

VYKONÁVACIE NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2021/808

z 22. marca 2021

o vykonávaní analytických metód pre rezíduá farmakologicky účinných látok používaných u zvierat určených na výrobu potravín a o interpretácii výsledkov, ako aj o metódach, ktoré sa majú používať na odber vzoriek, a ktorým sa zrušujú rozhodnutia 2002/657/ES a 98/179/ES

(Text s významom pre EHP)

EURÓPSKA KOMISIA,

so zreteľom na Zmluvu o fungovaní Európskej únie,

so zreteľom na nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 z 15. marca 2017 o úradných kontrolách a iných úradných činnostiach vykonávaných na zabezpečenie uplatňovania potravinového a krmivového práva a pravidiel pre zdravie zvierat a dobré životné podmienky zvierat, pre zdravie rastlín a pre prípravky na ochranu rastlín, o zmene nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001, (ES) č. 396/2005, (ES) č. 1069/2009, (ES) č. 1107/2009, (EÚ) č. 1151/2012, (EÚ) č. 652/2014, (EÚ) 2016/429 a (EÚ) 2016/2031, nariadení Rady (ES) č. 1/2005 a (ES) č. 1099/2009 a smerníc Rady 98/58/ES, 1999/74/ES, 2007/43/ES, 2008/119/ES a 2008/120/ES a o zrušení nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004 a (ES) č. 882/2004, smerníc Rady 89/608/EHS, 89/662/EHS, 90/425/EHS, 91/496/EHS, 96/23/ES, 96/93/ES a 97/78/ES a rozhodnutia Rady 92/438/EHS (nariadenie o úradných kontrolách) ⁽¹⁾, a najmä na jeho článok 34 ods. 6,

keďže:

- (1) V nariadení (EÚ) 2017/625 sa stanovujú pravidlá úradných kontrol a iných úradných činností vykonávaných príslušnými orgánmi členských štátov s cieľom overiť dodržiavanie právnych predpisov Únie, a to okrem iného v oblasti bezpečnosti potravín na všetkých stupňoch výroby, spracovania a distribúcie. Stanovujú sa v ňom osobitné pravidlá úradných kontrol v súvislosti s látkami, ktorých použitie môže viesť k rezíduám v potravinách a krmivách, ako aj všeobecné požiadavky na metódy, ktoré sa majú používať pri odbere vzoriek, laboratórnych analýzach a testoch počas úradných kontrol a iných úradných činností.
- (2) V rozhodnutí Komisie 2002/657/ES ⁽²⁾ sa stanovujú požiadavky na vykonávanie analytických metód a interpretáciu výsledkov analýz určitých látok a ich rezidií v živých zvieratách a živočíšnych produktoch a v rozhodnutí Komisie 98/179/ES ⁽³⁾ sa stanovujú podrobné pravidlá pre úradný odber vzoriek na monitorovanie určitých látok a ich rezidií v živých zvieratách a živočíšnych produktoch. Obe rozhodnutia boli prijaté na základe smernice Rady 96/23/ES ⁽⁴⁾, ktorá bola zrušená nariadením (EÚ) 2017/625. Vzhľadom na nový vedecký vývoj by sa uvedené pravidlá mali aktualizovať a mali by sa začleniť do rámca pre úradné kontroly vymedzeného v nariadení (EÚ) 2017/625.
- (3) V súlade s článkom 1 ods. 2 rozhodnutia 2002/657/ES sa uvedené rozhodnutie neuplatňuje na látky, pre ktoré boli stanovené špecifickejšie pravidlá v iných právnych predpisoch Únie. Tieto látky sú mykotoxíny v potravinách, dioxíny a dioxínom podobné polychlórované bifenyly (PCB) v potravinách a olovo, kadmium, ortuť a benzo(a)pyrén v potravinách. Mykotoxíny v potravinách musia spĺňať požiadavky stanovené v nariadení Komisie (ES) č. 401/2006 ⁽⁵⁾, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na úradnú kontrolu hladín mykotoxínov v potravinách. V prípade dioxínov a dioxínom podobných PCB sa uplatňuje nariadenie Komisie (EÚ) 2017/644 ⁽⁶⁾,

⁽¹⁾ Ú. v. EÚ L 95, 7.4.2017, s. 1.

⁽²⁾ Rozhodnutie Komisie 2002/657/ES zo 14. augusta 2002, ktorým sa vykonáva smernica Rady 96/23/ES týkajúca sa vykonávania analytických metód a interpretácie výsledkov (Ú. v. ES L 221, 17.8.2002, s. 8).

⁽³⁾ Rozhodnutie Komisie 98/179/ES z 23. februára 1998, ktoré stanovuje podrobné pravidlá úradného odberu vzoriek na monitorovanie určitých látok a ich rezidií v živých zvieratách a v živočíšnych výrobkoch (Ú. v. ES L 65, 5.3.1998, s. 31).

⁽⁴⁾ Smernica Rady 96/23/ES z 29. apríla 1996 o opatreniach na monitorovanie určitých látok a ich rezidií v živých zvieratách a živočíšnych produktoch a o zrušení smerníc 85/358/EHS a 86/469/EHS a rozhodnutí 89/187/EHS a 91/664/EHS (Ú. v. ES L 125, 23.5.1996, s. 10).

⁽⁵⁾ Nariadenie Komisie (ES) č. 401/2006 z 23. februára 2006, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analytické metódy na úradnú kontrolu hodnôt mykotoxínov v potravinách (Ú. v. EÚ L 70, 9.3.2006, s. 12).

⁽⁶⁾ Nariadenie Komisie (EÚ) 2017/644 z 5. apríla 2017, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na kontrolu hladín dioxínov, dioxínom podobných PCB a dioxínom nepodobných PCB v určitých potravinách a ktorým sa zrušuje nariadenie (EÚ) č. 589/2014 (Ú. v. EÚ L 92, 6.4.2017, s. 9).

ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na kontrolu hladín dioxínov, dioxínom podobných PCB a dioxínom nepodobných PCB v určitých potravinách. Ustanovenia týkajúce sa odberu vzoriek a analýzy na účely úradných kontrol olova, kadmia, ortuti a benzo(a)pyrénu v potravinách sú stanovené v nariadení Komisie (ES) č. 333/2007 ⁽⁷⁾.

- (4) Z dôvodov jasnosti a právnej istoty je vhodné zlúčiť ustanovenia uplatniteľné na odber vzoriek a analýzu farmakologicky účinných látok do jedného právneho aktu, ako je to v prípade mykotoxínov, dioxínov, dioxínom podobných PCB, olova, kadmia, ortuti a benzo(a)pyrénu v potravinách.
- (5) Rozhodnutia 98/179/ES a 2002/657/ES by sa preto mali zrušiť a nahradiť týmto nariadením.
- (6) V súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003 ⁽⁸⁾ sa kokcidiostatiká a histomonostatiká môžu používať ako krmné doplnkové látky, a preto sa na analýzy ich obsahu v krmivách uplatňuje nariadenie Komisie (ES) č. 152/2009 ⁽⁹⁾, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na účely úradných kontrol krmív. Toto nariadenie by sa však malo uplatňovať v prípadoch, keď sa krmivá analyzujú ako súčasť následných opatrení počas vyšetrovania zdroja nevyhovujúcich vzoriek v prípadoch podozrenia na nedodržiavanie alebo zisteného nedodržiavania pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá farmakologicky účinných látok povolených vo veterinárnych liekoch alebo ako krmné doplnkové látky, alebo pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá zakázaných alebo nepovolených farmakologicky účinných látok.
- (7) S cieľom zabezpečiť kontinuitu vo vykonávaní úradných kontrol a iných úradných činností týkajúcich sa rezíduí farmakologicky účinných látok a s cieľom zabrániť tomu, aby sa všetky metódy opätovne validovali naraz, môžu sa metódy validované pred dátumom nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia naďalej používať počas obmedzeného obdobia pod podmienkou splnenia požiadaviek stanovených v bodoch 2 a 3 prílohy I k rozhodnutiu 2002/657/ES. Je preto vhodné poskytnúť členským štátom dostatočný čas na uplatňovanie požiadaviek stanovených v tomto nariadení na všetky analytické metódy.
- (8) Opatrenia stanovené v tomto nariadení sú v súlade so stanoviskom Stáleho výboru pre rastliny, zvieratá, potraviny a krmivá,

PRIJALA TOTO NARIADENIE:

Článok 1

Predmet úpravy a rozsah pôsobnosti

Týmto nariadením sa stanovujú pravidlá týkajúce sa metód analýz používaných na odber vzoriek a na laboratórne analýzy, pokiaľ ide o rezíduá farmakologicky účinných látok v živých zvieratách určených na výrobu potravín, v ich častiach tela a tekutinách, exkrementoch, tkanivách, produktoch živočíšneho pôvodu, vo vedľajších živočíšnych produktoch, v krmivách a vo vode. Stanovujú sa v ňom aj pravidlá interpretácie analytických výsledkov týchto laboratórnych analýz.

Toto nariadenie sa vzťahuje na úradné kontroly zamerané na overenie súladu s požiadavkami na prítomnosť rezíduí farmakologicky účinných látok.

⁽⁷⁾ Nariadenie Komisie (ES) č. 333/2007 z 28. marca 2007, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a metódy analýzy na úradnú kontrolu hladín mikroprvkov a procesných kontaminujúcich látok v potravinách (Ú. v. EÚ L 88, 29.3.2007, s. 29).

⁽⁸⁾ Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003 z 22. septembra 2003 o doplnkových látkach určených na používanie vo výžive zvierat (Ú. v. EÚ L 268, 18.10.2003, s. 29).

⁽⁹⁾ Nariadenie Komisie (ES) č. 152/2009 z 27. januára 2009, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na účely úradných kontrol krmív (Ú. v. EÚ L 54, 26.2.2009, s. 1).

Článok 2

Vymedzenie pojmov

Na účely tohto nariadenia sa uplatňujú vymedzenia pojmov uvedené v článku 2 delegovaného nariadenia Komisie (EÚ) 2019/2090 ⁽¹⁰⁾, v nariadení Komisie (EÚ) 2019/1871 ⁽¹¹⁾, v článku 2 nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009 ⁽¹²⁾ a v nariadení Rady (EHS) č. 315/93 ⁽¹³⁾.

Uplatňujú sa aj tieto vymedzenia pojmov:

1. „absolútna výťažnosť“ je výťažok analytu zo záverečného štádia analytického procesu vydelený množstvom analytu v pôvodnej vzorke, vyjadrený v percentách;
2. „správnosť“ je blízkosť zhody medzi výsledkom skúšky a uznanou skutočnou referenčnou hodnotou, stanovená určením pravdivosti a presnosti ⁽¹⁴⁾;
3. „alfa (α) chyba“ je pravdepodobnosť, že skúšaná vzorka vyhovuje, aj keď bol nameraný nevyhovujúci výsledok;
4. „analyt“ je zložka systému, ktorá sa má analyzovať;
5. „povolená látka“ je farmakologicky účinná látka povolená na použitie u zvierat určených na výrobu potravín v súlade so smernicou Európskeho parlamentu a Rady 2001/82/ES ⁽¹⁵⁾;
6. „beta (β) chyba“ je pravdepodobnosť, že skúšaná vzorka je skutočne nevyhovujúca, aj keď bol nameraný vyhovujúci výsledok;
7. „systematická chyba“ je rozdiel medzi odhadovanou hodnotou výsledku skúšky a uznanou referenčnou hodnotou;
8. „kalibračný štandard“ je sledovateľná referencia pre merania, ktorá predstavuje množstvo sledovanej látky, ktorej hodnota nadväzuje na referenčný základ;
9. „certifikovaný referenčný materiál“ (CRM) je referenčný materiál sprevádzaný dokumentáciou vydanou delegovaným orgánom, v ktorej sa uvádza jedna alebo viac určených hodnôt vlastností s príslušnými neistotami a nadväznosťami, s použitím platných postupov ⁽¹⁶⁾;
10. „kochromatografia“ je technika, pri ktorej sa neznáma látka aplikuje na chromatografický nosič spolu s jednou alebo viacerými známymi zlúčeninami a očakáva sa, že relatívne správanie neznámej látky a známych látok pomôže identifikovať neznámu látku;
11. „kolaboratívna štúdia“ je analýza tej istej vzorky (vzoriek) použitím tej istej metódy na stanovenie pracovných charakteristík metódy v rôznych laboratóriách, kde štúdia umožňuje vypočítať náhodné chyby merania a laboratórnu systematickú chybu pre použitú metódu;

⁽¹⁰⁾ Delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2019/2090 z 19. júna 2019, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625, pokiaľ ide o prípady podozrenia na nedodržanie alebo zisteného nedodržania pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá farmakologicky účinných látok povolených vo veterinárnych liekoch alebo ako kŕmne doplnkové látky, alebo pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá zakázaných alebo nepovolených farmakologicky účinných látok (Ú. v. EÚ L 317, 9.12.2019, s. 28).

⁽¹¹⁾ Nariadenie Komisie (EÚ) 2019/1871 zo 7. novembra 2019 o referenčných hodnotách na prijatie opatrení v prípade prítomnosti nepovolených farmakologicky účinných látok v potravinách živočíšneho pôvodu a o zrušení rozhodnutia 2005/34/ES (Ú. v. EÚ L 289, 8.11.2019, s. 41).

⁽¹²⁾ Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009 zo 6. mája 2009 o stanovení postupov Spoločenstva na určenie limitov reziduí farmakologicky účinných látok v potravinách živočíšneho pôvodu, o zrušení nariadenia Rady (EHS) č. 2377/90 a o zmene a doplnení smernice Európskeho parlamentu a Rady 2001/82/ES a nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 726/2004 (Ú. v. EÚ L 152, 16.6.2009, s. 11).

⁽¹³⁾ Nariadenie Rady (EHS) č. 315/93 z 8. februára 1993, ktorým sa stanovujú postupy Spoločenstva u kontaminujúcich látok v potravinách (Ú. v. ES L 37, 13.2.1993, s. 1).

⁽¹⁴⁾ ISO 3534-1: Štatistika 2006 – Slovník a značky – Časť 1: Všeobecné štatistické termíny a termíny používané v teórii pravdepodobnosti (Kapitola 1).

⁽¹⁵⁾ Smernica Európskeho parlamentu a Rady 2001/82/ES zo 6. novembra 2001, ktorou sa ustanovuje Zákoník Spoločenstva o veterinárnych liekoch (Ú. v. ES L 311, 28.11.2001, s. 1).

⁽¹⁶⁾ JCGM 200:2008, International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) [Medzinárodný slovník metrologie – Základné a všeobecné pojmy a súvisiace termíny (VIM)], tretie vydanie 2008: <https://www.iso.org/sites/JCGM/VIM-JCGM200.htm> [Kapitola 5 Measurement standards (Etalons) – Etalóny].

12. „konfirmačná metóda“ je metóda, ktorá poskytuje úplné alebo doplnujúce informácie umožňujúce látku jednoznačne identifikovať a podľa potreby ju kvantifikovať jedným z týchto spôsobov:
- a) na úrovni maximálnej hladiny reziduí alebo maximálnej hladiny pre povolené látky;
 - b) na úrovni referenčných hodnôt na prijatie opatrení (RPA) pre zakázané alebo nepovolené látky, pre ktoré je stanovená referenčná hodnota na prijatie opatrení;
 - c) na úrovni najnižšej rozumne dosiahnuteľnej koncentrácie pre zakázané alebo nepovolené látky, pre ktoré nie je stanovená žiadna referenčná hodnota na prijatie opatrení;
13. „koeficient rozšírenia k)“ je číslo, ktoré vyjadruje požadovanú úroveň spoľahlivosti a ktoré sa spája s rozšírenou neistotou merania;
14. „rozhodovací limit pre konfirmáciu (CC α)“ je limit, pri dosiahnutí a prekročení ktorého možno s chybou pravdepodobnosti α usúdiť, že vzorka je nevyhovujúca, a hodnota $1 - \alpha$ je štatistická istota vyjadrená v percentách, že povolený limit bol prekročený;
15. „detekčná schopnosť pre skríning (CC β)“ je najnižší obsah analytu, ktorý môže byť vo vzorke detegovaný alebo kvantifikovaný s chybou pravdepodobnosti β :
- a) v prípade zakázaných alebo nepovolených farmakologicky účinných látok je CC β najnižšia koncentrácia, pri ktorej je metóda schopná detegovať alebo kvantifikovať, so štatistickou istotou $1 - \beta$, vzorky obsahujúce rezidúá zakázaných alebo nepovolených látok;
 - b) v prípade povolených látok je CC β koncentrácia, pri ktorej je metóda schopná detegovať koncentrácie pod povoleným limitom so štatistickou istotou $1 - \beta$;
16. „fortifikovaný materiál vzorky“ je vzorka obohatená známym množstvom analytu, ktorý sa má detegovať alebo kvantifikovať;
17. „medzilaboratórna štúdia“ je organizovanie, vykonanie a vyhodnotenie skúšok tej istej vzorky (vzoriek) v dvoch alebo viacerých laboratóriách v súlade s vopred stanovenými podmienkami s cieľom vyhodnotiť výkon skúšky buď formou kolaboračnej štúdie alebo formou skúšky odbornej spôsobilosti;
18. „vnútorný štandard (IS)“ je látka, ktorá nie je prítomná vo vzorke, s fyzikálno-chemickými vlastnosťami čo najpodobnejšími fyzikálno-chemickým vlastnostiam analytu, ktorý sa má identifikovať alebo kvantifikovať;
19. „hladina posúdenia“ je koncentrácia látky alebo analytu vo vzorke, ktorá je dôležitá pre rozhodovanie o tom, či vzorka spĺňa požiadavky právnych predpisov, pokiaľ ide o:
- a) maximálnu hladinu reziduí alebo maximálnu hladinu pre povolené látky v súlade s nariadením Komisie (ES) č. 124/2009 ⁽¹⁷⁾ a nariadením Komisie (EÚ) č. 37/2010 ⁽¹⁸⁾;
 - b) referenčné hodnoty na prijatie opatrení pre zakázané alebo nepovolené látky, pre ktoré je stanovená referenčná hodnota na prijatie opatrení v súlade s nariadením (EÚ) 2019/1871;
 - c) najnižšiu analyticky dosiahnuteľnú koncentráciu pre zakázané alebo nepovolené látky, pre ktoré nie je stanovená žiadna referenčná hodnota na prijatie opatrení;
20. „najnižšia kalibrovaná hladina“ (LCL) je najnižšia koncentrácia, na ktorú bol merací systém kalibrovaný;
21. „matrica“ je materiál, z ktorého sa odoberá vzorka;
22. „matricový efekt“ je rozdiel v analytickej odozve medzi štandardom rozpusteným v rozpúšťadle a štandardom s odpovedajúcou matricou buď bez korekcie s použitím vnútorného štandardu, alebo s korekciou s použitím vnútorného štandardu;

⁽¹⁷⁾ Nariadenie Komisie (ES) č. 124/2009 z 10. februára 2009, ktorým sa stanovujú najvyššie obsahy prítomnosti kokcidiostatík a histomonostatík v potravinách spôsobenej nevyhnutným prenosom týchto látok do necieľového krmiva (Ú. v. EÚ L40, 11.2.2009, s. 7).

⁽¹⁸⁾ Nariadenie Komisie (EÚ) č. 37/2010 z 22. decembra 2009 o farmakologicky účinných látkach a ich klasifikácii, pokiaľ ide o maximálne limity reziduí v potravinách živočíšneho pôvodu (Ú. v. EÚ L 15, 20.1.2010, s. 1).

23. „štandard s odpovedajúcou maticou“ je slepá matrica (t. j. matrica neobsahujúca analyt), do ktorej sa po spracovaní vzorky pridá analyt v určitom rozsahu koncentrácií;
24. „štandard s fortifikovanou maticou“ je slepá matrica (t. j. matrica neobsahujúca analyt), ku ktorej sa pred extrakciou rozpúšťadlom a pred spracovaním vzorky pridá analyt v rozsahu koncentrácií;
25. „meraná veličina“ je konkrétne množstvo, ktoré je predmetom merania;
26. „neistota merania“ je nezáporný parameter spojený s výsledkom merania, ktorý charakterizuje rozptyl hodnôt, ktoré možno na základe použitých informácií rozumne prisúdiť meranej veličine;
27. „pracovné kritériá“ sú požiadavky na pracovné charakteristiky, podľa ktorých možno rozhodnúť, či je daná analytická metóda vhodná na zamýšľané použitie a či vedie k spoľahlivým výsledkom;
28. „presnosť“ je blízkosť zhody medzi nezávislými výsledkami skúšok, získanými za stanovených podmienok a vyjadruje sa ako smerodajná odchýlka alebo ako variačný koeficient výsledkov skúšky;
29. „kvalitatívna metóda“ je analytická metóda, ktorou sa deteguje alebo identifikuje látka alebo skupina látok na základe ich chemických, biologických alebo fyzikálnych vlastností;
30. „kvantitatívna metóda“ je analytická metóda, ktorou sa stanovuje množstvo alebo hmotnostný podiel látky tak, že sa môže vyjadriť ako číselná hodnota v príslušných jednotkách;
31. „výťažnosť“ je množstvo analytu korigované na výťažnosť vydelené množstvom analytu, ktorým bola fortifikovaná vzorka matrice, vyjadrené v percentách;
32. „korekcia výťažnosti“ je použitie vnútorných štandardov, použitie maticovej kalibračnej krivky, ako aj použitie korekčného faktora výťažnosti a tiež kombinácia týchto prístupov;
33. „referenčný materiál“ je materiál dostatočne homogénny a stabilný z hľadiska jednej alebo viacerých špecifikovaných vlastností, pri ktorom bolo dokázané, že je vhodný na jeho zamýšľané použitie v procese merania alebo pri skúmaní menovitých vlastností ⁽¹⁹⁾;
34. „relatívny maticový efekt“ je rozdiel v analytickej odozve medzi štandardom rozpusteným v rozpúšťadle a štandardom s odpovedajúcou maticou s korekciou s použitím vnútorného štandardu;
35. „opakovateľnosť“ je presnosť za podmienok, za ktorých sú nezávislé výsledky skúšky získané tou istou metódou na identických skúšaných položkách v tom istom laboratóriu tým istým pracovníkom s použitím toho istého zariadenia v krátkych časových intervaloch;
36. „reprodukovateľnosť“ je presnosť za podmienok, za ktorých sa výsledky skúšok získajú tou istou metódou na identických skúšaných položkách v rôznych laboratóriách rôznymi pracovníkmi s použitím rôznych zariadení ⁽²⁰⁾;
37. „robustnosť“ je citlivosť analytickej metódy na zmeny experimentálnych podmienok, za ktorých je možné metódu použiť tak ako je popísaná alebo so špecifikovanými malými úpravami;
38. „skriningová metóda“ je metóda, ktorá sa používa na skrining látky alebo skupiny látok na hladine posúdenia;
39. „cieľová koncentrácia skriningu“ (screening target concentration, STC) je koncentrácia nižšia alebo rovná CC_β, pri ktorej skriningové meranie kategorizuje vzorku ako potenciálne nevyhovujúcu „skriningovo pozitívnu“ a spúšťa vykonanie konfirmačnej skúšky;
40. „selektivita“ je schopnosť metódy odlíšiť meraný analyt od ostatných látok;
41. „vnútrolaboratórna štúdia“ alebo „vnútrolaboratórna validácia“ je analytická štúdia vykonávaná počas odôvodnených dlhých časových intervalov v rámci jedného laboratória s použitím jednej metódy na analýzu rovnakých alebo rôznych skúšobných materiálov za rôznych podmienok;

⁽¹⁹⁾ Komisia *Codex Alimentarius*, Organizácia OSN pre výživu a poľnohospodárstvo/Svetová zdravotnícka organizácia, Usmernenia k analytickej terminológii (CAC/GL 72 – 2009).

⁽²⁰⁾ ISO 5725-1:1994 Presnosť (správnosť a zhodnosť) metód a výsledkov merania – Časť 1: Všeobecné zásady a definície (kapitola 3).

42. „štandardný prídavok“ je postup, pri ktorom sa jedna časť vzorky analyzuje ako taká a do druhej skúšobnej dávky sa pred analýzou pridá známe množstvo daného analytického štandardu;
43. „analytický štandard“ je analyt so známym a certifikovaným obsahom a čistotou určený na použitie ako referenčná látka pri analýze;
44. „látka“ je hmota s konštantným zložením charakterizovaná entitami, ktoré ju tvoria, a určitými fyzikálnymi vlastnosťami;
45. „skúšobná dávka“ je množstvo materiálu odobraté zo vzorky, na ktorej sa vykonáva skúška alebo pozorovanie;
46. „pravdivosť“ je blízkosť zhody medzi priemernou hodnotou získanou z veľkého počtu výsledkov meraní a uznanou referenčnou hodnotou;
47. „jednotky“ sú jednotky opísané v norme ISO 80000 ⁽²¹⁾ a v smernici Rady 80/181/EHS ⁽²²⁾;
48. „validácia“ je proces, pri ktorom sa skúmaním a následne poskytnutím skutočného dôkazu preukáže, že sú splnené špecifické požiadavky na konkrétne zamýšľané použitie ⁽²³⁾ prostredníctvom vnútrolaboratórnej štúdie alebo kolaboratívnej štúdie;
49. „vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť“ alebo „medziľahlá presnosť/vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť“ je presnosť merania za súboru vnútrolaboratórnych podmienok v konkrétnom laboratóriu.

Článok 3

Metódy analýz

Členské štáty zabezpečia, aby sa vzorky odobraté v súlade s článkom 34 nariadenia (EÚ) 2017/625 analyzovali pomocou metód, ktoré spĺňajú tieto požiadavky:

1. Sú zdokumentované v pokynoch pre skúšky, prednostne podľa príloh k norme ISO 78-2:1999 Chémia – Štruktúra noriem – Časť 2: Metódy chemickej analýzy ⁽²⁴⁾.
2. Spĺňajú pracovné kritériá a ďalšie požiadavky na analytické metódy stanovené v kapitole 1 prílohy I k tomuto nariadeniu.
3. Boli validované v súlade s požiadavkami stanovenými v kapitolách 2 a 4 prílohy I k tomuto nariadeniu.
4. Umožňujú presadzovanie referenčných hodnôt na prijatie opatrení stanovených v nariadení (EÚ) 2019/1871, identifikáciu prítomnosti zakázaných a nepovolených látok a presadzovanie maximálnych hladín (ML), ktoré boli stanovené na základe nariadenia (EHS) č. 315/93 a nariadenia (ES) č. 124/2009 a maximálnych limitov rezíduí (MRL), ktoré boli stanovené na základe nariadení (ES) č. 1831/2003 a č. 470/2009.

Článok 4

Kontrola kvality

Členské štáty zabezpečia kvalitu výsledkov analýz vykonaných podľa nariadenia (EÚ) 2017/625, najmä monitorovaním skúšok alebo kalibračných výsledkov v súlade s normou ISO/IEC 17025:2017 Všeobecné požiadavky na kompetentnosť skúšobných a kalibračných laboratórií a s požiadavkami na kontrolu kvality počas rutínnej analýzy stanovenými v kapitole 3 prílohy I k tomuto nariadeniu.

⁽²¹⁾ ISO 80000–1:2009 Veličiny a jednotky – Časť 1: Všeobecne.

⁽²²⁾ Smernica Rady 80/181/EHS z 20. decembra 1979 o aproximácii právnych predpisov členských štátov, týkajúcich sa meracích jednotiek a rušiaca smernicu 71/354/EHS (Ú. v. ES L 39, 15.2.1980, s. 40).

⁽²³⁾ ISO/IEC 17025:2017 Všeobecné požiadavky na kompetentnosť skúšobných a kalibračných laboratórií (kapitola 3).

⁽²⁴⁾ ISO 78-2: 1999 Chemistry – Layouts for standards – Part 2: Methods of chemical analysis (Annexes) [Chémia – Štruktúra noriem – Časť 2: Metódy chemickej analýzy (prílohy)].

Článok 5

Interpretácia výsledkov

1. Výsledok analýzy sa považuje za nevyhovujúci, ak je rovný, alebo vyšší ako rozhodovací limit pre confirmáciu (CCa).
2. V prípade povolených látok, pre ktoré bola stanovená hodnota MRL alebo ML, je rozhodovacím limitom pre confirmáciu (CCa) koncentrácia, pri ktorej dosiahnutí a prekročení možno rozhodnúť so štatistickou istotou číselnej hodnoty $1 - \alpha$, že povolený limit bol prekročený.
3. V prípade nepovolených alebo zakázaných látok alebo povolených látok, pre ktoré nebola stanovená žiadna hodnota MRL alebo ML pre konkrétny druh alebo produkt, je rozhodovacím limitom pre confirmáciu (CCa) najnižšia koncentračná hladina, pri ktorej možno rozhodnúť so štatistickou istotou číselnej hodnoty $1 - \alpha$, že konkrétny analyt je prítomný.
4. V prípade nepovolených alebo zakázaných farmakologicky účinných látok musí byť chyba α 1 % alebo nižšia. V prípade všetkých ostatných látok musí byť chyba α 5 % alebo nižšia.

Článok 6

Metódy odberu vzoriek

Členské štáty zabezpečia, aby sa vzorky odoberali, manipulovalo sa s nimi a označovali sa v súlade s podrobnými metódami odberu vzoriek stanovenými v prílohe II k tomuto nariadeniu.

Článok 7

Zrušujúce ustanovenia a prechodné opatrenia

Rozhodnutia 2002/657/ES a 98/179/ES sa zrušujú odo dňa nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia.

Do 10. júna 2026 sa však požiadavky stanovené v bodoch 2 a 3 prílohy I k rozhodnutiu 2002/657/ES naďalej uplatňujú na metódy, ktoré boli validované pred dátumom nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia.

Článok 8

Nadobudnutie účinnosti

Toto nariadenie nadobúda účinnosť dvadsiatym dňom po jeho uverejnení v *Úradnom vestníku Európskej únie*.

Toto nariadenie je záväzné v celom rozsahu a priamo uplatniteľné vo všetkých členských štátoch.

V Bruseli 22. marca 2021

Za Komisiu
predsedníčka
Ursula VON DER LEYEN

PRÍLOHA I

KAPITOLA 1

PRACOVNÉ KRITÉRIÁ A INÉ POŽIADAVKY NA ANALYTICKÉ METÓDY

1.1. Požiadavky na skriningové metódy

1.1.1. Kategórie vhodných skriningových metód

Ako vhodné skriningové metódy sa použijú kvalitatívne, semikvantitatívne alebo kvantitatívne metódy.

1.1.2. Požiadavky na biologické, biochemické alebo fyzikálno-chemické skriningové metódy

V prípade zakázaných alebo nepovolených látok musí byť CC β na čo najnižšej rozumne dosiahnuteľnej úrovni a v každom prípade musí byť nižšia ako referenčná hodnota na prijatie opatrení (RPA) pre látky, pre ktoré sú RPA stanovené podľa nariadenia (EÚ) 2019/1871.

V prípade povolených farmakologicky účinných látok musí byť CC β nižšia ako hodnota MRL alebo ML.

Na účely skriningu sa smú použiť len tie analytické metódy, pri ktorých možno dokumentovaným výsledovateľným spôsobom preukázať, že sú validované a majú podiel falošne negatívnych výsledkov nižší alebo rovný 5 % (β chyba). Pri podozrení na pozitívny výsledok sa musí tento výsledok potvrdiť konfirmačnou metódou.

Kvantitatívne skriningové metódy používané na skrining aj konfirmáciu musia spĺňať rovnaké požiadavky na správnosť, rozsah a presnosť, ako sú požiadavky opísané v bodoch 1.2.2.1 a 1.2.2.2.

1.2. Požiadavky na konfirmačné metódy

1.2.1. Všeobecné požiadavky na konfirmačné metódy

V prípade zakázaných alebo nepovolených látok musí byť hodnota CC α na čo najnižšej rozumne dosiahnuteľnej úrovni. V prípade zakázaných alebo nepovolených látok, pre ktoré je stanovená RPA podľa nariadenia (EÚ) 2019/1871, musí byť CC α rovný referenčnej hodnote na prijatie opatrení alebo nižší.

V prípade povolených látok musí byť hodnota CC α vyššia ako MRL alebo ML, ale musí byť čo najbližšie k hladine MRL alebo ML.

Na účely konfirmácie sa používajú len analytické metódy, pri ktorých možno dokumentovaným výsledovateľným spôsobom preukázať, že sú validované a majú podiel falošne pozitívnych výsledkov (chyba α) nižší alebo rovný 1 % v prípade zakázaných alebo nepovolených látok, alebo nižší alebo rovný 5 % v prípade povolených látok.

Konfirmačné metódy poskytujú informácie o štruktúrnom chemickom zložení analytu. Z toho vyplýva, že konfirmačné metódy založené len na chromatografickej analýze bez použitia hmotnostnej spektrometrickej detekcie nie sú vhodné na používanie ako konfirmačné metódy pre zakázané alebo nepovolené farmakologicky účinné látky. V prípade, že hmotnostná spektrometria nie je v prípade povolených látok vhodná, môžu sa použiť iné metódy, ako sú napr. HPLC-DAD (HPLC s detektorom s diódovým poľom) a HPLC-FLD (HPLC s fluorescenčným detektorom), alebo ich kombinácia.

Ak si to konfirmačná metóda vyžaduje, pridá sa na začiatku extrakčného postupu do skúšobnej dávky vhodný vnútorný štandard. V závislosti od dostupnosti sa použijú buď stabilné, izotopom značené formy analytu, ktoré sú vhodné najmä na hmotnostnú spektrometrickú detekciu, alebo analogické zlúčeniny, ktoré sú štruktúrou veľmi podobné tomuto analytu. Ak nie je možné použiť žiadny vhodný vnútorný štandard, identifikácia analytu sa potvrdí prednostne kochromatografiou ⁽¹⁾. V tomto prípade sa získa len jeden pík, pričom zväčšenie výšky (alebo plochy) píku zodpovedá množstvu pridaného analytu. Ak toto nie je možné urobiť, použijú sa štandardy s odpovedajúcou matricou alebo štandardy s fortifikovanou matricou.

⁽¹⁾ Kochromatografia je postup, v priebehu ktorého sa extrakt vzorky pred chromatografickým krokom (krokmi) rozdelí na dve časti. Prvá časť je chromatografovaná ako taká. Druhá časť je zmiešaná s analytickým štandardom, ktorý sa má merať. Potom je táto zmes tiež chromatografovaná. Množstvo pridaného analytického štandardu musí byť rovnaké ako odhadované množstvo analytu v extrakte. Kochromatografia sa používa na zlepšenie identifikácie analytu pri používaní chromatografických metód, hlavne ak nemôže byť použitý vhodný vnútorný štandard.

1.2.2. Všeobecné pracovné kritériá pre konfirmačné metódy

1.2.2.1. Pravdivosť prostredníctvom výťažnosti

Pri opakovaných analýzach certifikovaného referenčného materiálu musí odchýlka experimentálne stanovenej strednej hodnoty hmotnostného podielu, korigovaného na výťažnosť od certifikovanej hodnoty, spĺňať rozsahy minimálnej pravdivosti uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1

Minimálna pravdivosť kvantitatívnych metód

Hmotnostný podiel (koncentrácia)	Rozsah
$\leq 1 \mu\text{g/kg}$	-50 % až +20 %
$> 1 \mu\text{g/kg}$ až $10 \mu\text{g/kg}$	-30 % až +20 %
$\geq 10 \mu\text{g/kg}$	-20 % až +20 %

Ak nie sú k dispozícii žiadne certifikované referenčné materiály, je prijateľné, aby sa pravdivosť meraní stanovila inými spôsobmi, napríklad použitím materiálov s určenými hodnotami z medzilaboratórnych štúdií alebo pridaním známych množstiev analytu(-ov) do slepej matrice.

1.2.2.2. Presnosť

Variačný koeficient (CV) pre opakovanú analýzu referenčného alebo fortifikovaného materiálu v podmienkach vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti nesmie prekročiť hodnotu vypočítanú z Horwitzovej rovnice. Rovnica je:

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

kde C je hmotnostný podiel vyjadrený vo forme mocniny (exponentu) 10 (napr. $1 \text{ mg/g} = 10^{-3}$). Pri hmotnostných podieloch nižších než $120 \mu\text{g/kg}$ vedie použitie Horwitzovej rovnice k neprijateľne vysokým hodnotám. Povolený maximálny variačný koeficient preto nesmie presiahnuť hodnoty uvedené v tabuľke 2.

Tabuľka 2

Prijateľný variačný koeficient

Hmotnostný podiel (koncentrácia)	CV reprodukovateľnosti (%)
$> 1\,000 \mu\text{g/kg}$	16 (odvodené z Horwitzovej rovnice)
$> 120 \mu\text{g/kg} - 1\,000 \mu\text{g/kg}$	22 (odvodené z Horwitzovej rovnice)
$10 - 120 \mu\text{g/kg}$	25 *
$< 10 \mu\text{g/kg}$	30 *

* * Uvedený CV (%) predstavuje usmerňujúcu hodnotu a mal by byť čo najnižší.

V prípade analýz vykonaných v podmienkach opakovateľnosti musí byť variačný koeficient v podmienkach opakovateľnosti rovný alebo nižší ako dve tretiny hodnôt uvedených v tabuľke 2.

1.2.3. Požiadavky na chromatografickú separáciu

V prípade kvapalinovej chromatografie (LC) alebo plynovej chromatografie (GC) je minimálny prijateľný retenčný čas pre skúšaný(-é) analyt(-y) dvojnásobkom retenčného času zodpovedajúceho mŕtvemu objemu kolóny. Retenčný čas analytu v extrakte musí zodpovedať retenčnému času kalibračného štandardu, štandardu s odpovedajúcou maticou alebo s fortifikovanou maticou s toleranciou $\pm 0,1$ minúty. V prípade rýchlej chromatografie, pri ktorej je retenčný čas kratší ako 2 minúty, je prípustná odchýlka menej ako 5 % retenčného času. V prípade použitia vnútorného štandardu musí pomer chromatografického retenčného času analytu

a vnútorného štandardu, t. j. relatívny retenčný čas analytu, zodpovedať retenčnému času kalibračného štandardu, štandardu s odpovedajúcou maticou alebo štandardu s fortifikovanou maticou s maximálnou odchýlkou 0,5 % pri plynovej chromatografii a 1 % pri kvapalinovej chromatografii pre metódy validované od dátumu nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia.

1.2.4. Špecifické pracovné kritériá pre hmotnostnú spektrometriu

1.2.4.1. Hmotnostná spektrometrická detekcia

Hmotnostná spektrometrická detekcia sa vykonáva použitím niektorej z týchto možností:

1. zaznamenávaním celých hmotnostných spektier (full scan, FS);
2. zaznamenávaním vybraných iónov (selected ion monitoring, SIM);
3. techník sekvenčnej hmotnostnej spektrometrie (MS^n), ako je napríklad monitorovanie vybranej reakcie (selected reaction monitoring, SRM);
4. kombináciou techník hmotnostnej spektrometrie (MS) alebo sekvenčnej hmotnostnej spektrometrie (MS^n) s vhodnými ionizačnými režimami.

Vhodná je hmotnostná spektrometria s nízkym rozlíšením (LRMS, pri rozlíšení na hmotnostnú jednotku), ako aj hmotnostná spektrometria s vysokým rozlíšením (HRMS), vrátane napr. prístrojov typu „double focusing sectors“, „Time of Flight (TOF)“ a „Orbitrap“.

Na potvrdenie identity analytu v hmotnostnej spektrometrii s vysokým rozlíšením (HRMS) musí byť hmotnostná odchýlka všetkých diagnostických iónov nižšia ako 5 ppm (alebo v prípade $m/z < 200$ nižšia ako 1 mDA). Na základe toho by sa malo vybrať účinné rozlíšenie vhodné na daný účel, ktoré bude zvyčajne väčšie ako 10 000 pre celý hmotnostný rozsah pri 10 % údolí alebo 20 000 pri plnej šírke v polovici výšky (FWHM).

Ak sa hmotnostné spektrometrické stanovenie vykonáva snímaním celého spektra (LRMS aj HRMS), vhodné sú len diagnostické ióny s relatívnou intenzitou vyššou ako 10 % v referenčnom spektre kalibračného štandardu, štandardu s odpovedajúcou maticou alebo štandardu s fortifikovanou maticou. Diagnostické ióny musia zahŕňať molekulový ión (ak je prítomný pri ≥ 10 % intenzite základného píku) a charakteristické fragmentové alebo produktové ióny.

Výber prekursorových iónov: Ak sa hmotnostné spektrometrické stanovenie vykonáva fragmentáciou po výbere prekursorového iónu, výber prekursorového iónu sa vykonáva pri rozlíšení na hmotnostnú jednotku alebo lepšom. Vybraný prekursorový ión je molekulový ión, charakteristické adukty molekulového iónu, charakteristické produktové ióny alebo jeden z jeho izotopových iónov. V prípade, že výber prekursorov má vybraný rozsah hmotností väčší než jeden dalton (napr. v prípade nezávislého zberu údajov), táto technika sa považuje za konfirmačnú analýzu celého spektra (full-scan).

Fragmentové a produktové ióny: vybrané fragmentové alebo produktové ióny musia byť diagnostickým fragmentom pre meraný analyt/produkt. Neselektívne prechody (napr. tropyliový kation alebo strata vody) sa vynechajú vždy, keď je to možné. Výdatnosť (intenzita) diagnostických iónov sa určuje z plochy píku alebo jeho výšky z integrovaných extrahovaných iónových chromatogramov. Tento postup možno použiť aj vtedy, keď sa na identifikáciu používajú merania celého spektra. Pomer signál/šum (S/N) musí byť pre všetky diagnostické ióny väčší alebo rovný tri ku jednej (3:1).

Relatívne intenzity: relatívne intenzity diagnostických iónov (iónový pomer) sú vyjadrené ako percento intenzity najvýdatnejšieho iónu alebo prechodu. Iónový pomer sa musí stanoviť porovnaním spektier alebo integráciou signálov hmotnostných stôp extrahovaných iónov. Iónový pomer analytu, ktorý sa má potvrdiť, musí zodpovedať pomeru v štandardoch s odpovedajúcou maticou alebo v štandardoch s fortifikovanou maticou alebo v štandardných roztokoch pri porovnateľných koncentráciách nameraných za rovnakých podmienok v rámci ± 40 % relatívnej odchýlky.

Pre všetky hmotnostné spektrometrické analýzy sa musí stanoviť najmenej jeden iónový pomer. Ide prednostne o ióny získané v rámci skenovania vybraných iónov, ale ióny môžu pochádzať aj z rôznych skenov v tom istom nástreku (t. j. sken celého spektra a fragmentačný sken).

1.2.4.2. Identifikácia

Na výber vhodných meracích režimov a hodnotiacich kritérií sa použije systém identifikačných bodov. Na potvrdenie identity látok v matrici, pre ktoré je stanovená MRL (povolené použitie), sa vyžadujú minimálne 4 identifikačné body. V prípade nepovolených alebo zakázaných látok sa vyžaduje 5 identifikačných bodov. Jeden bod môže pochádzať z chromatografickej separácie. V tabuľke 3 je uvedený počet identifikačných bodov, ktoré každá z techník poskytuje. Na dosiahnutie požadovaných identifikačných bodov pre confirmáciu možno pridať identifikačné body získané inými technikami.

1. Všetky hmotnostné spektrometrické analýzy sa musia kombinovať so separačnou technikou, ktorá vykazuje dostatočnú separačnú silu a selektivitu pre konkrétne použitie. Vhodnými separačnými technikami sú okrem iného kvapalinová a plynová chromatografia, kapilárna elektroforéza (CE) a superkritická fluidná chromatografia (SFC). V prípade analytu, ktorý predstavuje akúkoľvek izobarickú alebo izoméru zlúčeninu musí byť na potvrdenie jej identity povinné akceptovanie retenčného času (t. j. $\pm 0,5\%$ v GC a $\pm 1\%$ v LC a SFC).
2. Na dosiahnutie minimálneho počtu identifikačných bodov sa môžu skombinovať maximálne tri separačné techniky.
3. Rôzne spôsoby ionizácie (napr. elektrónová ionizácia a chemická ionizácia) sa považujú za rôzne techniky.

Tabuľka 3

Identifikačné body pre každú techniku

Technika	Identifikačné body
Separácia (GC, LC, SFC, CE)	1
Ión LR-MS	1
Výber prekursorového iónu pri hmotnostnom rozsahu $< \pm 0,5$ Da	1 (nepriamy)
Produktový ión LR-MS ⁿ	1,5
Ión HR-MS	1,5
Produktový ión HR-MS ⁿ	2,5

Tabuľka 4

Príklady počtu identifikačných bodov pri konkrétnych technikách a kombináciách techník (n = celé číslo)

Technika(-y)	Separácia	Počet iónov	Identifikačné body
GC-MS (EI alebo CI)	GC	n	1 + n
GC-MS (EI a CI)	GC	2 (EI) + 2 (CI)	1 + 4 = 5
GC-MS (EI alebo CI) 2 deriváty	GC	2 (derivát A) + 2 (derivát B)	1 + 4 = 5
LC-MS	LC	n (MS)	1 + n
GC- alebo LC-MS/MS	GC alebo LC	1 prekursorový + 2 produktové	1 + 1 + 2 × 1,5 = 5
GC- alebo LC-MS/MS	GC alebo LC	2 prekursorové + 2 produktové	1 + 2 + 2 × 1,5 = 6
GC- alebo LC-MS ³	GC alebo LC	1 prekursorový + 1 MS ² produktový + 1 MS ³ produktový	1 + 1 + 1,5 + 1,5 = 5
GC- alebo LC-HRMS	GC alebo LC	n	1 + n × 1,5

GC- alebo LC-HRMS/MS	GC alebo LC	1 prekursorový (hmotnostný rozsah $< \pm 0,5 \text{ Da}$) + 1 produktový	$1 + 1 + 2,5 = 4,5$
GC- alebo LC-HRMS a HRMS/MS	GC alebo LC	1 ión z celého spektra + 1 HRMS produktový ión ^a	$1 + 1,5 + 2,5 = 5$
GC- a LC-MS	GC a LC	2 ióny (GCMS) + 1 ión (LCMS)	$1 + 1 + 2 + 1 + 1 = 6$

^a Ak je tento prekursorový ión rovnaký ión (alebo adukt alebo izotop) ako ión HRMS sledovaný v skene celého spektra, pre výber prekursorového iónu sa nezískava žiadny ďalší identifikačný bod.

1.2.5. Špecifické pracovné kritériá na stanovenie analytu pomocou kvapalinovej chromatografie s inými detekčnými technikami než hmotnostná spektrometria

Iba v prípade povolených látok sa ako alternatíva pre metódy založené na hmotnostnej spektrometrii môžu použiť tieto techniky za predpokladu, že sú splnené príslušné kritériá pre tieto techniky:

1. full-scan spektrofotometria s detekciou pomocou diódového poľa (DAD) v prípade použitia s HPLC;
2. spektrofotometria s fluorescenčnou detekciou v prípade použitia s HPLC.

Kvapalinová chromatografia s detekciou v ultrafialovom svetle/vo viditeľnom svetle (jedna vlnová dĺžka) ako taká nie je vhodná na používanie ako konfirmačná metóda.

1.2.5.1. Pracovné kritériá pre full-scan spektrofotometriu s detekciou pomocou diódového poľa

Musia sa splniť pracovné kritériá pre chromatografickú separáciu uvedené v kapitole 1.2.3.

Absorbčné maximá v UV spektre analytu musia byť na rovnakých vlnových dĺžkach ako tie v kalibračnom štandarde v matici, v rámci maximálneho rozpätia, ktoré je dané rozlišovacou schopnosťou detekčného systému. V prípade detekcie pomocou diódového poľa je toto maximálne rozpätie obvykle $\pm 2 \text{ nm}$. Spektrum analytu v oblasti nad 220 nm sa nesmie v tých oblastiach oboch spektier, ktoré majú relatívnu absorbcanciu rovnú 10% alebo väčšiu, viditeľne líšiť od spektra kalibračného štandardu. Toto kritérium je splnené, ak, po prvé, existujú tie isté maximá a po druhé, ak rozdiel medzi týmito dvomi spektrami nie je v žiadnom bode väčší než 10% absorbcancie kalibračného štandardu. V prípade, že sa na vyhľadávanie a zisťovanie zhody používa počítačová knižnica, musí byť pri porovnaní údajov zo spektier úradných vzoriek s údajmi zo spektier kalibračného roztoku prekročený kritický faktor zhody. Hodnota tohto faktora sa stanoví v priebehu validačného procesu pre každý analyt na základe spektier, pre ktoré sú splnené vyššie opísané kritériá. Musí sa kontrolovať variabilita spektier, spôsobená maticou vzorky a činnosťou detektora.

1.2.5.2. Pracovné kritériá pre spektrofotometriu s fluorescenčnou detekciou

Musia sa splniť pracovné kritériá pre chromatografickú separáciu uvedené v kapitole 1.2.3.

Výber excitačných a emisných vlnových dĺžok v kombinácii s chromatografickými podmienkami sa musí urobiť takým spôsobom, aby sa minimalizoval účinok interferujúcich zložiek v extraktoch slepej vzorky. Medzi excitačnou a emisnou vlnovou dĺžkou musí byť minimálne 50 nm .

Najbližšie maximum píku v chromatograme musí byť od stanovovaného píku analytu vzdialené najmenej o jednu plnú šírku píku analytu v 10% maximálnej výšky píku analytu.

Používa sa pre molekuly, ktoré vykazujú prirodzenú fluorescenciu a molekuly, ktoré vykazujú fluorescenciu po transformácii alebo derivatizácii.

KAPITOLA 2

VALIDÁCIA

2.1. Pracovné charakteristiky, ktoré je potrebné stanoviť pre analytické metódy

Validáciou metódy sa musí preukázať, že daná analytická metóda spĺňa kritériá na príslušné pracovné charakteristiky. Rôzne účely kontroly si vyžadujú rôzne kategórie metód. V tabuľke 5 sa určuje, ktoré pracovné charakteristiky sa musia overiť, pre ktorý typ metódy; bližšie vysvetlenie každého parametra je dané v tejto kapitole.

Tabuľka 5

Klasifikácia analytických metód podľa pracovných charakteristík, ktoré musia byť stanovené

Metóda	Konfirmačná		Skríningová		
	Kvalitatívna	Kvantitatívna	Kvalitatívna	Semi-kvantitatívna	Kvantitatívna
Látky	A	A, B	A, B	A, B	A, B
Identifikácia v súlade s bodom 1.2	x	x			
CC α	x	x			
CC β	-		x	x	x
Pravdivosť		x			x
Presnosť		x		x)	x
Relatívny matricový efekt/absolútna výťažnosť *		x			x
Selektivita/špecifickosť		x	x	x	x
Stabilita #		x	x	x	x
Robustnosť		x	x	x	x

x: Prostredníctvom validácie je potrebné preukázať, že sú splnené požiadavky na pracovné charakteristiky.

x) Požiadavky na presnosť uvedené v kapitole 1.2.2.2 nemusia byť splnené v prípade semikvantitatívnych skríningových metód. Presnosť by sa však mala stanoviť, aby sa preukázala vhodnosť metódy pre zabránenie výskytu falošne negatívnych analytických výsledkov.

A: zakázané alebo nepovolené látky

B: povolené látky

Ak sú údaje o stabilite analytov v matrici dostupné z vedeckej literatúry alebo z iného laboratória, dotknuté laboratórium nemusí tieto údaje znova stanovovať. Odkaz na dostupné údaje o stabilite analytov v roztoku je však prijateľný len vtedy, ak sa použijú rovnaké podmienky.

* Pre MS metódy je dôležité preukázať prostredníctvom validácie, že sú splnené požiadavky na pracovné charakteristiky. Musí sa stanoviť relatívny matricový efekt metódy, pokiaľ nebol určený v priebehu validačného procesu. Absolútna výťažnosť metódy sa musí stanoviť vtedy, keď sa nepoužije žiadny vnútorný štandard, ani kalibrácia s fortifikovanou matricou.

2.2. Pravdivosť, opakovateľnosť a vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť

V tejto kapitole sú uvedené príklady a odkazy na validačné postupy. Môžu sa použiť aj iné prístupy, ktorými sa preukáže, že metóda je v súlade s pracovnými kritériami, za predpokladu, že dosiahnu rovnakú úroveň a kvalitu informácií.

2.2.1. Konvenčná validácia

Výpočet parametrov v súlade s konvenčnými metódami si vyžaduje vykonať niekoľko jednotlivých experimentov. Pre každú veľkú zmenu sa musí stanoviť každá pracovná charakteristika (pozri oddiel 2.4). V prípade viacanalytových metód je možné analyzovať súčasne viac analytov, pokiaľ sa predtým vylúčili možné rušivé vplyvy. Podobným spôsobom sa môže stanoviť niekoľko pracovných charakteristík. Preto sa v záujme minimalizácie pracovného zaťaženia odporúča v čo najväčšej miere kombinovať experimenty (napr. opakovateľnosť a vnútrolaboratórnu reprodukovateľnosť so špecifickosťou, analýzy slepých vzoriek na stanovenie rozhodovacieho limitu pre konfirmáciu a testovanie špecifickosti).

2.2.1.1. Pravdivosť na základe certifikovaného referenčného materiálu

Uprednostňuje sa stanovenie pravdivosti analytickej metódy pomocou certifikovaného referenčného materiálu (CRM). Postup je opísaný v norme ISO 5725-4:1994 ⁽²⁾

Príklad:

1. Analyzuje sa šesť replikátov CRM v súlade so skúšobným postupom danej metódy.
2. Stanoví sa koncentrácia analytu prítomného v každej vzorke z replikátov.
3. *Pre týchto šesť replikátov* sa vypočíta priemer, smerodajná odchýlka a variačný koeficient (%).
4. Pravdivosť sa vypočíta ako pomer zistenej priemernej hodnoty koncentrácie a certifikovanej hodnoty (nameranej ako koncentrácia), vynásobený číslom 100, aby sa výsledok vyjadril v percentách.

Pravdivosť (%) = zistená priemerná hodnota koncentrácie korigovaná na výťažnosť x 100/certifikovaná hodnota.

2.2.1.2. Pravdivosť na základe fortifikovaných vzoriek

Ak nie je k dispozícii žiadny certifikovaný referenčný materiál, pravdivosť metódy sa stanoví experimentálne s použitím fortifikovanej slepej matrice minimálne v súlade s touto schémou:

1. V prípade metód validovaných od dátumu nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia sa vyberie slepý materiál a fortifikuje sa pri koncentrácii:
 - a) 0,5 ⁽³⁾, 1,0 a 1,5-násobku RPA, alebo
 - b) 0,1 ⁽⁴⁾, 1,0 a 1,5-násobku MRL alebo ML v prípade povolených látok, alebo
 - c) 1,0, 2,0 a 3,0-násobku LCL v prípade nepovolených látok (pre ktoré nebola stanovená žiadna hodnota RPA).
2. Na každej úrovni sa vykoná analýza so šiestimi replikátmi.
3. Vzorky sa analyzujú.
4. Vypočíta sa zistená koncentrácia v každej vzorke.
5. Vypočíta sa pravdivosť pre každú vzorku podľa nižšie uvedenej rovnice a následne sa vypočíta priemerná pravdivosť a variačný koeficient zo šiestich výsledkov na každej koncentračnej hladine.

Pravdivosť (%) = (zistená priemerná hodnota koncentrácie korigovaná na výťažnosť) x 100/hladina fortifikácie.

V prípade metód pre povolené látky, ktoré boli validované pred dátumom začiatku uplatňovania tohto nariadenia, postačuje stanovenie pravdivosti metódy použitím šiestich fortifikovaných častí na hladine 0,5, 1,0 a 1,5-násobku MRL alebo ML.

⁽²⁾ ISO 5725-4:2020 Presnosť (správnosť a zhodnosť) metód a výsledkov merania – Časť 4: Základné metódy stanovenia správnosti normalizovanej metódy merania (Clause 3 – Ustanovenie 3).

⁽³⁾ Ak v prípade nepovolenej farmakologicky účinnej látky validácia koncentrácie 0,5-násobku RPA nie je rozumne dosiahnuteľná, môže sa koncentrácia 0,5-násobku RPA nahradiť najnižšou koncentráciou medzi 0,5-násobkom a 1,0-násobkom RPA, ktorá je rozumne dosiahnuteľná.

⁽⁴⁾ Ak v prípade špecifickej farmakologicky účinnej látky validácia koncentrácie 0,1-násobku MRL nie je rozumne dosiahnuteľná, môže sa koncentrácia 0,1-násobku MRL nahradiť najnižšou koncentráciou medzi 0,1-násobkom a 0,5-násobkom MRL, ktorá je rozumne dosiahnuteľná.

2.2.1.3. Opakovateľnosť

1. V prípade metód, ktoré boli validované od dátumu nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia, sa pripraví súbor vzoriek identických slepých matric rovnakého druhu zvieratá. Tie sa fortifikujú analytom tak, aby sa dosiahli koncentrácie zodpovedajúce:
 - a) 0,5 ⁽⁵⁾, 1,0 a 1,5-násobku RPA, alebo
 - b) 0,1 ⁽⁶⁾, 1,0 a 1,5-násobku MRL alebo ML v prípade povolených látok, alebo
 - c) 1,0; 2,0 a 3,0-násobku LCL v prípade nepovolených alebo zakázaných látok, ak nemožno použiť žiadnu RPA.
2. Na každej hladine sa vykoná analýza s najmenej šiestimi replikátmi.
3. Vzorky sa analyzujú.
4. Vypočíta sa zistená koncentrácia v každej vzorke.
5. Vypočíta sa priemerná koncentrácia, smerodajná odchýlka a variačný koeficient (%) fortifikovaných vzoriek.
6. Tieto kroky sa zopakujú najmenej pri dvoch ďalších príležitostiach.
7. Vypočítajú sa celkové priemerné koncentrácie, smerodajné odchýlky (vypočítaním priemeru z druhých mocnín jednotlivých smerodajných odchýlok a jeho odmocnením) a variačné koeficienty pre fortifikované vzorky.

V prípade metód pre povolené látky validovaných pred dátumom nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia postačuje stanovenie opakovateľnosti s fortifikovanými matricami pri koncentráciách 0,5; 1,0 a 1,5-násobku MRL alebo ML.

Prípadne sa výpočet opakovateľnosti môže vykonať podľa normy ISO 5725-2:2019 ⁽⁷⁾.

2.2.1.4. Vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť

1. Na validácie vykonané po dátume nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia sa pripraví súbor vzoriek špecifikovaného skúšobného materiálu (identických alebo odlišných matric) fortifikovaných analytom (-mi) tak, aby sa dosiahli koncentrácie zodpovedajúce:
 - a) 0,5⁽⁵⁾, 1,0 a 1,5-násobku RPA, alebo
 - b) 0,1⁽⁶⁾, 1,0 a 1,5-násobku MRL alebo ML v prípade povolených látok, alebo
 - c) 1,0; 2,0 a 3,0-násobku LCL v prípade nepovolených alebo zakázaných látok, ak nemožno použiť žiadnu hodnotu RPA.
2. Na každej koncentračnej hladine sa vykoná analýza s minimálne šiestimi replikátmi slepého materiálu.
3. Analyzujú sa fortifikované vzorky.
4. Vypočíta sa zistená koncentrácia v každej vzorke.

⁽⁵⁾ Ak v prípade nepovolenej farmakologicky účinnej látky validácia koncentrácie 0,5-násobku RPA nie je rozumne dosiahnuteľná, môže sa koncentrácia 0,5-násobku RPA nahradiť najnižšou koncentráciou medzi 0,5-násobkom a 1,0-násobkom RPA, ktorá je rozumne dosiahnuteľná.

⁽⁶⁾ Ak v prípade špecifickej farmakologicky účinnej látky validácia koncentrácie 0,1-násobku MRL nie je rozumne dosiahnuteľná, môže sa koncentrácia 0,1-násobku MRL nahradiť najnižšou koncentráciou medzi 0,1-násobkom a 0,5-násobkom MRL, ktorá je rozumne dosiahnuteľná.

⁽⁷⁾ ISO 5725-2:2019 Presnosť (správnosť a zhodnosť) metód a výsledkov merania – Časť 2: Základná metóda stanovenia opakovateľnosti a reprodukovateľnosti normalizovanej metódy merania (Clause 3 – Ustanovenie 3).

5. Tieto kroky sa zopakujú najmenej pri dvoch ďalších príležitostiach s rôznymi šaržami slepého materiálu, rôznymi pracovníkmi a s čo najväčším počtom rôznych podmienok prostredia, napr. s rôznymi šaržami reakčných činidiel, rozpúšťadiel, pri rôznych laboratórnych teplotách, s použitím rôznych prístrojov alebo variácií iných parametrov.
6. Stanoví sa priemerná koncentrácia, smerodajná odchýlka a variačný koeficient (%) fortifikovaných vzoriek.

V prípade metód pre povolené látky validovaných pred dátumom nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia postačuje stanovenie vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti s fortifikovanými maticami na koncentrácie 0,5; 1,0 a 1,5-násobku MRL alebo ML.

Prípadne sa výpočet vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti/medziľahlej presnosti môže vykonať aj podľa noriem ISO 5725-2:2019, ISO 11843-1:1997 ⁽⁸⁾, Codex CAC/GL 59-2006 ⁽⁹⁾.

2.2.2. Validácia podľa alternatívnych modelov

Výpočet parametrov v súlade s alternatívnymi modelmi si vyžaduje vypracovanie experimentálneho plánu. Experimentálny plán musí byť navrhnutý v závislosti od počtu rôznych druhov zvierat a rôznych faktorov, ktoré sú predmetom vyšetrovania. Prvým krokom celého validačného postupu je preto zvážiť početnosť a typ vzoriek, ktoré sa budú v budúcnosti analyzovať v laboratóriu, s cieľom určiť najdôležitejšie druhy zvierat a faktory, ktoré môžu ovplyvniť výsledky merania. Prístup zohľadňujúci rôzne faktory umožňuje posúdiť neistotu merania výsledkov skúšok, získaných za rozmanitých skúšobných podmienok v danom laboratóriu, ako napr. rôzni analytici, rôzne prístroje, rôzne šarže reagentov, rôzne matrice, rôzne časy skúšok a rozdielne teploty pri skúškach. Následne sa musí rozsah koncentrácie zvoliť spôsobom prispôbeným účelu podľa MRL alebo ML v prípade povolených látok alebo podľa RPA alebo LCL v prípade zakázaných alebo nepovolených látok.

Prístup zohľadňujúci rôzne faktory je zameraný na získanie spoľahlivých údajov o presnosti a údajov merania simultánnou kontrolovanou variáciou vybraných faktorov. Umožňuje hodnotenie kombinovaného účinku faktorových a náhodných vplyvov. Navrhovanie experimentov umožňuje aj skúmanie robustnosti ⁽¹⁰⁾ analytickej metódy a stanovenie smerodajnej odchýlky vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti u všetkých matic.

Ďalej sa uvádza príklad alternatívneho prístupu s použitím ortogonálneho experimentálneho plánu.

Môže sa preskúmať až sedem faktorov (faktory šumu). Štúdia je navrhnutá tak, aby sa presnosť, pravdivosť (na základe fortifikovaných vzoriek), citlivosť, neistota merania a kritické koncentrácie mohli určiť súbežne vďaka zavedeniu experimentálneho plánu.

Tabuľka 6

Príklad ortogonálneho experimentálneho plánu so siedmimi faktormi (I – VII), ktoré sa menili na dvoch hladinách (A/B) vo validačnej štúdií s ôsmimi experimentmi (kombinácia faktor – hladina)

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

⁽⁸⁾ ISO 11843-1:1997 Detekčná schopnosť – Časť 1: Termíny a definície.

⁽⁹⁾ Codex Alimentarius, Organizácia OSN pre výživu a poľnohospodárstvo, Svetová zdravotnícka organizácia, Guidelines on estimation of uncertainty of results (Usmernenia k odhadu neistoty výsledkov) (CAC/GL 59 – 2006).

⁽¹⁰⁾ Zmeny experimentálnych podmienok, ktoré sa tu uvádzajú, môžu zahŕňať materiály vzoriek, analyty, podmienky uchovávania, podmienky prostredia a/alebo podmienky prípravy vzoriek. Pri všetkých experimentálnych podmienkach, u ktorých by mohlo v praxi dochádzať ku kolísaniu (napr. stabilita reagentov, zloženie vzorky, hodnota pH, teplota), sa uvádzajú všetky zmeny, ktoré by mohli ovplyvniť analytický výsledok.

Meranie 05	B	A	A	B	B	A	B
Meranie 06	B	A	B	B	A	B	A
Meranie 07	B	B	A	A	B	B	A
Meranie 08	B	B	B	A	A	A	B

Výpočet charakteristík metódy sa vykoná podľa postupu, ktorý navrhol Jülicher a kol. ⁽¹¹⁾.

2.2.3. Ďalšie validačné prístupy

Na preukázanie toho, že metóda spĺňa pracovné kritériá pre pracovné charakteristiky, sa môžu použiť iné prístupy, za predpokladu, že dosiahnu rovnakú úroveň a kvalitu informácií. Validáciu možno urobiť aj vykonaním medzilaboratórnej štúdie podľa kódexu *Codex Alimentarius*, ISO alebo IUPAC ⁽¹²⁾, alebo alternatívnymi metódami, ako sú vnútrolaboratórne štúdie alebo vnútrolaboratórna validácia ⁽¹³⁾. Ak sa uplatňujú alternatívne validačné postupy, vo validačnom protokole sa uvedie základný model a stratégia s príslušnými nevyhnutnými podmienkami, predpokladmi a vzorcami, alebo sa aspoň uvedú odkazy na ich dostupnosť.

2.3. Selektivita/špecifickosť

Treba zabezpečiť čo najväčšie rozlíšenie medzi analytom a jeho blízko príbuznými látkami. Stanoví sa interferencia homológov, izomérov, produktov rozkladu, endogénnych látok, analógov, metabolických produktov príslušného rezídua, zlúčenín matrice alebo akejkoľvek inej potenciálne interferujúcej látky a v prípade potreby sa táto metóda upraví tak, aby sa zabránilo zisteným interferenciám. Na určenie špecifickosti metódy sa použije tento prístup:

1. Vyberie sa škála chemicky príbuzných zlúčenín alebo iných látok, ktoré sa môžu pravdepodobne vyskytovať spolu so sledovanou zlúčeninou a ktoré môžu byť prítomné vo vzorke, a overí sa, či by mohli narušovať analýzu cieľového(-ých) analytu(-ov).
2. Analyzuje sa vhodný počet reprezentatívnych slepých vzoriek, napr. rôzne šarže alebo šarže pochádzajúce z rôznych druhov zvierat ($n \geq 20$), a skontrolujú sa akékoľvek interferencie signálov, píkov alebo stôp iónov v príslušnej oblasti, v ktorej sa očakáva eluovanie cieľového analytu.
3. Fortifikujú sa reprezentatívne slepé vzorky v príslušnej koncentrácii látkami, ktoré by mohli narušovať identifikáciu a/alebo kvantifikáciu analytu, a preskúma sa, či pridaná látka:
 - a) môže viesť k falošnej identifikácii;
 - b) bráni identifikácii cieľového analytu;
 - c) viditeľne ovplyvňuje kvantifikáciu.

2.4. Robustnosť

Testuje sa pretrvávajúca funkčnosť analytickej metódy, a to za rôznych experimentálnych podmienok, ktoré zahŕňajú napríklad rôzne podmienky odberu vzoriek a menšie zmeny, ktoré sa môžu vyskytnúť pri rutinnom testovaní. Pri testovaní robustnosti metódy by zmeny vykonané v experimentálnych podmienkach mali byť menšie. Význam týchto zmien sa vyhodnotí. Pre všetky malé zmeny, u ktorých sa ukázalo, že majú dôležitý vplyv na vykonanie skúšky, sa určí každá pracovná charakteristika.

⁽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 (Posúdenie detekčných metód v stopovej analýze prostredníctvom štatisticky založenej koncepcie vnútrolaboratórnej validácie). *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. Stabilita

Určí sa stabilita kalibračného štandardu, štandardu s odpovedajúcou maticou a/alebo štandardov s fortifikovanou maticou a analytu alebo zložiek matrice vo vzorke počas uchovávaní alebo analýzy, keďže nestabilita môže ovplyvniť výsledky skúšky.

Stabilita analytu za rôznych podmienok uchovávaní je zvyčajne dobre opísaná. Požadované informácie možno získať z experimentov vykonávaných na monitorovanie podmienok uchovávaní štandardov a vzoriek, ktoré sa vykonávajú ako súčasť bežného postupu akreditácie laboratória a systému kontroly kvality. Ak sú k dispozícii údaje o stabilite analytov v matici (napr. na základe informácií z referenčných laboratórií EÚ, publikovaných údajov atď.), nemusí ich určovať každé laboratórium. Odkaz na dostupné údaje o stabilite analytov v roztoku a matici je však prijateľný len vtedy, ak sa použijú rovnaké podmienky.

V prípade, že požadované údaje o stabilite nie sú k dispozícii, mali by sa použiť uvedené prístupy.

2.5.1. Určenie stability analytu v roztoku

1. Pripraví sa čerstvé zásobné roztoky analytu(-ov) a zriedia tak, ako sa uvádza v pokynoch na skúšku, aby sa získali dostatočné alikvotné časti (napr. 40) každej vybranej koncentrácie. Pripraví sa vzorky:
 - a) roztokov analytu, ktoré sa používajú na fortifikáciu;
 - b) roztokov analytov, ktoré sa používajú na konečnú analýzu;
 - c) akéhokoľvek iného roztoku, ktorý je vhodný (napr. derivatizované štandardy).
2. Podľa pokynov na skúšku sa zmeria obsah analytu v čerstvo pripravenom roztoku.
3. Príslušné objemy sa rozdelia do vhodných nádob, označia sa a uchovávajú sa vo svetelných a teplotných podmienkach uvedených v tabuľke 7. Čas uchovávaní sa zvolí s prihliadnutím na aplikovanú analytickú prax, v ideálnom prípade až dovtedy, kým počas identifikácie a/alebo kvantifikácie nie je pozorovateľný prvý prejav degradácie. Ak sa počas štúdie stability nepozoruje žiadna degradácia, trvanie uchovávaní v rámci štúdie stability sa rovná trvaníu maximálneho času uchovávaní roztoku.
4. Vypočíta sa koncentrácia analytu(-ov) v každej alikvotnej časti v porovnaní s koncentráciou analytu v čerstvo pripravenom roztoku podľa tohto vzorca:

$$\text{zostatkový analyt (\%)} = C_i \times 100 / C_{\text{čerstvý}}$$

$$C_i = \text{koncentrácia v časovom bode } i$$

$$C_{\text{čerstvý}} = \text{koncentrácia čerstvo pripraveného roztoku}$$

Priemerná hodnota piatich replikátov roztoku, ktoré boli uchovávané, sa nesmie líšiť o viac ako 15 % od priemernej hodnoty piatich čerstvo pripravených replikátov roztoku. Ako základ na výpočet percentuálneho rozdielu sa použije priemerná hodnota piatich čerstvo pripravených roztokov.

Tabuľka 7

Schéma určenia stability analytu v roztoku

	-20 °C	+ 4 °C	+ 20 °C
Tma	10 alikvotných častí	10 alikvotných častí	10 alikvotných častí
Svetlo			10 alikvotných častí

2.5.2. Určenie stability analytu(-ov) v matici

1. Pokiaľ je to možné, použijú sa prirodzene kontaminované vzorky. Ak nie je prirodzene kontaminovaná matica k dispozícii, použije sa slepá matica fortifikovaná analytom.

2. Ak je prirodzene kontaminovaná matrica k dispozícii, stanoví sa koncentrácia v čerstvo získanej matrici. Ďalšie alikvotné časti homogenizovanej prirodzene kontaminovanej matrice sa uchovávajú pri teplote mínus 20 °C alebo nižšej, ak je to potrebné, a pokiaľ sa vzorka uchováva v laboratóriu, stanovujú sa koncentrácie analytu.
3. Ak prirodzene kontaminovaná matrica nie je k dispozícii, odoberie sa slepá matrica a homogenizuje sa. Táto matrica sa rozdelí na päť alikvotných častí. Každá alikvotná časť sa fortifikuje analytom, ktorý by mal byť pripravený pokiaľ možno v malom množstve vodného roztoku. Jedna alikvotná časť sa analyzuje hneď. Zostávajúce alikvoty sa uchovávajú pri teplote najmenej mínus 20 °C alebo nižšej, ak je to potrebné, a analyzujú sa po krátkodobom, strednodobom a dlhodobom uchovávaní s ohľadom na použité analytické metódy.
4. Zaznamená sa maximálny prijateľný čas uchovávanania a optimálne podmienky uchovávanania.

Priemerná hodnota uchovávaných piatich replikátov roztoku sa nesmie líšiť od priemernej hodnoty piatich čerstvo pripravených replikátov o viac ako hodnotu vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti metódy. Ako základ na výpočet percentuálneho rozdielu sa použije priemerná hodnota piatich čerstvo pripravených roztokov.

2.6. Rozhodovací limit pre confirmáciu (CCa)

Pre confirmačné metódy sa stanoví CCa. CCa sa stanovuje za podmienok, ktoré sú v súlade s požiadavkami na identifikáciu alebo identifikáciu a kvantifikáciu, ako sa vymedzuje v oddiele „Pracovné kritériá a iné požiadavky na analytické metódy“ v kapitole 1.

Na kontrolu vyhovujúcich/nevyhovujúcich vzoriek je v hodnote CCa (rozhodovací limit pre confirmáciu) už zohľadnená kombinovaná štandardná neistota merania.

1. V prípade nepovolených alebo zakázaných farmakologicky účinných látok sa CCa vypočíta takto:

- a) Metóda 1: postupom kalibračnej krivky podľa normy ISO 11843-1:1997⁽¹⁴⁾ (tu sa označuje ako minimálna detegovateľná hodnota čistej stavovej premennej). V tomto prípade sa použije slepý materiál, ktorý sa fortifikuje na hodnotu RPA alebo LCL a vyššie v ekvidistančných krokoch. Vzorky sa analyzujú. Po identifikácii sa do grafu podľa možnosti vynesie signál alebo prepočítaná koncentrácia oproti pridanej koncentrácii. Rozhodovacím limitom je koncentrácia, ktorá zodpovedá signálu rovnajúcemu sa hodnote priesečníka krivky s osou y zvýšenej o 2,33-násobok smerodajnej odchýlky vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti. Táto metóda je použiteľná len na kvantitatívne skúšky. Rozhodovacie limity získané týmto prístupom sa overia analýzou slepej matrice fortifikovanej na koncentráciu zodpovedajúcu vypočítanému rozhodovaciemu limitu.
- b) Metóda 2: analýzou najmenej 20 reprezentatívnych slepých vzoriek materiálu na každú matricu, aby bolo možné vypočítať pomer signál/šum v časovom intervale, v ktorom sa očakáva analyt. Ako rozhodovací limit je možné použiť trojnásobok pomeru signál/šum. Platí to pre kvantitatívne a kvalitatívne skúšky. Rozhodovacie limity získané týmto prístupom sa overia analýzou slepej matrice fortifikovanej na koncentráciu zodpovedajúcu vypočítanému rozhodovaciemu limitu.
- c) Metóda 3: $CCa = LCL + k(\text{jednostranný interval spoľahlivosti, 99 \%}) \times (\text{kombinovaná štandardná neistota merania pri LCL})$

V prípade nepovolených alebo zakázaných farmakologicky účinných látok sa v závislosti od validačného experimentu (a jeho príslušných stupňov voľnosti) môže rozumne použiť t-rozdelenie, alebo ak sa vychádza z Gaussovho rozdelenia (jednostranný interval spoľahlivosti, $n = \infty$), použije sa k-faktor rovný hodnote 2,33.

Vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť a pravdivosť sú vhodné na určenie (kombinovanej) štandardnej neistoty merania, ak je stanovená s prihliadnutím na všetky relevantné ovplyvňujúce faktory.

Metóda 2 na výpočet CCa sa môže používať len do 1. januára 2026 v prípade metód validovaných pred dátumom nadobudnutia účinnosti tohto nariadenia. V prípade metód validovaných po nadobudnutí účinnosti tohto nariadenia sa použijú iba metódy 1 alebo 3.

⁽¹⁴⁾ ISO 11843-1:1997 Detekčná schopnosť – Časť 1: Termíny a definície.

2. V prípade povolených látok sa CC α vypočíta takto:

- a) V prípade povolených látok v kombináciách matrica/druh zvieratá, pre ktoré bola stanovená MRL alebo ML:
 - i) Metóda 1: postupom kalibračnej krivky podľa normy ISO 11843-1:1997 (tu sa označuje ako minimálna detegovateľná hodnota čistej stavovej premennej). V tomto prípade sa použije slepý materiál, ktorý sa fortifikuje na hodnotu MRL alebo ML a vyššie v ekvidistančných krokoch. Vzorky sa analyzujú. Po identifikácii sa do grafu podľa možnosti vynesie signál alebo prepočítaná koncentrácia oproti pridanej koncentrácii. Rozhodovacím limitom je koncentrácia, ktorá zodpovedá MRL alebo ML plus 1,64-násobok smerodajnej odchýlky vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti pri najvyššej prípustnej hodnote ($\alpha = 5\%$).
 - ii) Metóda 2: $CC\alpha = MRL \text{ (alebo ML)} + k(\text{jednostranný interval spoľahlivosti, } 95\%) \times (\text{kombinovaná štandardná neistota merania pri MRL alebo ML})$.

V prípade povolených látok sa v závislosti od validačného experimentu (a jeho príslušných stupňov voľnosti) môže rozumne použiť t-rozdelenie, alebo ak sa vychádza z Gaussovho rozdelenia (jednostranný interval spoľahlivosti, $n = \infty$), použije sa k-faktor rovný hodnote 1,64.

Vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť a pravdivosť sú vhodné na určenie (kombinovanej) štandardnej neistoty merania, ak je stanovená s prihliadnutím na všetky relevantné ovplyvňujúce faktory.

V prípade farmakologicky účinných látok, pre ktoré je stanovená MRL pre sumu rôznych látok, sa ako CC α na posúdenie sumy látok v meranej vzorke použije CC α látky s najvyššou koncentráciou vo vzorke.

- b) V prípade povolených látok pre kombinácie matrica/druh zvieratá, pre ktoré nebola stanovená MRL, nesmú byť prítomné žiadne rezíduá, pokiaľ sa nevykonalo povolené liečenie v súlade s článkom 11 smernice 2001/82/ES. V prípade povolených látok, pre ktoré neboli stanovené MRL, sa na výpočet CC α použije kaskádová MRL stanovená podľa vykonávacieho nariadenia Komisie (EÚ) 2018/470 ⁽¹⁵⁾. Použije sa metóda 1 alebo 2 podľa vyššie uvedeného odseku, avšak „MRL“ označuje „0,5-násobok kaskádovej MRL, s cieľom dosiahnuť 0,1-násobok kaskádovej MRL, pokiaľ sa to dá rozumne dosiahnuť“.

2.7. Detekčná schopnosť pre skrining (CC β)

Pre skriningové metódy sa stanoví CC β . CC β sa stanoví tak, ako je vymedzené v kapitole 1 „Pracovné kritériá a iné požiadavky na analytické metódy“ tejto prílohy a v súlade s požiadavkami stanovenými v tabuľke 5. V prípade skriningových metód sa však nemusia uplatňovať všetky požiadavky na identifikáciu (pozri 1.2.3, 1.2.4, 1.2.5).

1. V prípade nepovolených alebo zakázaných farmakologicky účinných látok sa musí zabezpečiť maximálna chyba β 5 %. CC β sa vypočíta takto:
 - a) Metóda 1: Postupom kalibračnej krivky podľa normy ISO 11843-1:1997 (tu sa uvádza ako minimálna detegovateľná hodnota čistej stavovej premennej). V tomto prípade sa použije reprezentatívna slepá vzorka materiálu, ktorá sa fortifikuje v ekvidistančných krokoch, začínajúc pod hodnotou alebo na hodnote RPA alebo ak nebola stanovená RPA, na hodnoty okolo STC (screening target concentration – cieľová koncentrácia skriningu). Vzorky sa analyzujú. Zostaví sa graf závislosti signálu od pridanej koncentrácie. Detekčnou schopnosťou je koncentrácia, ktorá zodpovedá STC plus 1,64-násobok smerodajnej odchýlky vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti priemerného nameraného obsahu na úrovni STC. Extrapolácia siahajúca hlboko pod najnižšiu fortifikovanú hladinu (< 50 % najnižšej fortifikovanej hladiny) sa potvrdí experimentálnymi údajmi vo validačnom kroku.
 - b) Metóda 2: Analyzovaním fortifikovaného slepeho materiálu pri koncentráciách na úrovni STC a vyššej. Pre každú úroveň koncentrácie sa analyzuje 20 fortifikovaných slepých vzoriek, aby sa zabezpečil spoľahlivý základ pre toto stanovenie. Detekčná schopnosť metódy sa rovná koncentrácii pri ktorej zostáva len $\leq 5\%$ falošne negatívnych výsledkov.
 - c) Metóda 3: $CC\beta = STC + k(\text{jednostranný interval spoľahlivosti, } 95\%) \times (\text{kombinovaná štandardná neistota merania na úrovni STC alebo na vyššej úrovni})$.

⁽¹⁵⁾ Vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2018/470 z 21. marca 2018 o podrobných pravidlách týkajúcich sa maximálneho limitu rezíduí, ktoré sa berú do úvahy na kontrolné účely pre potraviny vyrobené zo zvierat, ktoré boli liečené v EÚ podľa článku 11 smernice 2001/82/ES (Ú. v. EÚ L 79, 22.3.2018, s. 16).

V prípade nepovolených alebo zakázaných farmakologicky účinných látok sa v závislosti od validačného experimentu (a jeho príslušných stupňov voľnosti) môže primerane použiť t-distribúcia, alebo ak sa vychádza z Gaussovho rozdelenia (jednostranný interval spoľahlivosti, $n=\infty$), použije sa k-faktor 1,64.

Vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť a pravdivosť sú vhodné na určenie (kombinovanej) štandardnej neistoty merania, ak je určená s prihliadnutím na všetky relevantné ovplyvňujúce faktory.

2. V prípade povolených látok sa musí zabezpečiť maximálna chyba β 5 %. $CC\beta$ sa vypočíta takto:

- a) Metóda 1: postupom kalibračnej krivky podľa normy ISO 11843-1:1997 (tu sa uvádza ako minimálna detegovateľná hodnota redukovanej koncentrácie). V tomto prípade sa použije slepý materiál, ktorý sa fortifikuje na hodnotu povoleného limitu a pod túto hodnotu, pričom sa začína od STC v ekvidistančných krokoch. Vzorky sa analyzujú a identifikuje sa analyt(-y). Vypočíta sa smerodajná odchýlka priemerného nameraného obsahu na úrovni STC.

Detekčnou schopnosťou je koncentrácia, ktorá zodpovedá STC plus 1,64-násobok smerodajnej odchýlky vnútrolaboratórnej reprodukovateľnosti priemerného nameraného obsahu na úrovni STC;

- b) Metóda 2: analyzovaním fortifikovaného slepeho materiálu pri koncentráciách na úrovni pod povoleným limitom. Pre každú úroveň koncentrácie sa analyzuje 20 fortifikovaných slepých vzoriek, aby sa zabezpečil spoľahlivý základ pre toto stanovenie. Detekčná schopnosť metódy sa rovná koncentrácii pri ktorej zostáva len ≤ 5 % falošne negatívnych výsledkov.
- c) Metóda 3: $CC\beta = STC + k(\text{jednostranný interval spoľahlivosti, } 95 \%) \times (\text{kombinovaná})$ štandardná neistota merania na úrovni STC alebo na vyššej úrovni.

V prípade povolených látok sa v závislosti od validačného experimentu (a jeho príslušných stupňov voľnosti) môže rozumne použiť t-rozdelenie, alebo ak sa vychádza z Gaussovho rozdelenia (jednostranný interval spoľahlivosti, $n = \infty$), použije sa k-faktor 1,64 (čokoľvek v rámci použitia kaskády alebo použitia platnej MLR).

Vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť a pravdivosť sú vhodné na určenie (kombinovanej) štandardnej neistoty merania, ak je stanovená s prihliadnutím na všetky relevantné ovplyvňujúce faktory.

V prípade farmakologicky účinných látok, pre ktoré je stanovená MRL pre sumu rôznych látok, sa ako $CC\beta$ na posúdenie sumy látok v meranej vzorke použije $CC\beta$ látky s najvyššou koncentráciou vo vzorke.

2.8. Kalibračné krivky

Ak sa na kvantifikáciu používajú kalibračné krivky:

1. na zostrojenie krivky by sa prednostne malo použiť najmenej päť ekvidistančných hladín (koncentrácií) (vrátane nulovej hodnoty),
2. opíše sa pracovný rozsah krivky,
3. uvedie sa matematický vzorec krivky a vhodnosť údajov (korelačný koeficient R^2) pre opísanú krivkou,
4. opíšu sa prípustné rozsahy parametrov krivky.

V prípade kalibračných kriviek založených na štandardnom roztoku, štandardoch s odpovedajúcou maticou alebo štandardoch s fortifikovanou maticou sa uvedú prípustné rozsahy pre parametre kalibračnej krivky, ktoré sa môžu u jednotlivých sérií meraní líšiť.

2.9. Absolútna výťažnosť

Absolútna výťažnosť metódy sa stanoví vtedy, keď sa nepoužije žiadny vnútorný štandard alebo kalibrácia s použitím fortifikovanej matrice.

Ak sú splnené požiadavky na pravdivosť stanovené v tabuľke 1, môže sa použiť fixný korekčný faktor. V opačnom prípade sa používa korekčný faktor pre výťažnosť, zistený pre konkrétnu sériu merania. Prípadne sa namiesto korekčného faktora pre výťažnosť použije postup štandardného prídavku ⁽¹⁶⁾ alebo vnútorný štandard.

Absolútna výťažnosť sa vypočíta pre najmenej šesť reprezentatívnych dávok matrice.

Jedna alikvotná časť slepej matrice sa pred extrakciou fortifikuje analytom a druhá alikvotná časť slepej matrice sa po príprave vzorky fortifikuje na príslušnú úroveň koncentrácie a stanoví sa koncentrácia analytu.

Výťažnosť sa vypočíta takto:

$$\text{Výťažnosť (analyt)} = (\text{štandard s fortifikovanou matricou}) / (\text{štandard s odpovedajúcou matricou}) \times 100$$

2.10. Relatívne matricové efekty

Relatívny matricový efekt sa určí vo všetkých prípadoch. Môže sa to vykonať buď ako súčasť validácie, alebo v rámci samostatných experimentov. Výpočet relatívneho matricového efektu sa vykoná pre najmenej 20 rôznych slepých dávok (matrice/druh) podľa rozsahu metódy, napr. pre rôzne druhy zvierat, ktoré majú byť zahrnuté.

Slepá matrice sa po extrakcii fortifikuje analytom v koncentrácii zodpovedajúcej RPA, MRL alebo ML a mala by sa analyzovať spolu s čistým roztokom analytu v koncentrácii zodpovedajúcej RPA, MRL alebo ML.

Relatívny matricový efekt alebo matricový faktor (MF) sa vypočíta takto:

$$\text{MF (štandard)} = \frac{\text{plocha píku MMS štandardu}}{\text{plocha píku štandardu v roztoku}}$$

$$\text{MF (IS)} = \frac{\text{plocha píku MMS IS}}{\text{plocha píku IS v roztoku}}$$

$$\text{MF (štandard vzťahnutý na IS)} = \frac{\text{MF (štandard)}}{\text{MF (IS)}}$$

IS: vnútorný štandard

MMS: štandard s odpovedajúcou matricou

Variačný koeficient pre MF (štandard vzťahnutý na IS) nesmie byť vyšší ako 20 %.

KAPITOLA 3

KONTROLA KVALITY POČAS RUTINNEJ ANALÝZY – PRIEBEŽNÉ OVEROVANIE FUNKČNEJ SPÔSOBILOSTI METÓDY

Musia byť splnené požiadavky na zabezpečenie kvality analytických výsledkov podľa kapitoly 7.7 normy ISO/IEC 17025:2017 ⁽¹⁷⁾.

Uprednostňovanou možnosťou na poskytnutie dôkazov o funkčnej spôsobilosti metódy počas rutinnej analýzy je analýza certifikovaných referenčných materiálov (CRM). Keďže CRM, ktoré obsahujú príslušné analyty na požadovaných úrovniach koncentrácie, sú zriedka dostupné, ako alternatíva sa môžu použiť aj referenčné materiály poskytnuté a charakterizované referenčnými laboratóriami EÚ alebo laboratóriami, ktoré sú držiteľmi akreditácie ISO/IEC 17043:2010 ⁽¹⁸⁾. Ako ďalšia alternatíva sa môžu použiť vnútrolaboratórne referenčné materiály, ktoré sa pravidelne kontrolujú.

Priebežné overovanie funkčnej spôsobilosti metódy počas rutinnej analýzy sa musí vykonávať v rámci skríningového aj konfirmačného kroku.

⁽¹⁶⁾ Množstvo pridaného analytického štandardu môže byť napríklad dvojnásobkom až päťnásobkom odhadovaného množstva analytu vo vzorke. Tento postup je určený na stanovenie obsahu analytu vo vzorke, pričom sa zohľadňuje výťažnosť tohto analytického postupu.

⁽¹⁷⁾ ISO/IEC 17025: 2017 Všeobecné požiadavky na kompetentnosť testovacích a kalibračných laboratórií (kapitola 7.7).

⁽¹⁸⁾ ISO/IEC 17043:2010 Posudzovanie zhody – Všeobecné požiadavky na medzilaboratórne skúšky.

1. Pre skrínigový krok:

S každou sériou (šaržou) vykonaných analýz sa súčasne analyzuje súbor týchto vzoriek na kontrolu kvality:

- kontrolná vzorka pre vhodnosť systému daného prístroja, ideálne špecifická pre danú metódu;
- vzorky na kontrolu kvality, ktoré sú fortifikované na koncentráciu blížiacu sa STC a v ideálnom prípade na koncentráciu zodpovedajúcu CC β skrínigingu (v prípade povolených farmakologicky účinných látok, ako aj zakázaných alebo nepovolených látok);
- negatívna kontrolná vzorka (blank vzorka) a ak je to potrebné slepá vzorka reakčných činidiel.

2. Pre konfirmačný krok:

S každou sériou (šaržou) vykonaných analýz sa súčasne analyzuje súbor týchto vzoriek na kontrolu kvality:

- kontrolná vzorka pre vhodnosť systému daného prístroja, ideálne špecifická pre danú metódu;
- vzorky na kontrolu kvality, ktoré sú fortifikované na koncentráciu blížiacu MRL alebo ML v prípade povolených farmakologicky účinných látok alebo blížiacu sa RPA alebo LCL v prípade zakázaných alebo nepovolených látok (nevyhovujúce kontrolné vzorky);
- negatívna kontrolná vzorka (blank vzorka) a ak je to potrebné slepá vzorka reakčných činidiel.

Pre vzorky na kontrolu kvality sa odporúča toto poradie: kontrolná vzorka pre vhodnosť systému prístroja, negatívna kontrolná vzorka (blank vzorka), vzorka(-y), ktorá(-é) sa má (majú) konfirmovať, opätovne negatívna kontrolná vzorka a fortifikovaná vzorka pre kontrolu kvality (pozitívna resp. nevyhovujúca kontrolná vzorka).

V prípade kvantitatívnych metód sa musí pre každú sériu (sekvenciu) úradných vzoriek analyzovať a merať kalibračná krivka pred uvedenými vzorkami alebo po nich.

Ak je to možné, pravdivosť (na základe fortifikovaných vzoriek) všetkých cieľových analytov v nevyhovujúcich kontrolných vzorkách sa vyhodnotí prostredníctvom regulačných diagramov v súlade s kapitolou 7.7 normy ISO/IEC 17025:2017. Ak si to vyžaduje neprímerane vysoký počet stanovení pravdivosti, počet analytov sa môže znížiť na niekoľko reprezentatívnych analytov.

KAPITOLA 4

ROZŠÍRENIE ROZSAHU VALIDÁCIE METÓDY, KTORÁ UŽ BOLA VALIDOVANÁ

Niekedy treba rozšíriť rozsah validácie metódy, ktorá už bola kompletne validovaná. V týchto prípadoch by sa rozšírenie rozsahu validácie malo uskutočniť účinným a analyticky spoľahlivým spôsobom. Možno to dosiahnuť vykonaním validácie na menšom počte vzoriek (napr. na polovičnom počte vzoriek) v porovnaní s úplnou validáciou.

Typ a počet modifikácií, ktoré sa majú validovať v rámci jedného redukovaného validačného plánu, sa však vždy zakladá na odborných znalostiach a predchádzajúcich skúsenostiach, napr. zmena techniky detekcie by si v každom prípade vyžadovala úplnú validáciu.

Vo všeobecnosti platí, že na zabezpečenie pretrvávajúcej validity metódy treba neustále sledovať jej funkčnú spôsobilosť a porovnávať ju s validačnými parametrami získanými na začiatku. V ideálnom prípade je táto priebežná kontrola funkčnej spôsobilosti metódy navrhnutá tak, aby bolo možné v priebehu času zozbierať chýbajúce údaje na úplnú validáciu (napr. pomocou niekoľkých dátových bodov zo vzoriek na kontrolu kvality v každej analytickej sérii).

4.1. Rozšírenie metód, pokiaľ ide o rozsah koncentrácií

V dôsledku zmien MRL, ML a RPA môže byť potrebné upraviť rozsah koncentrácie, pre ktorý je metóda validovaná. V takom prípade je prijateľné použiť redukovaný validačný plán.

Musia sa pripraviť kalibračné krivky pre modifikovaný rozsah podľa validovaného postupu. Musia sa analyzovať rôzne dávky fortifikované na rôzne koncentračné hladiny (porovnaj 2.2.1, 2.2.2). Pravdivosť, opakovateľnosť a vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť/medziľahlá presnosť musia byť v prijateľnom rozsahu v porovnaní s hodnotami pôvodne validovanej metódy. V prípade potreby by sa mal vykonať nový výpočet CC β (skrínigové metódy) a CC α (konfirmačné metódy).

4.2. Rozšírenie metód, pokiaľ ide o ďalšie látky

Rozšírenie metódy na ďalšie zlúčeniny je vo všeobecnosti možné len v prípade analytov, ktoré majú podobnú štruktúru a charakteristické vlastnosti ako tie, ktoré sú už zahrnuté v analytickej metóde. V takom prípade je prijateľné použiť redukovaný validačný plán. Podobne nie je dovoľené žiadne odchylenie sa od popisu metódy.

Musia sa pripraviť kalibračné krivky pre pridané látky podľa validovaného postupu. Musia sa analyzovať rôzne šarže matricových materiálov fortifikovaných na rôzne koncentračné hladiny (porovnaj 2.2.1, 2.2.2). Pravdivosť, opakovateľnosť a vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť/medziľahlá presnosť musia byť v rozsahu porovnateľnom s hodnotami ďalších analytov pôvodne validovanej metódy a musia byť v súlade s požiadavkami uvedenými v bode 1.2.2. V prípade nových analytov sa musí vykonať výpočet $CC\beta$ (skriningové metódy) a $CC\alpha$ (konfirmačné metódy).

4.3. Rozšírenie metód, pokiaľ ide o matrice/druhy zvierat

O zahrnutí nových matric alebo druhov zvierat do už validovanej analytickej metódy sa vždy rozhoduje v závislosti od konkrétneho prípadu na základe doterajších poznatkov a skúseností s danou metódou a na základe predbežných experimentov odhadujúcich potenciálne matricové efekty a interferencie. Vo všeobecnosti to bude možné len pre matrice, ktoré vykazujú podobné vlastnosti, a pre nekritické analyty (z hľadiska stability a detegovateľnosti).

Musia sa pripraviť kalibračné krivky podľa validovaného postupu (zo štandardných roztokov alebo s fortifikovanou maticou). Musia sa analyzovať rôzne šarže matricového materiálu fortifikovaného na rôzne koncentračné hladiny (porovnaj 2.2.1, 2.2.2). Pravdivosť, opakovateľnosť a vnútrolaboratórna reprodukovateľnosť/medziľahlá presnosť by mali byť v prijateľnom rozsahu v porovnaní s hodnotami pôvodne validovanej metódy a v súlade s požiadavkami uvedenými v bode 1.2.2. V závislosti od validačného prístupu môže byť nevyhnutný nový výpočet $CC\beta$ (skriningové metódy) alebo $CC\alpha$ (konfirmačné metódy).

Ak výsledky nie sú v prijateľnom rozsahu v porovnaní s hodnotami pôvodnej matrice, bude nevyhnutná dodatočná úplná validácia, aby sa určili pracovné parametre špecifické pre maticu/druh zvierat.

V prípadoch, keď sa MRL pre konkrétnu látku u určitých matric líšia, bude pravdepodobne ťažké prispôsobiť rozsah metódy dodatočnej matici/druhu zvierat a koncentrácii, keďže v tomto prípade sa musia brať do úvahy dve modifikácie. V takýchto prípadoch sa odporúča úplná validácia.

PRÍLOHA II

POSTUPY ODBERU VZORIEK A ÚRADNÉ OŠETRENIE VZORIEK

1. Množstvo vzorky

Minimálne množstvá vzoriek sa určia v národnom programe kontroly rezíduí. Minimálne množstvá vzoriek musia byť dostatočné na to, aby umožnili schváleným laboratóriám vykonať analytické postupy potrebné na kompletne vykonanie skriningových a konfirmačných analýz. Konkrétne v prípade hydiny, živočíchov akvakultúry, králikov, zveri z farmových chovov, plazov a hmyzu vzorka pozostáva z jedného alebo viacerých zvierat v závislosti od požiadaviek analytických metód. V prípade vajec je veľkosť vzorky minimálne 12 vajec alebo viac, podľa použitých analytických metód. V prípade, že treba analyzovať viaceré kategórie látok v jednej vzorke pomocou rôznych analytických metód, veľkosť vzorky sa adekvátne navýši.

2. Rozdelenie na podvzorky

Pokiaľ je to technicky možné alebo to vyžaduje národná legislatíva, každá vzorka sa rozdelí najmenej na dve rovnocenné podvzorky, pričom každá umožní úplný analytický postup. Rozdelenie na podvzorky sa môže uskutočniť v mieste odberu vzoriek alebo v laboratóriu.

3. Vysledovateľnosť

Každá vzorka sa odoberie takým spôsobom, aby bolo vždy možné späťne ju vysledovať k farme pôvodu a ku skupine zvierat alebo prípadne k jednotlivému zvieraťu. Pokiaľ ide o mlieko, podľa voľby členského štátu sa vzorky môžu odberať na niektorom z týchto miest:

1. na farme zo zbernej cisterny;
2. na úrovni mliekarenskeho podniku pred vyprázdnením z prepravnej cisterny.

4. Vzorkovnice

Vzorky sa odberajú do vhodných vzorkovnic, aby sa zachovala integrita a vysledovateľnosť vzorky. Musí sa najmä zabrániť zámene vzorkovnic, krížovej kontaminácii a znehodnoteniu vzoriek. Vzorkovnice sa úradne zapečatia.

5. Správa o odbere vzoriek

Po každom odbere vzoriek sa musí vypracovať správa.

V správe o odbere vzoriek musí inšpektor zhromaždiť prinajmenšom tieto údaje:

1. adresu príslušných orgánov;
2. meno inšpektora alebo identifikačný kód;
3. úradný číselný kód vzorky;
4. dátum odberu vzorky;
5. meno a adresu vlastníka alebo osoby zodpovednej za zvieratá alebo živočíšne produkty;
6. názov a adresu farmy pôvodu zvierat (ak sa vzorky odberajú na farme);
7. registračné číslo podniku/bitúniku;
8. identifikácia zvieraťa alebo produktu;
9. druh zvieraťa;
10. maticu vzorky;
11. ak je to relevantné, medikáciu liekmi v posledných štyroch týždňoch pred odberom vzoriek (ak sa odber robí na farme);
12. látku alebo skupiny látok na vyšetrenie;
13. osobitné poznámky.

V závislosti od postupu odberu vzoriek sa musia poskytnúť papierové alebo elektronické kópie správy. Správa o odbere vzoriek a jej kópia sa vyplnia tak, aby sa zabezpečila ich pravosť a právna platnosť, čo si môže vyžadovať, aby tieto dokumenty boli podpísané inšpektorom. V prípade odberu vzoriek na farme môže byť poľnohospodár alebo jeho zástupca vyzvaný, aby podpísal originál správy o odbere vzoriek.

Originál správy o odbere vzoriek zostáva príslušnému orgánu, ktorý musí zaručiť, aby k originálu správy nemohli mať prístup neoprávnené osoby.

Ak je to potrebné, farmár alebo majiteľ podniku môže byť informovaný o uskutočnenom odbere vzoriek.

6. Správa o odbere vzoriek pre laboratórium

Správa o odbere vzoriek pre laboratórium zriadené príslušnými orgánmi musí byť v súlade s požiadavkami stanovenými v kapitole 7 normy ISO/IEC 17025:2017 ⁽¹⁾ a musí obsahovať aspoň tieto informácie:

1. adresu príslušných orgánov alebo určených subjektov;
2. meno inšpektora alebo identifikačný kód;
3. úradný číselný kód vzorky;
4. dátum odberu vzorky;
5. druh zvieratá;
6. maticu vzorky;
7. látky alebo skupiny látok na vyšetrenie;
8. osobitné poznámky.

Správa o odbere vzoriek pre laboratórium sa priloží k vzorke pri jej odosielaní do laboratória.

7. Preprava a uchovávanie

V programoch kontroly rezíduí sa musia špecifikovať vhodné podmienky na uchovávanie a prepravu pre každú kombináciu analytu/matrice, aby bola zabezpečená stabilita analytu a integrita vzorky. Čas prepravy musí byť čo najkratší a teplota počas prepravy musí byť primeraná na zabezpečenie stability analytu.

Osobitná pozornosť sa venuje prepravným boxom, teplote a času potrebnému na prepravu do príslušného laboratória.

V prípade akéhokoľvek nedodržania požiadaviek kontrolného programu laboratórium neodkladne informuje príslušný orgán.

⁽¹⁾ ISO/IEC 17025: 2017 Všeobecné požiadavky na kompetentnosť testovacích a kalibračných laboratórií (kapitola 7.7).