquoten beim 0,5fachen, 1,0fachen und 1,5fachen des MRL oder des ML ausreichend.

⁽²⁾ ISO 5725-4:2020 Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 4: Grundlegende Methoden für die Ermittlung der Richtigkeit eines vereinheitlichten Messverfahrens (Satz 3).

⁽³⁾ Ist für die Validierung eines nicht zugelassenen pharmakologisch wirksamen Stoffes eine Konzentration des 0,5fachen des RPA nicht mit angemessenem Aufwand erreichbar, so kann die Konzentration des 0,5fachen RPA ersetzt werden durch die niedrigste Konzentration zwischen dem 0,5fachen und dem 1,0fachen des RPA, die sinnvoll erreichbar ist.

⁽⁴⁾ Ist für die Validierung eines spezifischen pharmakologisch wirksamen Stoffes eine Konzentration des 0,1fachen des MRL nicht mit angemessenem Aufwand erreichbar, so kann die Konzentration des 0,1fachen des MRL ersetzt werden durch die niedrigste Konzentration zwischen dem 0,1fachen und dem 0,5fachen des RHG, die sinnvoll erreichbar ist.

2.2.1.3. Wiederholpräzision

1. Bei Methoden, die ab Inkrafttreten dieser Verordnung validiert werden, ist ein Satz identischer Proben (identische Leerwertmatrix, identische Tierart) vorzubereiten. Diese sind mit dem Analyten zu folgenden Konzentrationsniveaus zu dotieren:
 - a) dem 0,5fachen ⁽⁵⁾, 1,0fachen und 1,5fachen des RPA oder
 - b) dem 0,1fachen ⁽⁶⁾, 1,0fachen und 1,5fachen des MRL oder ML bei zugelassenen Stoffen oder
 - c) dem 1,0fachen, 2,0fachen und 3,0fachen des niedrigsten Dotierniveaus bei nicht zugelassenen oder verbotenen Stoffen, falls kein RPA festgelegt ist.
2. Für jedes Konzentrationsniveau ist die Analyse mit mindestens sechs Replikaten durchzuführen.
3. Analyse der Proben.
4. Berechnung der in jeder Probe festgestellten Konzentration.
5. Berechnung der mittleren Konzentration, der Standardabweichung und des Variationskoeffizienten (%) der dotierten Proben.
6. Mindestens zweimalige Wiederholung dieser Schritte.
7. Berechnung der mittleren Konzentrationen, der Standardabweichungen (durch Berechnung des Durchschnitts der quadrierten Standardabweichung und Ziehung der Quadratwurzel hieraus) und der Variationskoeffizienten der dotierten Proben insgesamt.

Bei Methoden für zugelassene Stoffe, die vor Inkrafttreten dieser Verordnung validiert wurden, ist eine Bestimmung der Wiederholpräzision auf Konzentrationsniveaus des 0,5fachen, 1,0fachen und 1,5fachen des MRL oder des ML ausreichend (dotierte Leerwertmatrices).

Alternativ kann die Berechnung der Wiederholpräzision gemäß ISO 5725-2:2019 ⁽⁷⁾ erfolgen.

2.2.1.4. Laborinterne Reproduzierbarkeit

1. Bei Validierungen, die nach Inkrafttreten dieser Verordnung durchgeführt werden, ist ein Satz Proben mit definiertem Prüfmaterial (identische oder verschiedene Matrices) vorzubereiten, die mit dem/den Analyten zu folgenden Konzentrationsniveaus dotiert werden:
 - a) dem 0,5fachen⁽⁵⁾, 1,0fachen und 1,5fachen des RPA oder
 - b) dem 0,1fachen⁽⁶⁾, 1,0fachen und 1,5fachen des MRL oder ML bei zugelassenen Stoffen oder
 - c) dem 1,0fachen, 2,0fachen und 3,0fachen des niedrigsten Dotierniveaus bei nicht zugelassenen oder verbotenen Stoffen, falls kein Referenzwert für Maßnahmen gilt.
2. In jeder Konzentration ist die Analyse mit mindestens sechs Replikaten von Leerwertmaterial durchzuführen.
3. Analyse der Proben.
4. Berechnung der in jeder Probe festgestellten Konzentration.

⁽⁵⁾ Ist für die Validierung eines nicht zugelassenen pharmakologisch wirksamen Stoffes eine Konzentration des 0,5fachen des RPA nicht mit angemessenem Aufwand erreichbar, so kann die Konzentration des 0,5fachen des RPA ersetzt werden durch die niedrigste Konzentration zwischen dem 0,5fachen und dem 1,0fachen des Referenzwerts für Maßnahmen, die sinnvoll erreichbar ist.

⁽⁶⁾ Ist für die Validierung eines spezifischen pharmakologisch wirksamen Stoffes eine Konzentration des 0,1fachen des MRL nicht mit angemessenem Aufwand erreichbar, so kann die Konzentration des 0,1fachen des MRL ersetzt werden durch die niedrigste Konzentration zwischen dem 0,1fachen und dem 0,5fachen des MRL, die sinnvoll erreichbar ist.

⁽⁷⁾ ISO 5725-2:2019 Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (Satz 3).

5. Mindestens zweimalige Wiederholung dieser Schritte mit verschiedenen Chargen Leerwertmaterials, anderen Bearbeitenden und möglichst vielen unterschiedlichen Umgebungsbedingungen, beispielsweise anderen Chargen von Reagenzien, anderen Lösungsmitteln, anderen Raumtemperaturen, anderen Geräten oder anderen Parametern.
6. Bestimmung der mittleren Konzentration, der Standardabweichung und des Variationskoeffizienten (%) der dotierten Proben.

Bei Methoden für zugelassene Stoffe, die vor Inkrafttreten dieser Verordnung validiert wurden, ist eine Bestimmung der laborinternen Reproduzierbarkeit anhand dotierter Matrices in Konzentrationen des 0,5fachen, 1,0fachen und 1,5fachen des MRL oder des ML ausreichend.

Alternativ kann die Berechnung der laborinternen Reproduzierbarkeit/der Laborpräzision auch gemäß ISO 5725-2:2019, ISO 11843-1:1997 ⁽⁸⁾, Codex CAC/GL 59-2006 ⁽⁹⁾ erfolgen.

2.2.2. Validierung nach alternativen Modellen

Zur Berechnung der Parameter nach alternativen Modellen muss ein Versuchsplan erstellt werden. Dieser Versuchsplan muss in Abhängigkeit von der Anzahl der verschiedenen Tierarten und der verschiedenen zu untersuchenden Faktoren angelegt sein. Deshalb muss als erster Schritt des Validierungsvorhabens ermittelt werden, welche Probenarten künftig im Labor analysiert werden sollen, um die wichtigsten Tierarten und Faktoren auszuwählen, welche die Messergebnisse beeinflussen können. Der faktorielle Ansatz erlaubt die Einschätzung der Messunsicherheit der Testergebnisse, die unter verschiedenen Bedingungen, wie zum Beispiel verschiedene Bearbeitende, verschiedene Geräte, verschiedene Chargen von Reagenzien, verschiedene Matrices, verschiedene Bearbeitungsdauern und Umgebungsbedingungen in einem bestimmten Labor erzielt wurden. Anschließend muss der Konzentrationsbereich anwendungsbezogen entsprechend dem MRL bzw. dem ML bei zugelassenen Stoffen oder dem RPA bzw. dem niedrigsten Dotierniveau bei verbotenen oder nicht zugelassenen Stoffen gewählt werden.

Ziel des faktoriellen Ansatzes ist die Ermittlung verlässlicher Präzisionsdaten und Messergebnisse durch die gleichzeitig stattfindende kontrollierte Variation der ausgewählten Faktoren. Er ermöglicht die Auswertung der kombinierten Wirkung faktorieller und zufälliger Effekte. Der Versuchsplan erlaubt außerdem die Untersuchung der Robustheit ⁽¹⁰⁾ der Analysemethode und die Bestimmung der laborinternen Reproduzierbarkeit unter Einbeziehung verschiedener Matrices.

Nachstehend folgt ein Beispiel für einen alternativen Validierungsansatz unter Verwendung eines orthogonalen Versuchsplans.

Es können bis zu sieben Faktoren („Rauschfaktoren“) untersucht werden. Die Untersuchung ist so konzipiert, dass Präzision, Richtigkeit (auf Basis dotierter Proben), Sensitivität, Messunsicherheit und kritische Konzentrationen durch die Verwendung des Versuchsplans gleichzeitig bestimmt werden können.

Tabelle 6

Beispiel für einen orthogonalen Versuchsplan mit 7 Faktoren (I — VII), jeweils auf zwei Faktorstufen (A/B) variiert, in einer Validierungsstudie mit acht Läufen (Faktor-Stufen-Kombinationen)

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

⁽⁸⁾ ISO 11843-1:1997 Erkennungsfähigkeit — Teil 1: Begriffe.

⁽⁹⁾ Codex-Alimentarius-Kommission, Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen/Weltgesundheitsorganisation, Guidelines on estimation of uncertainty of results (CAC/GL 59-2006).

⁽¹⁰⁾ Die einschlägigen Änderungen in den Versuchsbedingungen können das Probenmaterial, die Analyten, die Lagerbedingungen sowie Umgebungs- und/oder Probenvorbereitungsbedingungen betreffen. Für alle Versuchsbedingungen, die in der Praxis möglicherweise schwanken können (beispielsweise Stabilität der Reagenzien, Zusammensetzung der Probe, pH-Werte, Temperatur), ist anzugeben, welche Schwankungen das Analyseergebnis beeinflussen könnten.

Lauf 05	B	A	A	B	B	A	B
Lauf 06	B	A	B	B	A	B	A
Lauf 07	B	B	A	A	B	B	A
Lauf 08	B	B	B	A	A	A	B

Die Berechnung der Methodeigenschaften ist gemäß der Beschreibung von Jülicher et al. ⁽¹¹⁾ vorzunehmen.

2.2.3. Andere Validierungsansätze

Andere Ansätze zum Nachweis, dass die Methode die Leistungskriterien für die Leistungsmerkmale erfüllt, sind zulässig, sofern sie Informationen im selben Umfang und in derselben Qualität liefern. Die Validierung kann auch erfolgen, indem eine Laborvergleichsstudie zum Beispiel gemäß Codex Alimentarius, ISO oder IUPAC ⁽¹²⁾ durchgeführt wird, oder mittels alternativer Methoden, zum Beispiel laborinterner Validierungsstudien ⁽¹³⁾. Wenn andere Validierungsverfahren angewandt werden, sind das zugrunde liegende Modell und die Strategie sowie die jeweiligen Voraussetzungen, Annahmen und Formeln im Validierungsprotokoll darzulegen oder es ist zumindest auf die entsprechenden Quellen zu verweisen.

2.3. Selektivität/Spezifität

Das Unterscheidungsvermögen zwischen dem Analyten und eng verwandten Stoffen ist im bestmöglichen Umfang zu bestimmen. Störungen durch Homologe, Isomere, Abbauprodukte, endogene Stoffe, Analoga, Metabolite des interessierenden Rückstands, Matrixbestandteile oder sonstige möglicherweise störende Stoffe sind zu ermitteln. Falls nötig ist die Methode dahingehend zu ändern, dass die ermittelten Störungen vermieden werden. Die Spezifität der Methode muss anhand des folgenden Ansatzes bestimmt werden:

1. Es ist eine Reihe chemisch verwandter Verbindungen oder anderer Stoffe auszuwählen, die wahrscheinlich zusammen mit der interessierenden Verbindung, die in den Proben vorhanden sein kann, vorkommen, und zu prüfen, ob sie die Analyse des/der Zielanalyten beeinträchtigen könnten.
2. Eine geeignete Anzahl an repräsentativen Leerwertproben, z. B. verschiedene Chargen einer Tierart oder verschiedene Chargen verschiedener Tierarten ($n \geq 20$), ist zu analysieren und in dem interessierenden Bereich, in dem die Elution des Zielanalyten zu erwarten ist, auf Störungen (Signale, Peaks oder Ionenspuren) zu untersuchen.
3. Repräsentative Leerwertproben sind in einer relevanten Konzentration mit Stoffen zu dotieren, welche die Identifizierung und/oder Quantifizierung des Analyten beeinträchtigen könnten, und zu untersuchen, ob der zugesetzte Stoff
 - a) zu einer falschen Identifizierung führen kann;
 - b) die Identifizierung des Zielanalyten beeinträchtigt;
 - c) die Quantifizierung nennenswert beeinflusst.

2.4. Robustheit

Die Gültigkeit der Methodenkenngrößen ist unter verschiedenen Versuchsbedingungen zu prüfen, wozu beispielsweise unterschiedliche Probenahmebedingungen und geringfügige Änderungen gehören, die sich bei Routineanalysen ergeben können. Bei dieser Prüfung der Robustheit der Methode sollten die Versuchsbedingungen nur geringfügig geändert werden. Der Einfluss dieser Änderungen auf die Leistungsfähigkeit der Methode ist zu bewerten. Für alle geringfügigen Änderungen, die nachweislich einen wesentlichen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit des Tests haben, muss jedes Leistungsmerkmal bestimmt werden.

⁽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. Stabilität

Die Stabilität des Kalibrierstandards, des matrix-angepassten Standards und/oder des Matrixstandards sowie des Analyten oder der Matrixbestandteile in der Probe während der Lagerung oder der Analyse ist zu bestimmen, da Instabilitäten die Testergebnisse beeinflussen könnten.

Normalerweise ist die Analytstabilität unter verschiedenen Lagerungsbedingungen gut charakterisiert. Die zur Überwachung der Lagerungsbedingungen von Standards und Proben durchgeführten Untersuchungen, die im Rahmen der normalen Laborakkreditierung und des Qualitätskontrollsystems erfolgen, können die erforderlichen Informationen liefern. Stehen für die Analyten in der Matrix Stabilitätsdaten zur Verfügung (z. B. auf Grundlage von Informationen aus den EU-Referenzlaboratorien oder von veröffentlichten Daten), so brauchen diese Daten nicht von jedem Labor ermittelt zu werden. Ein Verweis auf verfügbare Stabilitätsdaten für Analyten in Lösung und in Matrix ist jedoch nur akzeptabel, wenn identische Bedingungen angewandt werden.

Falls die erforderlichen Stabilitätsdaten nicht verfügbar sind, sollten die nachstehenden Ansätze verfolgt werden.

2.5.1. Bestimmung der Stabilität des Analyten in Lösung

1. Herstellung frischer Stammlösungen des/der Analyten und Verdünnung gemäß den Angaben in der Prüfvorschrift, um ausreichend Aliquote (z. B. 40) jeder gewählten Konzentration zu erhalten. Die Proben sind herzustellen aus
 - a) Lösungen des Analyten, die für die Dotierung verwendet werden;
 - b) Analytlösungen, die für die abschließende Analyse verwendet werden;
 - c) sonstigen interessierenden Lösungen (z. B. derivatisierten Standards).
2. Messung des Analytgehalts in der frisch hergestellten Lösung gemäß der Prüfvorschrift.
3. Abfüllung entsprechender Volumina in geeignete Behältnisse, Etikettierung und Lagerung gemäß den Licht- und Temperaturbedingungen in Tabelle 7. Die Lagerungszeit ist unter Berücksichtigung der angewandten analytischen Praxis zu wählen, idealerweise bis die ersten Abbauerscheinungen bei der Identifizierung und/oder Quantifizierung festzustellen sind. Ist während der Stabilitätsprüfung kein Abbau festzustellen, so gilt die Lagerungsdauer der Stabilitätsprüfung als identisch mit der maximalen Lagerungsdauer der Lösung.
4. Berechnung der Konzentration des/der Analyten in jedem Aliquot im Vergleich zur Konzentration des Analyten in der frisch hergestellten Lösung anhand folgender Formel:

$$\text{Restanalyt (\%)} = C_i \times 100 / C_{\text{frisch}}$$

$$C_i = \text{Konzentration zum Zeitpunkt } i$$

$$C_{\text{frisch}} = \text{Konzentration der frischen Lösung}$$

Der Mittelwert von fünf gelagerten Replikaten darf maximal um 15 % vom Mittelwert von fünf frisch hergestellten Replikaten abweichen. Der Mittelwert der fünf frisch hergestellten Lösungen ist als Grundlage für die Berechnung der prozentualen Differenz heranzuziehen.

Tabelle 7

Schema für die Bestimmung der Analytstabilität in Lösung

	-20 °C	+4 °C	+20 °C
Dunkel	10 Aliquote	10 Aliquote	10 Aliquote
Hell			10 Aliquote

2.5.2. Bestimmung der Stabilität des/der Analyten in Matrix

1. Nach Möglichkeit ist gewachsenes Probenmaterial zu verwenden. Wenn kein solches Material zur Verfügung steht, ist eine mit dem Analyten dotierte Leerwertmatrix zu verwenden.

2. Wenn gewachsenes Probenmaterial zur Verfügung steht, ist die Konzentration in der Matrix zu bestimmen, solange diese noch frisch ist. Weitere Aliquote des homogenisierten gewachsenen Probenmaterials sind bei -20 °C oder erforderlichenfalls darunter zu lagern, und die Konzentrationen des Analyten sind zu bestimmen, solange die Probe im Labor gelagert wird.
3. Wenn kein gewachsenes Probenmaterial zur Verfügung steht, ist eine ausreichende Menge Leerwertmatrix zu homogenisieren und in 5 Aliquote aufzuteilen. Jedes Aliquot ist mit dem Analyten zu dotieren, der vorzugsweise in einer geringen Menge wässriger Lösung gelöst werden sollte. Ein Aliquot der so dotierten Leerwertmatrix ist sofort zu analysieren. Die verbleibenden Aliquote sind bei mindestens -20 °C oder erforderlichenfalls darunter zu lagern und nach kurzfristiger, mittelfristiger und langfristiger Lagerung mit geeigneten Analysemethoden zu analysieren.
4. Die maximal akzeptable Lagerungszeit und die optimalen Lagerungsbedingungen sind zu dokumentieren.

Der Mittelwert von fünf gelagerten Replikaten darf maximal um die laborinterne Reproduzierbarkeit der Methode vom Mittelwert von fünf frisch hergestellten Replikaten abweichen. Der Mittelwert der fünf frisch hergestellten Replikate ist als Grundlage für die Berechnung der prozentualen Differenz heranzuziehen.

2.6. Entscheidungsgrenze für die Bestätigung (CCa)

Die CCa ist für Bestätigungsmethoden zu bestimmen. Die CCa muss unter Bedingungen bestimmt werden, die den Anforderungen für die Identifizierung oder die Identifizierung plus Quantifizierung entsprechen, wie in Kapitel 1 („Leistungskriterien und sonstige Anforderungen für Analysemethoden“) dargelegt.

Zur Kontrolle der Konformität der Proben wird die kombinierte Standardmessunsicherheit beim CCa-Wert (Entscheidungsgrenze für die Bestätigung) bereits berücksichtigt.

1. Für nicht zugelassene oder verbotene pharmakologisch wirksame Stoffe ist die CCa wie folgt zu berechnen:
 - a) Methode 1: durch das Kalibrierkurvenverfahren gemäß ISO 11843-1:1997 ⁽¹⁴⁾ (hier als kritischer Wert der Nettokonzentration des Analyten bezeichnet). In diesem Fall muss Leerwertmaterial verwendet werden, das in gleichmäßigen Schritten an und über dem RPA oder des niedrigsten Dotierniveaus dotiert ist. Die Proben sind zu analysieren. Nach der Identifizierung ist, soweit möglich, das Signal oder die berechnete Konzentration gegen die dotierte Konzentration aufzutragen. Die entsprechende Konzentration am y-Abschnitt plus das 2,33fache der Standardabweichung der laborinternen Reproduzierbarkeit am Achsenabschnitt ist gleich der Entscheidungsgrenze. Dieses Verfahren ist nur auf quantitative Bestimmungen anwendbar. Durch diesen Ansatz ermittelte Entscheidungsgrenzen sind durch die Analyse von Leerwertmatrix, dotiert in der Konzentration der berechneten Entscheidungsgrenze, zu verifizieren.
 - b) Methode 2: durch Analyse von mindestens 20 repräsentativen Leerwertmaterialien pro Matrix, um das Signal-Rausch-Verhältnis im Zeitfenster, in dem der Analyt zu erwarten ist, zu berechnen. Das Dreifache des Signal-Rausch-Verhältnisses kann als Entscheidungsgrenze herangezogen werden. Dieses Verfahren ist auf quantitative und qualitative Bestimmungen anwendbar. Durch diesen Ansatz ermittelte Entscheidungsgrenzen sind durch die Analyse von Leerwertmatrix, dotiert in der Konzentration der berechneten Entscheidungsgrenze, zu verifizieren.
 - c) Methode 3: $CCa = \text{niedrigstes Dotierniveau} + k (\text{einseitig, 99 \%}) \times (\text{kombinierte}) \text{ Standardmessunsicherheit am niedrigsten Dotierniveau}$.

Bei nicht zugelassenen oder verbotenen pharmakologisch wirksamen Stoffen könnte — abhängig von der Validierungsstudie (und den entsprechenden Freiheitsgraden) — die t-Verteilung nach vernünftigem Ermessen angewandt werden, oder — falls die Gaussche Verteilung (einseitig, $n=\infty$) als Grundlage herangezogen wird — ist ein k-Faktor von 2,33 zu verwenden.

Die laborinterne Reproduzierbarkeit und die Richtigkeit sind geeignet, um die (kombinierte) Standardmessunsicherheit abzuleiten, wenn dies unter Berücksichtigung aller relevanten Einflussfaktoren geschieht.

Im Fall von Methoden, die vor Inkrafttreten dieser Verordnung validiert wurden, darf Methode 2 zur Berechnung der CCa nur bis zum 1. Januar 2026 angewandt werden. Im Fall von Methoden, die nach Inkrafttreten dieser Verordnung validiert werden, dürfen nur die Methoden 1 und 3 angewandt werden.

⁽¹⁴⁾ ISO 11843-1:1997 Erkennungsfähigkeit — Teil 1: Begriffe.

2. Bei zugelassenen Stoffen ist die CC α wie folgt zu berechnen:

- a) Bei zugelassenen Stoffen in Matrix-Spezies-Kombinationen, für die ein MRL oder ein ML festgelegt wurde:
- Methode 1: durch das Kalibrierkurvenverfahren gemäß ISO 11843-1:1997 (hier als kritischer Wert der Nettokonzentration des Analyten bezeichnet). In diesem Fall muss Leerwertmaterial verwendet werden, das in gleichmäßigen Schritten am und über dem Konzentrationsniveau des MRL oder des ML dotiert ist. Die Proben sind zu analysieren. Nach der Identifizierung ist, soweit möglich, das Signal oder die berechnete Konzentration gegen die dotierte Konzentration aufzutragen. Die entsprechende Konzentration des MRL oder des ML plus das 1,64fache der Standardabweichung der laborinternen Reproduzierbarkeit an dem Grenzwert ist gleich der Entscheidungsgrenze ($\alpha = 5\%$).
 - Methode 2: $CC\alpha = \text{MRL (oder ML)} + k \text{ (einseitig, 95 \%)} \times \text{(kombinierte) Standardmessunsicherheit beim MRL oder ML.}$

Bei zugelassenen Stoffen könnte — abhängig von der Validierungsstudie (und den entsprechenden Freiheitsgraden) — die t-Verteilung nach vernünftigem Ermessen angewandt werden, oder — falls die Gausssche Verteilung (einseitig, $n=\infty$) als Grundlage herangezogen wird — ist ein k-Faktor von 1,64 zu verwenden.

Die laborinterne Reproduzierbarkeit und die Richtigkeit sind geeignet, um die (kombinierte) Standardmessunsicherheit abzuleiten, wenn dies unter Berücksichtigung aller relevanten Einflussfaktoren geschieht.

Bei pharmakologisch wirksamen Stoffen, bei denen der MRL für die Summe verschiedener Stoffe festgelegt ist, muss die CC α des Stoffs mit der höchsten Konzentration in der Probe als CC α für die Bewertung der Summe der Stoffe in der gemessenen Probe verwendet werden.

- b) Bei zugelassenen Stoffen in Matrix-Tierart-Kombinationen, für die kein MRL festgelegt wurde, dürfen keine Rückstände vorhanden sein, es sei denn, dass eine zugelassene Behandlung gemäß Artikel 11 der Richtlinie 2001/82/EG stattgefunden hat. Bei zugelassenen Stoffen, für die kein MRL festgelegt wurde, ist der gemäß der Durchführungsverordnung (EU) 2018/470 der Kommission⁽¹⁵⁾ bestimmte Kaskaden-MRL zur Berechnung der CC α zu verwenden. Die Methoden 1 oder 2 des obigen Absatzes sind anzuwenden. Dabei wird jedoch als „MRL“ das 0,5fache des Kaskaden-MRL eingesetzt, oder — sofern mit angemessenem Aufwand erreichbar — das 0,1fache des Kaskaden-MRL.

2.7. Nachweisvermögen von Screeningverfahren (CC β)

Das CC β ist für Screeningmethoden zu bestimmen. Das CC β ist wie in Kapitel 1 („Leistungskriterien und sonstige Anforderungen für Analysemethoden“) dieses Anhangs beschrieben und gemäß den Anforderungen in Tabelle 5 zu bestimmen. Bei Screeningmethoden brauchen jedoch die Anforderungen bezüglich der Identifizierung (siehe 1.2.3, 1.2.4 und 1.2.5) nicht vollständig erfüllt zu werden.

- Bei nicht zugelassenen oder verbotenen pharmakologisch wirksamen Stoffen ist ein maximaler β -Fehler von 5 % sicherzustellen. Das CC β ist wie folgt zu berechnen:
 - Methode 1: durch das Kalibrierkurvenverfahren gemäß ISO 11843-1:1997 (hier als kleinster nachweisbarer Wert der Nettokonzentration des Analyten bezeichnet). In diesem Fall muss repräsentatives Leerwertmaterial verwendet werden, das in gleichmäßigen Schritten am und unter dem Konzentrationsniveau des RPA, oder falls kein RPA festgelegt wurde, um die STC dotiert ist. Die Proben sind zu analysieren. Das Signal ist gegen die dotierte Konzentration aufzutragen. Die entsprechende Konzentration bei der STC plus das 1,64fache der Standardabweichung der laborinternen Reproduzierbarkeit des mittleren gemessenen Gehalts bei der STC ist gleich dem Nachweisvermögen. Die Extrapolation weit unter das niedrigste Dotierniveau ($< 50\%$ der niedrigsten Dotierung) ist durch Untersuchungsdaten, die im Rahmen der Validierungsstudie zu erheben sind, zu bestätigen.
 - Methode 2: Untersuchung von dotiertem Leerwertmaterial, dotiert auf dem Konzentrationsniveau der STC und darüber. Für jedes Konzentrationsniveau sind 20 dotierte Leerwertproben zu analysieren, damit eine zuverlässige Basis für diese Bestimmung gewährleistet wird. Die Konzentration, bei der nur $\leq 5\%$ nicht konforme („falsch negative“) Ergebnisse verbleiben, ist gleich dem Nachweisvermögen der Methode.
 - Methode 3: $CC\beta = \text{STC} + k \text{ (einseitig, 95 \%)} \times \text{(kombinierte) Standardmessunsicherheit bei oder über der STC.}$

⁽¹⁵⁾ Durchführungsverordnung (EU) 2018/470 der Kommission vom 21. März 2018 mit ausführlichen Vorschriften zu den Rückstandshöchstmengen, die bei Kontrollen von Lebensmitteln zu berücksichtigen sind, die von in der EU gemäß Artikel 11 der Richtlinie 2001/82/EG behandelten Tieren stammen (ABl. L 79 vom 22.3.2018, S. 16).

Bei nicht zugelassenen oder verbotenen pharmakologisch wirksamen Stoffen könnte — abhängig von der Validierungsstudie (und den entsprechenden Freiheitsgraden) — die t-Verteilung nach vernünftigem Ermessen angewandt werden, oder — falls die Gaussche Verteilung (einseitig, $n=\infty$) als Grundlage herangezogen wird — ist ein k-Faktor von 1,64 zu verwenden.

Die laborinterne Reproduzierbarkeit und die Richtigkeit sind geeignet, um die (kombinierte) Standardmessunsicherheit abzuleiten, wenn dies unter Berücksichtigung aller relevanten Einflussfaktoren geschieht.

2. Bei zugelassenen Stoffen ist ein maximaler β -Fehler von 5 % sicherzustellen. Das $CC\beta$ ist wie folgt zu berechnen:

a) Methode 1: durch das Kalibrierkurvenverfahren gemäß ISO 11843-1:1997 (hier als kleinster nachweisbarer Wert der Nettokonzentration des Analyten bezeichnet). In diesem Fall muss repräsentatives Leerwertmaterial verwendet werden, das in gleichmäßigen Schritten auf dem Konzentrationsniveau des zulässigen Grenzwerts und darunter, beginnend mit der STC, dotiert ist. Die Proben sind zu analysieren und die Analyten zu quantifizieren, die Standardabweichung des mittleren gemessenen Gehalts bei der STC ist zu berechnen.

Die entsprechende Konzentration bei der STC plus das 1,64fache der Standardabweichung der laborinternen Reproduzierbarkeit des mittleren gemessenen Gehalts bei der STC ist gleich dem Nachweisvermögen.

b) Methode 2: durch Untersuchung von dotiertem Leerwertmaterial auf Konzentrationsniveau unterhalb des zulässigen Grenzwerts. Für jede Konzentration sind 20 dotierte Leerwertproben zu analysieren, damit eine zuverlässige Basis für diese Bestimmung gewährleistet wird. Die Konzentration, bei der nur ≤ 5 % nicht konforme Ergebnisse verbleiben, ist gleich dem Nachweisvermögen der Methode.

c) Methode 3: $CC\beta = STC + k$ (einseitig, 95 %) \times (kombinierte) Standardmessunsicherheit bei oder über der STC.

Bei zugelassenen Stoffen könnte — abhängig von der Validierungsstudie (und den entsprechenden Freiheitsgraden) — die t-Verteilung nach vernünftigem Ermessen angewandt werden, oder — falls die Gaussche Verteilung (einseitig, $n=\infty$) als Grundlage herangezogen wird — ist ein k-Faktor von 1,64 zu verwenden (sowohl bei der Anwendung von Kaskaden-RHG als auch bei der normalen Anwendung von RHG).

Die laborinterne Reproduzierbarkeit und die Richtigkeit sind geeignet, um die (kombinierte) Standardmessunsicherheit abzuleiten, wenn dies unter Berücksichtigung aller relevanten Einflussfaktoren geschieht.

Bei pharmakologisch wirksamen Stoffen, bei denen der MRL für die Summe verschiedener Stoffe festgelegt ist, muss das $CC\beta$ des Stoffs mit der höchsten Konzentration in der Probe als $CC\beta$ für die Bewertung der Summe der Stoffe in der gemessenen Probe verwendet werden.

2.8. Kalibrierkurven

Wenn Kalibrierkurven zur Quantifizierung verwendet werden, gilt Folgendes:

- (1) Mindestens fünf — vorzugsweise in gleichmäßigen Schritten festgelegte — Konzentrationsstufen (einschließlich null) sollten zur Erstellung der Kurve verwendet werden;
- (2) der Arbeitsbereich der Kurve ist zu beschreiben;
- (3) die mathematische Formel der Kurve und die Anpassungsgüte der Daten (Bestimmtheitsmaß R^2) an die Kurve sind zu beschreiben;
- (4) Akzeptanzbereiche für die Parameter der Kurve sind zu beschreiben.

Für Kalibrierkurven auf der Grundlage von Standardlösungen, matrix-angepasster Standards oder Matrixstandards sind Akzeptanzbereiche für die Parameter der Kalibrierkurve anzugeben, die von Serie zu Serie variieren können.

2.9. Absolute Wiederfindungsrate

Die absolute Wiederfindungsrate der Methode ist zu bestimmen, wenn kein interner Standard oder kein Matrixstandard verwendet wird.

Wenn die Anforderungen bezüglich der Richtigkeit, wie in Tabelle 1 angegeben, erfüllt sind, kann ein fester Korrekturfaktor verwendet werden. Ansonsten ist der für die betreffende Probenserie ermittelte Wiederfindungsfaktor zu verwenden. Alternativ muss anstatt eines Wiederfindungskorrekturfaktors das Standardadditionsverfahren⁽¹⁶⁾ oder ein interner Standard verwendet werden.

Die absolute Wiederfindungsrate muss für mindestens sechs repräsentative Matrixchargen berechnet werden.

Ein Aliquot eines Leerwertmaterials ist vor der Extraktion mit dem Analyten zu dotieren, ein zweites Aliquot eines Leerwertmaterials ist nach der Probenvorbereitung in einer relevanten Konzentration zu dotieren, und die Konzentration des Analyten ist zu bestimmen.

Die Wiederfindungsrate ist wie folgt zu berechnen:

$$\text{Rec (Analyt)} = (\text{Signalfläche Matrixstandard}) / (\text{Signalfläche matrix-angepasster Standard}) \times 100$$

2.10. Relative Matrixeffekte

Der relative Matrixeffekt muss in allen Fällen bestimmt werden. Dies kann entweder im Rahmen der Validierung oder in getrennten Untersuchungen erfolgen. Die Berechnung des relativen Matrixeffekts muss für mindestens 20 verschiedene Leerwertproben (Matrix/Tierart-Kombinationen) durchgeführt werden, entsprechend des Anwendungsbereichs der Methode (z. B. Erfassung verschiedener Tierarten).

Die Leerwertmatrix sollte nach der Extraktion mit dem Analyten in der Konzentration des RPA, des MRL oder des ML dotiert und zusammen mit einer reinen Lösung des Analyten analysiert werden.

Der relative Matrixeffekt oder Matrixfaktor (MF) wird wie folgt berechnet:

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

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

$$\text{MF (für den IS normalisierter Standard)} = \frac{\text{MF (standard)}}{\text{MF (IS)}}$$

IS: interner Standard

MMS: matrix-angepasster Standard

Der Variationskoeffizient für den MF (für den IS normalisierter Standard) darf nicht mehr als 20 % betragen.

KAPITEL 3

QUALITÄTSKONTROLLE IN DER ROUTINEANALYTIK — LAUFENDE ÜBERPRÜFUNG DER LEISTUNGSFÄHIGKEIT DER METHODE

Die Anforderungen bezüglich der Qualitätssicherung von Analyseergebnissen gemäß Kapitel 7.7 von ISO/IEC 17025:2017⁽¹⁷⁾ müssen erfüllt sein.

Bei der Routineanalyse ist die Analyse zertifizierter Referenzmaterialien die bevorzugte Option zum Nachweis der Leistungsfähigkeit der Methode. Da zertifizierte Referenzmaterialien, welche die relevanten Analyten in den erforderlichen Konzentrationen enthalten, nur selten verfügbar sind, können alternativ auch Referenzmaterialien verwendet werden, die von den EU-Referenzlaboratorien oder von Laboratorien mit einer Akkreditierung gemäß ISO/IEC 17043:2010⁽¹⁸⁾ bereitgestellt und charakterisiert wurden. Eine weitere Alternative ist die Verwendung interner Referenzmaterialien, die aber regelmäßig überprüft werden müssen.

Die laufende Überwachung der Leistungsfähigkeit der Methode in der Routineanalytik sollte während des Probenscreenings und der Probenbestätigung erfolgen.

⁽¹⁶⁾ Die Menge des zugesetzten Standardanalyten kann beispielsweise zwischen dem Zweifachen und dem Fünffachen der geschätzten Menge des Analyten in der Probe betragen. Dieses Verfahren dient dazu, den Gehalt eines Analyten in einer Probe unter Berücksichtigung der Wiederfindung des Analyseverfahrens zu bestimmen.

⁽¹⁷⁾ ISO/IEC 17025:2017 Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (Kapitel 7.7).

⁽¹⁸⁾ ISO/IEC 17043:2010 Konformitätsbewertung — Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen.

1. In der Screeningphase:

Für jede Serie durchgeführter Analysen ist ein Satz folgender Qualitätskontrollproben gleichzeitig zu analysieren:

- a) Systemkontrollprobe, im Idealfall methodenspezifisch;
- b) Qualitätskontrollproben, die bei zugelassenen sowie verbotenen oder nicht zugelassenen pharmakologisch wirksamen Stoffen in einer Konzentration nahe der STC und idealerweise in der Konzentration des CC β dotiert sind;
- c) konforme Kontrollprobe (Leerwertproben) und, falls relevant, Reagenzienleerwerte.

2. In der Bestätigungsphase:

Für jede Serie durchgeführter Analysen ist ein Satz folgender Qualitätskontrollproben gleichzeitig zu analysieren:

- a) Systemkontrollprobe, im Idealfall methodenspezifisch;
- b) Qualitätskontrollproben, die bei zugelassenen pharmakologisch wirksamen Stoffen in einer Konzentration nahe dem MRL oder dem ML und bei verbotenen oder nicht zugelassenen Stoffen in einer Konzentration nahe dem RPA oder dem niedrigsten Dotierniveau dotiert sind (nicht konforme Kontrollproben);
- c) konforme Kontrollprobe (Leerwertproben) und, falls relevant, Reagenzienleerwerte.

Für die Qualitätskontrollproben wird folgende Reihenfolge empfohlen: Systemkontrollprobe, konforme Kontrollprobe, zu bestätigende Probe(n), konforme Kontrollprobe und dotierte Qualitätskontrollprobe (nicht konforme Kontrollproben).

Bei quantitativen Methoden ist für jede Serie amtlicher Proben vor oder nach den oben aufgeführten Proben eine Kalibrierkurve zu analysieren und zu messen.

Soweit praktikabel, ist die Richtigkeit (auf der Grundlage dotierter Proben) aller Zielanalyten in den nicht konformen Kontrollproben anhand von Qualitätskontrollkarten gemäß Kapitel 7.7 von ISO/IEC 17025:2017 zu bewerten. Falls dies eine unverhältnismäßig hohe Anzahl an Bestimmungen der Richtigkeit erfordert, kann die Zahl der Analyten auf eine Anzahl repräsentativer Analyten reduziert werden.

KAPITEL 4

ERWEITERUNG DES VALIDIERTEN ANWENDUNGSBEREICHS EINER BEREITS ZUVOR VALIDIERTEN METHODE

Bisweilen ist es erforderlich, den Anwendungsbereich einer bereits zuvor umfassend validierten Methode zu erweitern. In diesen Fällen sollte eine Erweiterung des Anwendungsbereichs auf effiziente und analytisch fundierte Weise erfolgen. Erreicht werden kann dies durch die Validierung einer im Vergleich zu einer vollständigen Validierung reduzierten Anzahl von Proben (z. B. der halben Probenzahl).

Allerdings müssen Art und Anzahl der zu validierenden Änderungen in einem einzelnen reduzierten Validierungsplan stets auf Expertenwissen und Erfahrung basieren; so würde beispielsweise eine Änderung im Detektionsverfahren in jedem Fall eine vollständige Validierung erfordern.

Generell muss zur Gewährleistung der Validität der Methode deren Leistungsfähigkeit laufend überwacht und mit den ursprünglich erzielten Validierungsparametern verglichen werden. Idealerweise ist diese laufende Kontrolle der Leistungsfähigkeit der Methode so angelegt, dass die für eine vollständige Validierung fehlenden Daten im Lauf der Zeit erhoben werden können (z. B. mit einigen Datenpunkten aus Qualitätskontrollproben in jeder Analysenserie).

4.1. Erweiterungen von Methoden in Bezug auf den Konzentrationsbereich

Aufgrund von Änderungen des MRL, des ML oder des RPA kann sich die Notwendigkeit ergeben, den Konzentrationsbereich, für den eine Methode validiert ist, anzupassen. In solchen Fällen ist die Anwendung eines reduzierten Validierungsplans akzeptabel.

Kalibrierkurven für den geänderten Bereich sollten gemäß dem validierten Verfahren erstellt werden. Es sollten verschiedene Chargen Leerwertmatrix, die in unterschiedlichen Konzentrationen (siehe 2.2.1 und 2.2.2) dotiert sind, analysiert werden. Die Richtigkeit, die Wiederholpräzision und die laborinterne Reproduzierbarkeit/die Laborpräzision sollten verglichen mit den entsprechenden Werten der ursprünglich validierten Methode innerhalb eines akzeptablen Bereichs liegen. Falls relevant, sollte eine Neuberechnung des CC β (Screeningmethoden) und der CC α (Bestätigungsmethoden) vorgenommen werden.

4.2. Erweiterungen von Methoden in Bezug auf zusätzliche Stoffe

Generell ist die Erweiterung einer Methode auf zusätzliche Verbindungen nur bei Analyten möglich, die eine ähnliche Struktur und ähnliche Eigenschaften wie die bereits in der Analysemethode erfassten Analyten aufweisen. In solchen Fällen ist die Anwendung eines reduzierten Validierungsplans akzeptabel. Eine Abweichung von der Methodenbeschreibung ist nicht erlaubt.

Kalibrierkurven für die zusätzlichen Stoffe sollten gemäß dem validierten Verfahren erstellt werden. Es sollten verschiedene Chargen mit Leerwertmatrix, die in unterschiedlichen Konzentrationen (siehe 2.2.1 und 2.2.2) dotiert sind, analysiert werden. Die Richtigkeit, die Wiederholpräzision und die laborinterne Reproduzierbarkeit/die Laborpräzision sollten innerhalb eines Bereichs liegen, der mit den entsprechenden Werten der in der ursprünglich validierten Methode erfassten anderen Analyten vergleichbar ist und den Anforderungen gemäß 1.2.2 entspricht. Für die neuen Analyten muss eine Berechnung des $CC\beta$ (Screeningmethoden) und der $CC\alpha$ (Bestätigungsmethoden) vorgenommen werden.

4.3. Erweiterungen von Methoden in Bezug auf Matrices/Tierarten

Über die Aufnahme neuer Matrices oder Tierarten in eine bereits validierte Analysemethode ist stets im Einzelfall zu entscheiden, basierend auf dem Wissen über die Methode, den bisherigen Erfahrungen sowie Vorversuchen zur Bewertung potenzieller Matrixeffekte und Interferenzen. Generell wird dies nur bei Matrices mit ähnlichen Eigenschaften und bei nicht-kritischen Analyten (Stabilität, Nachweisbarkeit) möglich sein.

Kalibrierkurven (Standard oder Matrix) sollten gemäß dem validierten Verfahren erstellt werden. Es sollten verschiedene Chargen mit Leerwertmatrix, die in unterschiedlichen Konzentrationen (siehe 2.2.1 und 2.2.2) dotiert sind, analysiert werden. Die Richtigkeit, die Wiederholpräzision und die laborinterne Reproduzierbarkeit/die Laborpräzision sollten innerhalb eines Bereichs liegen, der verglichen mit den entsprechenden Werten der ursprünglich validierten Methode akzeptabel ist und den Anforderungen gemäß 1.2.2 entspricht. Abhängig vom Validierungsansatz könnte eine Neuberechnung des $CC\beta$ (Screeningmethoden) oder der $CC\alpha$ (Bestätigungsmethoden) erforderlich sein.

Wenn die Ergebnisse verglichen mit den Werten für die ursprüngliche Matrix nicht innerhalb eines akzeptablen Bereichs liegen, ist eine zusätzliche vollständige Validierung erforderlich, um die für die Matrix/Tierart spezifischen Leistungsparameter zu bestimmen.

Wenn MRL für einen spezifischen Stoff bei bestimmten Matrices abweichen, wird es wahrscheinlich schwierig sein, den Anwendungsbereich der Methode an die zusätzliche Matrix/Tierart und Konzentration anzupassen, da in diesem Fall zwei Änderungen berücksichtigt werden müssen. In solchen Fällen wird eine vollständige Validierung empfohlen.

ANHANG II

Probenahmeverfahren und Behandlung amtlicher Proben**1. Probenmenge**

Die Mindestprobenmengen sind im nationalen Rückstandsüberwachungsprogramm festzulegen. Die Mindestprobenmengen müssen ausreichend sein, um den zugelassenen Laboratorien die Durchführung der erforderlichen Screening- und Bestätigungsanalysen zu ermöglichen. Speziell bei Geflügel, Tieren in Aquakultur, Kaninchen, Zuchtwild, Reptilien und Insekten umfasst eine Probe je nach den Anforderungen der Analysemethoden ein Tier oder mehrere Tiere. Bei Eiern umfasst eine Probe je nach der angewandten Analysemethode mindestens 12 Eier. Falls mehrere Stoffkategorien in einer einzigen Probe mittels verschiedener Analysemethoden analysiert werden müssen, ist der Probenumfang entsprechend zu erweitern.

2. Aufteilung in Teilproben

Jede Probe muss in mindestens zwei gleiche Teilproben aufgeteilt werden, die jeweils die vollständige Durchführung des Analyseverfahrens ermöglichen, es sei denn, eine solche Aufteilung ist technisch nicht möglich oder nach nationalem Recht nicht erforderlich. Die Unterteilung kann am Ort der Probenahme oder im Labor vorgenommen werden.

3. Rückverfolgbarkeit

Jede Probe ist so zu nehmen, dass deren Rückverfolgung zum Herkunftsbetrieb und gegebenenfalls zur Charge mit den betreffenden Tieren oder zum einzelnen Tier jederzeit möglich ist. Bei Milch können die Proben nach Wahl des Mitgliedstaats an einem der folgenden Orte genommen werden:

1. im Betrieb aus dem Sammelbehälter;
2. im Molkereibetrieb vor Entleerung des Behälters.

4. Probenbehältnisse

Die Proben müssen in geeigneten Behältnissen verpackt werden, um ihre Integrität zu gewährleisten und ihre Rückverfolgbarkeit zu ermöglichen. Insbesondere müssen die Behältnisse einen Austausch, eine Kreuzkontamination oder eine Zersetzung der Proben ausschließen. Die Behältnisse sind amtlich zu versiegeln.

5. Probenahmebericht

Nach jeder Probenahme ist ein Bericht anzufertigen.

Der Probenahmebericht enthält mindestens folgende Informationen:

1. Anschrift der zuständigen Behörden;
2. Name oder Identifikationscode des Inspektors;
3. amtliche Code-Nummer der Probe;
4. Datum der Probenahme;
5. Name und Anschrift des Eigentümers oder Besitzers der Tiere oder der tierischen Erzeugnisse;
6. Name und Anschrift des Herkunftsbetriebs des Tieres (bei Probenahme im Betrieb);
7. Registriernummer des Betriebs/Schlachthofs;
8. Identifikation des Tieres oder Erzeugnisses;
9. Tierart(en);
10. Probenmatrix;
11. gegebenenfalls in den letzten vier Wochen vor der Probenahme verabreichte Arzneimittel (bei Probenahme im Betrieb);
12. zu untersuchender Stoff bzw. zu untersuchende Stoffgruppen;
13. besondere Anmerkungen.

Je nach Probenahmeverfahren sind Papierfassungen oder elektronische Fassungen des Berichts bereitzustellen. Der Probenahmebericht und seine Fassungen sind so zu erstellen, dass ihre Echtheit und Rechtsgültigkeit sichergestellt sind; zu diesem Zweck kann die Unterzeichnung der Dokumente durch den Inspektor erforderlich sein. Bei Probenahmen im Betrieb kann der Landwirt oder sein Stellvertreter aufgefordert werden, den Original-Probenahmebericht zu unterzeichnen.

Das Original des Probenahmeberichts verbleibt bei der zuständigen Behörde, die gewährleisten muss, dass keine unbefugten Personen Zugang zu diesem Originalbericht haben.

Falls nötig, kann der Landwirt oder der Eigentümer des Betriebs über die Probenahmen unterrichtet werden.

6. Probenahmebericht für das Labor

Der von den zuständigen Behörden erstellte Probenahmebericht für das Labor muss den Anforderungen des Kapitels 7 von ISO/IEC 17025:2017 ⁽¹⁾ genügen und mindestens folgende Informationen enthalten:

1. Anschrift der zuständigen Behörden oder benannten Stellen;
2. Name oder Identifikationscode des Inspektors;
3. amtliche Code-Nummer der Probe;
4. Datum der Probenahme;
5. Tierart(en);
6. Probenmatrix;
7. zu untersuchende Stoffe bzw. Stoffgruppen;
8. besondere Anmerkungen.

Der Probenahmebericht für das Labor muss mit der Probe zusammen an das Labor geschickt werden.

7. Transport und Lagerung

Die Rückstandsüberwachungsprogramme müssen geeignete Lagerungs- und Transportbedingungen für jede Analyten-Matrix-Kombination festlegen, damit Analytenstabilität und Probenintegrität gewährleistet sind. Die Transportzeit muss so kurz wie möglich gehalten werden und die Temperatur beim Transport geeignet sein, die Analytenstabilität zu gewährleisten.

Besondere Aufmerksamkeit ist den Transportbehältnissen, der Transporttemperatur und den Lieferzeiten zum zuständigen Labor zu widmen.

Sind Anforderungen des Überwachungsprogramms nicht erfüllt, so unterrichtet das Labor unverzüglich die zuständige Behörde.

⁽¹⁾ ISO/IEC 17025:2017 Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (Kapitel 7.7).