

KOMMISSIONENS GENOMFÖRANDEFÖRORDNING (EU) 2021/808

av den 22 mars 2021

om prestanda och utförande för analysmetoder avseende resthalter av farmakologiskt aktiva substanser som används till livsmedelsproducerande djur, om tolkning av resultat och om de metoder som ska användas för provtagning samt om upphävande av besluten 2002/657/EG och 98/179/EG

(Text av betydelse för EES)

EUROPEISKA KOMMISSIONEN HAR ANTAGIT DENNA FÖRORDNING

med beaktande av fördraget om Europeiska unionens funktionssätt,

med beaktande av Europaparlamentets och rådets förordning (EU) 2017/625 av den 15 mars 2017 om offentlig kontroll och annan offentlig verksamhet för att säkerställa tillämpningen av livsmedels- och foderlagstiftningen och av bestämmelser om djurs hälsa och djurskydd, växtskydd och växtskyddsmedel samt om ändring av Europaparlamentets och rådets förordningar (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 och (EU) 2016/2031, rådets förordningar (EG) nr 1/2005 och (EG) nr 1099/2009 och rådets direktiv 98/58/EG, 1999/74/EG, 2007/43/EG, 2008/119/EG och 2008/120/EG och om upphävande av Europaparlamentets och rådets förordningar (EG) nr 854/2004 och (EG) nr 882/2004, rådets direktiv 89/608/EEG, 89/662/EEG, 90/425/EEG, 91/496/EEG, 96/23/EG, 96/93/EG och 97/78/EG samt rådets beslut 92/438/EEG (förordningen om offentlig kontroll) ⁽¹⁾, särskilt artikel 34.6, och

av följande skäl:

- (1) Förordning (EU) 2017/625 innehåller bestämmelser om hur medlemsstaternas behöriga myndigheter ska utföra offentlig kontroll och annan offentlig verksamhet för att verifiera att unionslagstiftningen efterlevs bl.a. på området för livsmedelssäkerhet i alla produktions-, bearbetnings- och distributionsled. Den innehåller särskilda bestämmelser om offentlig kontroll av substanser vars användning kan leda till resthalter i livsmedel och foder, och allmänna krav för de metoder som ska användas för provtagning, laboratorieanalys och tester vid offentlig kontroll och annan offentlig verksamhet.
- (2) Kommissionens beslut 2002/657/EG ⁽²⁾ innehåller krav för analysmetoder och tolkning av analysresultat avseende vissa substanser och resthalter av dessa i levande djur och i produkter framställda därav, och kommissionens beslut 98/179/EG ⁽³⁾ innehåller tillämpningsföreskrifter avseende officiell provtagning för kontroll av vissa substanser och resthalter av dessa i levande djur och animaliska produkter. Bägge besluten antogs på grundval av rådets direktiv 96/23/EG ⁽⁴⁾, som upphävdes genom förordning (EU) 2017/625. Mot bakgrund av nya vetenskapliga rön bör dessa regler uppdateras och införas i regelverket för offentlig kontroll enligt förordning (EU) 2017/625.
- (3) I enlighet med artikel 1 andra stycket i beslut 2002/657/EG gäller det beslutet inte för substanser för vilka mera specifika regler har fastställts i annan unionslagstiftning. De substanserna är mykotoxiner i livsmedel, dioxiner och dioxinlika PCB i livsmedel, och bly, kadmium, kvicksilver och bens(a)pyren i livsmedel. Mykotoxiner i livsmedel måste uppfylla kraven i kommissionens förordning (EG) nr 401/2006 ⁽⁵⁾ om provtagnings- och analysmetoder för offentlig kontroll av halten av mykotoxiner i livsmedel. Kommissionens förordning (EU) 2017/644 ⁽⁶⁾ om provtagnings- och analysmetoder för kontroll av halter av dioxiner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB i vissa

⁽¹⁾ EUT L 95, 7.4.2017, s. 1.

⁽²⁾ Kommissionens beslut 2002/657/EG av den 14 augusti 2002 om genomförande av rådets direktiv 96/23/EG avseende analysmetoder och tolkning av resultat (EGT L 221, 17.8.2002, s. 8).

⁽³⁾ Kommissionens beslut 98/179/EG av den 23 februari 1998 om fastställande av tillämpningsföreskrifter avseende officiell provtagning för kontroll av vissa ämnen och resthalter av dessa i levande djur och animaliska produkter (EGT L 65, 5.3.1998, s. 31).

⁽⁴⁾ Rådets direktiv 96/23/EG av den 29 april 1996 om införande av kontrollåtgärder för vissa ämnen och restsubstanser av dessa i levande djur och i produkter framställda därav och om upphävande av direktiv 85/358/EEG och 86/469/EEG samt beslut 89/187/EEG och 91/664/EEG (EGT L 125, 23.5.1996, s. 10).

⁽⁵⁾ Kommissionens förordning (EG) nr 401/2006 av den 23 februari 2006 om provtagnings- och analysmetoder för offentlig kontroll av halten av mykotoxiner i livsmedel (EUT L 70, 9.3.2006, s. 12).

⁽⁶⁾ Kommissionens förordning (EU) 2017/644 av den 5 april 2017 om provtagnings- och analysmetoder för kontroll av halter av dioxiner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB i vissa livsmedel och om upphävande av förordning (EU) nr 589/2014 (EUT L 92, 6.4.2017, s. 9).

livsmedel är tillämplig när det gäller dioxiner och dioxinlika PCB. Bestämmelser om provtagning och analys för offentlig kontroll av bly, kadmium, kvicksilver och bens(a)pyren i livsmedel fastställs i kommissionens förordning (EG) nr 333/2007 ⁽⁷⁾.

- (4) För att det ska skapas klarhet och rättslig säkerhet bör de bestämmelser som är tillämpliga på provtagning och analys av farmakologiskt aktiva substanser samlas i en enda rättsakt, såsom gjorts när det gäller mykotoxiner, dioxiner, dioxinlika PCB, bly, kadmium, kvicksilver och bens(a)pyren i livsmedel.
- (5) Besluten 98/179/EG och 2002/657/EG bör därför upphöra att gälla och ersättas med den här förordningen.
- (6) I enlighet med Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1831/2003 ⁽⁸⁾ kan koccidiostatika och histomonostatika användas som fodertillsatser, och därför är kommissionens förordning (EG) nr 152/2009 ⁽⁹⁾ om provtagnings- och analysmetoder för offentlig kontroll av foder tillämplig på analyser av halten av dem i foder. Den här förordningen bör dock tillämpas när foder analyseras som ett led i uppföljningen vid undersökningar av källan till de icke-överensstämmande (positiva) proverna vid misstänkt eller konstaterad bristande efterlevnad av de unionsbestämmelser som är tillämpliga på användningen av eller på resthalter av farmakologiskt aktiva substanser som är godkända i veterinärmedicinska läkemedel eller som fodertillsatser, eller av de unionsbestämmelser som är tillämpliga på användningen av eller på resthalter av förbjudna eller otillåtna farmakologiskt aktiva substanser.
- (7) För att säkerställa kontinuitet i utförandet av offentlig kontroll och annan offentlig verksamhet avseende resthalter av farmakologiskt aktiva substanser och för att inte alla metoder genast ska behöva revalideras, bör metoder som har validerats före den dag då denna förordning träder i kraft få fortsätta att användas under begränsad tid, med förbehåll för kraven i punkterna 2 och 3 i bilaga I till beslut 2002/657/EG. Medlemsstaterna bör därför få tillräckligt med tid för att tillämpa kraven i denna förordning på alla analysmetoder.
- (8) De åtgärder som föreskrivs i denna förordning är förenliga med yttrandet från ständiga kommittén för växter, djur, livsmedel och foder.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Innehåll och tillämpningsområde

I denna förordning fastställs bestämmelser om de metoder som används för provtagning och laboratorieanalys avseende resthalter av farmakologiskt aktiva substanser i levande livsmedelsproducerande djur, deras kroppsdelar och kroppsvätskor, ekskrementer, vävnader, produkter av animaliskt ursprung, animaliska biprodukter, foder och vatten. I denna förordning fastställs också bestämmelser om tolkningen av resultaten från dessa laboratorieanalyser.

Denna förordning är tillämplig på offentlig kontroll för att verifiera att kraven avseende förekomsten av resthalter av farmakologiskt aktiva substanser efterlevs.

⁽⁷⁾ Kommissionens förordning (EG) nr 333/2007 av den 28 mars 2007 om provtagnings- och analysmetoder för kontroll av halterna av spårämnen och främmande ämnen från bearbetningen i livsmedel (EUT L 88, 29.3.2007, s. 29).

⁽⁸⁾ Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1831/2003 av den 22 september 2003 om fodertillsatser (EUT L 268, 18.10.2003, s. 29).

⁽⁹⁾ Kommissionens förordning (EG) nr 152/2009 av den 27 januari 2009 om provtagnings- och analysmetoder för offentlig kontroll av foder (EUT L 54, 26.2.2009, s. 1).

Artikel 2

Definitioner

I denna förordning ska definitionerna i artikel 2 i kommissionens delegerade förordning (EU) 2019/2090⁽¹⁰⁾, i kommissionens förordning (EU) 2019/1871⁽¹¹⁾, i artikel 2 i Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 470/2009⁽¹²⁾ och i rådets förordning (EEG) nr 315/93⁽¹³⁾ gälla.

Dessutom gäller följande definitioner:

- (1) *absolut utbyte*: utbytet i sista steget i en analys av en analyt dividerat med mängden analyt i det ursprungliga provet, uttryckt i procent.
- (2) *noggrannhet*: grad av överensstämmelse mellan testresultatet och det accepterade sanna referensvärdet, bestämt genom uppskattning av riktigheten och precisionen⁽¹⁴⁾.
- (3) *alfa-fel (α -fel)*: sannolikheten för att det analyserade provet är överensstämmande (negativt), trots att ett analysresultat som uppfyller kraven för ett icke-överensstämmande (positivt) resultat har erhållits (sannolikheten för ett falskt positivt resultat).
- (4) *analyt*: den komponent i ett system som ska analyseras.
- (5) *godkänd substans*: farmakologiskt aktiv substans som är godkänd för användning till livsmedelsproducerande djur i enlighet med Europaparlamentets och rådets direktiv 2001/82/EG⁽¹⁵⁾.
- (6) *beta-fel (β -fel)*: sannolikheten för att det analyserade provet är icke-överensstämmande (positivt) trots att ett överensstämmande (negativt) analysresultat har erhållits (sannolikheten för ett falskt negativt resultat).
- (7) *systematiskt fel*: skillnaden mellan ett uppskattat värde för testresultatet och ett accepterat referensvärde.
- (8) *kalibreringsstandard*: spårbart referensvärde för mätningar, som motsvarar mängden av den aktuella substansen på ett sätt som knyter värdet till en referensbas.
- (9) *certifierat referensmaterial (CRM)*: referensmaterial som har dokumentation utfärdad av ett organ med delegerade uppgifter och som anger en eller flera specifika egenskapers värde och vilken osäkerhet och spårbarhet som är förknippad med värdena, med användning av giltiga förfaranden⁽¹⁶⁾.
- (10) *co-kromatografi*: teknik där en okänd substans injiceras i ett kromatografiskt system tillsammans med en eller flera kända substanser, varvid de okända och kända substansernas relativa beteende i förhållande till varandra förväntas bidra till att identifiera den okända substansen.
- (11) *kollaborativ avprövning*: analys av samma prov(er) med samma metod för att bestämma metodens prestandaegenskaper i olika laboratorier, där man med hjälp av avprövningen kan beräkna det slumpvisa mätfelet och laboratoriernas systematiska fel för den metod som används.

⁽¹⁰⁾ Kommissionens delegerade förordning (EU) 2019/2090 av den 19 juni 2019 om komplettering av Europaparlamentets och rådets förordning (EU) 2017/625 vad gäller misstänkt eller konstaterad bristande efterlevnad av de unionsbestämmelser som är tillämpliga på användningen av eller på resthalter av farmakologiskt aktiva substanser som är godkända i veterinärmedicinska läkemedel eller som fodertillsatser eller av de unionsbestämmelser som är tillämpliga på användningen av eller på resthalter av förbjudna eller otillåtna farmakologiskt aktiva substanser (EUT L 317, 9.12.2019, s. 28).

⁽¹¹⁾ Kommissionens förordning (EU) 2019/1871 av den 7 november 2019 om referensvärden för åtgärder med avseende på otillåtna farmakologiskt aktiva substanser i livsmedel av animaliskt ursprung och om upphävande av beslut 2005/34/EG (EUT L 289, 8.11.2019, s. 41).

⁽¹²⁾ Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 470/2009 av den 6 maj 2009 om gemenskapsförfaranden för att fastställa gränsvärden för farmakologiskt verksamma ämnen i animaliska livsmedel samt om upphävande av rådets förordning (EEG) nr 2377/90 och ändring av Europaparlamentets och rådets direktiv 2001/82/EG och Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 726/2004 (EUT L 152, 16.6.2009, s. 11).

⁽¹³⁾ Rådets förordning (EEG) nr 315/93 av den 8 februari 1993 om fastställande av gemenskapsförfaranden för främmande ämnen i livsmedel (EGT L 37, 13.2.1993, s. 1).

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

⁽¹⁵⁾ Europaparlamentets och rådets direktiv 2001/82/EG av den 6 november 2001 om upprättande av gemenskapsregler för veterinärmedicinska läkemedel (EGT L 311, 28.11.2001, s. 1).

⁽¹⁶⁾ JCGM 200:2008, *International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM)*, tredje utgåvan 2008: <https://www.iso.org/sites/JCGM/VIM-JCGM200.htm> (kapitel 5 *Measurement standards (Etalons)*).

- (12) *konfirmeringsmetod*: metod som ger fullständig eller kompletterande information som gör det möjligt att entydigt identifiera en substans och, vid behov, kvantifiera den i något av följande fall:
- Vid MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten för godkända substanser.
 - Vid referensvärdet för åtgärder (RPA) för förbjudna eller otillåtna substanser när det har fastställts ett referensvärde för åtgärder.
 - Vid en så låg koncentration som rimligen kan uppnås för förbjudna eller otillåtna substanser när det inte har fastställts något referensvärde för åtgärder.
- (13) *täckningsfaktor (k)*: numerisk faktor som uttrycker önskad konfidensnivå och som är förknippad med den utvidgade mätosäkerheten.
- (14) *beslutsgräns vid konfirmation (CC α)*: den nivå vid och över vilken det med en felsannolikhet av α kan fastställas att ett prov är icke-överensstämmande (positivt), där värdet $1 - \alpha$ är den statistiska säkerheten uttryckt i procent för att det tillåtna gränsvärdet har överskridits.
- (15) *detektionsförmåga vid screening (CC β)*: den minsta mängd av en analyt som kan påvisas eller kvantifieras i ett prov med en felsannolikhet på β :
- För förbjudna eller otillåtna farmakologiskt aktiva substanser avser CC β den lägsta koncentration vid vilken en metod med en statistisk säkerhet på $1 - \beta$ kan påvisa eller kvantifiera prover innehållande resthalter av förbjudna eller otillåtna substanser.
 - För godkända substanser avser CC β den koncentration vid vilken metoden med en statistisk säkerhet på $1 - \beta$ kan påvisa koncentrationer under det tillåtna gränsvärdet.
- (16) *spetsat provmaterial*: prov som har anrikats med en känd mängd av den analyt som ska påvisas eller kvantifieras.
- (17) *interlaborativ avprövning*: organisation, utförande och utvärdering av analyser på samma prov(er) som genomförs av två eller flera laboratorier under förutbestämda betingelser för att utvärdera metodens prestanda, antingen som en kollaborativ avprövning eller en kompetensprövning.
- (18) *intern standard (IS)*: substans som inte finns i provet och vars fysikalisk-kemiska egenskaper i så hög grad som möjligt liknar egenskaperna hos den analyt som ska identifieras eller kvantifieras.
- (19) *nivå av intresse*: koncentrationen av en substans eller analyt i ett prov som är av betydelse för att avgöra dess överensstämmelse med lagstiftningen när det gäller
- MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten för godkända substanser i enlighet med kommissionens förordning (EG) nr 124/2009 ⁽¹⁷⁾ och kommissionens förordning (EU) nr 37/2010 ⁽¹⁸⁾,
 - referensvärden för åtgärder för förbjudna eller otillåtna substanser när det har fastställts ett referensvärde för åtgärder i enlighet med förordning (EU) 2019/1871,
 - en så låg koncentration som rimligen kan uppnås vid analys för förbjudna eller otillåtna substanser när det inte har fastställts något referensvärde för åtgärder.
- (20) *lägsta kalibrerade nivå (LCL)*: den lägsta koncentration för vilken mätsystemet har kalibrerats.
- (21) *matris*: materialet från vilket ett prov tas.
- (22) *matriseffekt*: skillnaden i respons vid analys mellan en standard som lösts upp i lösningsmedel och en matrismatchad standard, antingen utan korrigering genom användning av en intern standard eller med korrigering genom användning av en intern standard.

⁽¹⁷⁾ Kommissionens förordning (EG) nr 124/2009 av den 10 februari 2009 om fastställande av högsta tillåtna halter av koccidiostatika eller histomonostatika i livsmedel till följd av oundviklig korskontamination av foder som de inte är avsedda för (EUT L 40, 11.2.2009, s. 7).

⁽¹⁸⁾ Kommissionens förordning (EU) nr 37/2010 av den 22 december 2009 om farmakologiskt aktiva substanser och deras klassificering med avseende på MRL-värden i animaliska livsmedel (EUT L 15, 20.1.2010, s. 1).

- (23) *matrismatchad standard*: blankmatris (dvs. utan analyt) till vilken analyten tillsätts i ett koncentrationsintervall efter provupparbetning.
- (24) *matrisspetsad standard*: blankmatris (dvs. utan analyt) till vilken analyten tillsätts i ett koncentrationsintervall före vätskeextraktion och provupparbetning.
- (25) *mätstorhet*: den specifika storhet som är föremål för mätning.
- (26) *mätosäkerhet*: icke-negativ parameter som är förknippad med mätresultatet och som karakteriserar spridningen av de värden som rimligen kan tilldelas en mätstorhet baserat på den information som används.
- (27) *prestandakriterier*: kraven för en prestandaegenskap enligt vilka det går att bedöma om en analysmetod är lämplig för den avsedda användningen och ger tillförlitliga resultat.
- (28) *precision*: graden av överensstämmelse mellan oberoende testresultat som erhållits under fastställda betingelser; den uttrycks som standardavvikelse eller variationskoefficient för testresultaten.
- (29) *kvantitativ metod*: analysmetod som kan påvisa eller identifiera en substans eller en grupp substanser baserat på deras kemiska, biologiska eller fysikaliska egenskaper.
- (30) *kvantitativ metod*: analysmetod som kan bestämma mängden av eller massfraktionen för en substans, så att den kan uttryckas som ett numeriskt värde med lämplig enhet.
- (31) *utbyte*: den utbyteskorrigerade mängden av en analyt dividerat med den spetsade mängden analyt i matrisprovet, uttryckt i procent.
- (32) *utbyteskorrigerings*: användningen av interna standarder, användningen av en kalibreringskurva i matris eller användningen av en korrigeringsfaktor för utbyte eller en kombination av dessa tillvägagångssätt.
- (33) *referensmaterial*: material som är tillräckligt homogent och stabilt med avseende på en eller flera specificerade egenskaper och som har konstaterats vara lämpligt för den avsedda användningen vid en mätning eller undersökning av nominella egenskaper ⁽¹⁹⁾.
- (34) *relativ matriseffekt*: skillnaden i respons vid analys mellan en standard som lösts upp i lösningsmedel och en matrismatchad standard med korrigerings genom användning av en intern standard.
- (35) *repetierbarhet*: precision under betingelser där oberoende testresultat erhålls med samma analysmetod på identiska provmaterial i samma laboratorium av samma laborant som använder sig av samma utrustning under ett kort tidsintervall.
- (36) *reproducerbarhet*: precision under betingelser där testresultat erhålls med samma analysmetod på identiska provmaterial i olika laboratorier med olika laboranter som använder olika utrustning ⁽²⁰⁾.
- (37) *robusthet*: en analysmetods känslighet för ändringar av de försöksbetingelser vid vilka metoden kan tillämpas som den beskrivs eller med specificerade mindre ändringar.
- (38) *screeningmetod*: metod som används för screening av en substans eller substansklass på nivån av intresse.
- (39) *målkoncentration för screening (STC)*: den koncentration som är lägre än eller lika med $CC\beta$ vid vilken en screeningmätning kategoriserar provet som potentiellt icke-överensstämmande (positivt screeningresultat) och föranleder en konfirmeringsanalys.
- (40) *selektivitet*: en metods förmåga att skilja mellan den analyt som ska mätas och andra substanser.
- (41) *singellaboratoriestudie* eller *intern validering*: analytisk studie som involverar ett enda laboratorium som använder en enda metod för att analysera samma eller olika testmaterial under olika förhållanden och under ett motiverat långt tidsintervall.

⁽¹⁹⁾ Codex Alimentarius-kommissionen, FAO/WHO, *Guidelines on analytical terminology* (CAC/GL 72–2009).

⁽²⁰⁾ ISO 5725–1:1994 *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions* (kapitel 3).

- (42) *standardaddition*: förfarande där en provportion analyseras som den är och där kända mängder av standard tillsätts till de andra provportionerna före analys.
- (43) *standard*: analyt med känt och certifierat innehåll och renhet som används som referens vid en analys.
- (44) *substans*: ämne med konstant sammansättning som karakteriseras av de enheter det består av och av vissa fysikaliska egenskaper.
- (45) *provportion*: den mängd material som tagits från det prov som analysen eller observationen utförs på.
- (46) *riktighet*: graden av överensstämmelse mellan ett genomsnittligt värde som erhållits från ett stort antal testresultat och ett accepterat referensvärde.
- (47) *enheter*: de enheter som beskrivs i ISO 80000 ⁽²¹⁾ och rådets direktiv 80/181/EEG ⁽²²⁾.
- (48) *validering*: påvisande genom undersökning och tillhandahållande av faktiska bevis för att de särskilda kraven för ett specifikt avsett användningsområde uppfylls ⁽²³⁾, genom en singellaboratoriestudie eller en kollaborativ avprövning.
- (49) *reproducerbarhet inom ett laboratorium* eller *intermediär precision/intern reproducerbarhet*: mätprecision vid en uppsättning laboratorieförhållanden i ett specifikt laboratorium.

Artikel 3

Analysmetoder

Medlemsstaterna ska säkerställa att prover som tas i enlighet med artikel 34 i förordning (EU) 2017/625 analyseras med metoder som uppfyller följande krav:

1. De är dokumenterade i testinstruktioner, företrädesvis enligt bilagorna till ISO 78–2:1999 *Chemistry-Layouts for standards – Part 2: Methods of chemical analysis* ⁽²⁴⁾.
2. De uppfyller de prestandakriterier och övriga krav för analysmetoder som anges i kapitel 1 i bilaga I till denna förordning.
3. De har validerats i enlighet med kraven i kapitlen 2 och 4 i bilaga I till denna förordning.
4. De möjliggör efterlevnad av referensvärdena för åtgärder enligt förordning (EU) 2019/1871, identifiering av förekomsten av förbjudna eller otillåtna substanser och efterlevnad av de högsta tillåtna halter (ML) som fastställts på grundval av förordningarna (EEG) nr 315/93 och (EG) nr 124/2009 och de MRL-värden som har fastställts på grundval av förordningarna (EG) nr 1831/2003 och (EG) nr 470/2009.

Artikel 4

Kvalitetskontroll

Medlemsstaterna ska säkerställa kvaliteten på resultaten av de analyser som utförts i enlighet med förordning (EU) 2017/625, särskilt genom att övervaka provning eller kalibreringsresultat i enlighet med ISO/IEC 17025:2017 *Allmänna kompetenskrav för provnings- och kalibreringslaboratorier* och de krav för kvalitetskontroll vid rutinanalys som anges i kapitel 3 i bilaga I till denna förordning.

⁽²¹⁾ ISO 80000–1:2009 *Storheter och enheter – Del 1: Allmänt (inledning)*.

⁽²²⁾ Rådets direktiv 80/181/EEG av den 20 december 1979 om tillnärmning av medlemsstaternas lagstiftning för måttenheter och om upphävande av direktiv 71/354/EEG (EGT L 39, 15.2.1980, s. 40).

⁽²³⁾ ISO/IEC 17025:2017, *Allmänna kompetenskrav för provnings- och kalibreringslaboratorier* (kapitel 3).

⁽²⁴⁾ ISO 78–2:1999 *Chemistry – Layouts for standards – Part 2: Methods of chemical analysis* (bilagorna).

*Artikel 5***Tolkning av resultaten**

1. Analysresultatet ska anses vara icke-överensstämmande (positivt) om det är lika med eller högre än beslutsgränsen vid konfirmering (CC α).
2. För godkända substanser för vilka ett MRL-värde eller en högsta tillåtna halt (ML) fastställts ska beslutsgränsen vid konfirmering (CC α) vara den koncentration vid och över vilken det, med en statistisk säkerhet med det numeriska värdet $1 - \alpha$, går att avgöra att det tillåtna gränsvärdet har överskridits.
3. För otillåtna eller förbjudna substanser eller godkända substanser för vilka det inte har fastställts något MRL-värde eller någon högsta tillåtna halt (ML) i ett bestämt djurslag eller en bestämd produkt ska beslutsgränsen vid konfirmering (CC α) vara den lägsta koncentrationsnivå vid vilken det, med en statistisk säkerhet med det numeriska värdet $1 - \alpha$, går att fastställa förekomsten av en specifik analyt.
4. För otillåtna eller förbjudna farmakologiskt aktiva substanser får α -felet vara högst 1 %. För alla andra substanser får α -felet vara högst 5 %.

*Artikel 6***Provtagningsmetoder**

Medlemsstaterna ska säkerställa att prover tas, hanteras och märks i enlighet med de detaljerade metoder för provtagning som anges i bilaga II till denna förordning.

*Artikel 7***Upphävanden och övergångsbestämmelser**

Besluten 2002/657/EG och 98/179/EG ska upphöra att gälla den dag då denna förordning träder i kraft.

Kraven i punkterna 2 och 3 i bilaga I till beslut 2002/657/EG ska dock fortsätta att tillämpas till och med den 10 juni 2026 på metoder som har validerats före den dag då denna förordning träder i kraft.

*Artikel 8***Ikraftträdande**

Denna förordning träder i kraft den tjugonde dagen efter det att den har offentliggjorts i *Europeiska unionens officiella tidning*.

Denna förordning är till alla delar bindande och direkt tillämplig i alla medlemsstater.

Utfärdad i Bryssel den 22 mars 2021.

På kommissionens vägnar
Ursula VON DER LEYEN
Ordförande

BILAGA I

KAPITEL 1

PRESTANDAKRITERIER OCH ÖVRIGA KRAV FÖR ANALYSMETODER**1.1 Krav för screeningmetoder****1.1.1 Kategorier av lämpliga screeningmetoder**

Kvalitativa, semikvantitativa eller kvantitativa metoder ska användas som lämpliga screeningmetoder.

1.1.2 Krav för biologiska, biokemiska eller fysikalisk-kemiska screeningmetoder

För förbjudna eller otillåtna substanser ska CCB vara så lågt som rimligen är möjligt och i alla händelser lägre än referensvärdet för åtgärder (RPA) för substanser när det har fastställts referensvärden för åtgärder i enlighet med förordning (EU) 2019/1871.

För godkända farmakologiskt aktiva substanser ska CCB vara lägre än MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML).

Endast sådana analysmetoder som bevisats vara validerade på ett dokumenterat, spårbart sätt och som har en andel resultat som felaktigt bedömts överensstämma (falskt negativa resultat) som är lägre än eller lika med 5 % (β -fel) ska användas för screening. Vid ett misstänkt icke-överensstämmande (positivt) resultat ska resultatet bekräftas med en konfirmeringsmetod.

Kvantitativa screeningmetoder som används för både screening och konfirmering ska uppfylla de krav på noggrannhet, intervall och precision som anges i 1.2.2.1 och 1.2.2.2.

1.2 Krav för konfirmeringsmetoder**1.2.1 Allmänna krav för konfirmeringsmetoder**

För förbjudna eller otillåtna substanser ska CCa vara så lågt som rimligen är möjligt. För förbjudna eller otillåtna substanser för vilka ett referensvärde för åtgärder har fastställts i enlighet med förordning (EU) 2019/1871 ska CCa vara lägre än eller lika med referensvärdet för åtgärder.

För godkända substanser ska CCa vara högre än men ligga så nära MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML) som möjligt.

För konfirmering ska man endast använda analysmetoder som bevisats vara validerade på ett dokumenterat och spårbart sätt och som har en frekvens av resultat som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande (falskt positiva resultat) (α -fel) på högst 1 % för förbjudna eller otillåtna substanser eller högst 5 % för godkända substanser.

Konfirmeringsmetoderna ska ge information om analytens strukturella kemiska sammansättning. Konfirmeringsmetoder som endast grundar sig på kromatografisk analys utan användning av masspektrometrisk detektion är således olämpliga att användas som enda konfirmeringsmetod för förbjudna eller otillåtna farmakologiskt aktiva substanser. Om masspektrometri inte är lämpligt för godkända substanser kan andra metoder användas, t.ex. HPLC-DAD och HPLC-FLD eller en kombination av dem.

När det krävs enligt konfirmeringsmetoden ska en lämplig intern standard tillsättas provportionen i början av extraktionsförfarandet. Beroende på vad som finns tillgängligt ska antingen stabila isotopmärkta former av analyten, som är särskilt lämpade för masspektrometrisk detektion, eller analoga föreningar, vars struktur liknar analyten, användas. Om ingen lämplig intern standard kan användas ska identifieringen av analyten helst bekräftas med co-kromatografi⁽¹⁾. I detta fall ska bara en topp erhållas, och toppens ökade höjd (eller area) motsvarar mängden tillsatt analyt. Om detta inte är praktiskt genomförbart ska matrismatchade eller matrisspetsade standarder användas.

⁽¹⁾ Co-kromatografi är ett förfarande där provextraktet delas upp i två delar före kromatografisteget eller kromatografistegen. Den första delen kromatograferas i befintligt skick. Den andra delen blandas med den standard som ska mätas. Därefter kromatograferas även blandningen. Mängden tillsatt standard ska motsvara den förväntade mängden analyt i extraktet. Co-kromatografi används för att förbättra identifieringen av en analyt vid användning av kromatografimetoder, särskilt när ingen lämplig intern standard kan användas.

1.2.2 Allmänna prestandakriterier för konfirmeringsmetoder

1.2.2.1 Riktighet genom utbyte

Vid upprepade analyser av ett certifierat referensmaterial ska avvikelsen från det certifierade värdet för den genomsnittliga massfraktionen, som har bestämts genom experiment och korrigerats för utbytet, överensstämma med intervallen för minsta riktighet i tabell 1.

Tabell 1

Minsta riktighet hos kvantitativa metoder

Massfraktion	Intervall
≤ 1 µg/kg	– 50 % till +20 %
> 1 µg/kg till 10 µg/kg	–30 % till +20 %
≥ 10 µg/kg	–20 % till +20 %

När det inte finns något certifierat referensmaterial tillgängligt får riktigheten hos mätningarna fastställas på andra sätt, t.ex. genom användning av material med tilldelade värden från interlaborativa avprövningar eller genom tillsatser av kända mängder av analyten eller analyterna till en blankmatris.

1.2.2.2 Precision

Variationskoefficienten (CV) för upprepad analys av ett referensmaterial eller spetsat material under reproducerbarhetsbetingelser inom laboratoriet får inte överskrida det värde som beräknats enligt Horwitz ekvation. Ekvationen är

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

där C är massfraktionen uttryckt som tiopotens (t.ex. 1 mg/g = 10⁻³). Vid massfraktioner under 120 µg/kg fås oacceptabelt höga värden då Horwitz ekvation används. Den högsta tillåtna variationskoefficienten får därför inte överstiga värdena i tabell 2.

Tabell 2

Godtagbar variationskoefficient

Massfraktion	CV för reproducerbarhet (%)
> 1 000 µg/kg	16 (anpassat efter Horwitz ekvation)
> 120 µg/kg – 1 000 µg/kg	22 (anpassat efter Horwitz ekvation)
10–120 µg/kg	25 *
< 10 µg/kg	30 *

* * CV (%) är ett riktvärde och bör vara så lågt som rimligen är möjligt.

Vid analyser som utförs under repeterbarhetsbetingelser får variationskoefficienten under repeterbarhetsbetingelser inte överstiga två tredjedelar av värdena i tabell 2.

1.2.3 Krav för kromatografisk separation

Vid vätskekromatografi (LC) eller gaskromatografi (GC) ska den minsta godtagbara retentionstiden för den eller de analyter som undersöks vara två gånger den retentionstid som motsvarar kolonnens hålrumsvolym. Analytens retentionstid i extraktet ska motsvara kalibreringsstandardens, en matrismatchad standard eller en matrisspetsad standard med en tolerans på ± 0,1 minut. Vid snabb kromatografi, där retentionstiden är under två minuter, är en avvikelse på mindre än 5 % av retentionstiden godtagbar. Om en intern standard används ska analytens relativa

retentionstid, dvs. förhållandet mellan analytens och den interna standardens kromatografiska retentionstid, motsvara kalibreringsstandardens, den matrismatchade standardens eller den matrisspetsade standardens med en maximal avvikelse på 0,5 % för gaskromatografi och 1 % för vätskekromatografi i fråga om metoder som valideras efter att denna förordning har trätt i kraft.

1.2.4 Särskilda prestandakriterier för masspektrometri

1.2.4.1 Masspektrometrisk detektion

Masspektrometrisk detektion ska utföras genom användning av några av följande alternativ:

1. Registrering av hela masspektrum (fullscan).
2. Selektiv jonanalys (SIM).
3. Sekventiella masspektrometri-tekniker (MS^n), t.ex. Selected Reaction Monitoring (SRM).
4. En kombination av masspektrometri-tekniker (MS) eller sekventiella masspektrometri-tekniker (MS^n) och lämpliga joniseringsmetoder.

Både lågupplösande masspektrometri (LRMS, med upplösning på en massenhet) och högupplösande masspektrometri (HRMS), inklusive dubbelfokuserande sektorer, Time of Flight (TOF) och Orbitrap-instrument, är lämpliga.

Vid konfirmering av en analyts identitet vid högupplösande masspektrometri (HRMS) ska massavvikelsen för alla diagnostiska joner understiga 5 ppm (eller vid $m/z < 200$ understiga 1 mDa). På grundval av detta bör en ändamålsenligt effektiv upplösning väljas, och upplösningen ska normalt vara större än 10 000 för hela massområdet vid 10 % valley eller 20 000 vid halvvärdesbredd (FWHM).

Om den masspektrometriska bestämningen utförs genom registrering av fullscan-spektrum (både LRMS och HRMS) är endast diagnostiska joner med en relativ intensitet som är högre än 10 % i referensspektrumet för kalibreringsstandardens, den matrismatchade standardens eller den matrisspetsade standardens lämpliga. Diagnostiska joner ska innehålla molekyljonen (om den förekommer med en intensitet på ≥ 10 % av bastoppen) och karakteristiska fragment eller dotterjoner.

Val av moderjon: Om den masspektrometriska bestämningen utförs genom fragmentering efter val av moderjon görs valet av moderjon vid en upplösning som minst motsvarar upplösningen för en massenhet. Den valda moderjonen ska vara molekyljonen, karakteristiska addukter av molekyljonen, karakteristiska dotterjoner eller en av deras isotopjoner. Om valet av moderjon har ett massurvalsfönster på mer än en dalton (t.ex. vid databeroende framtagning) anses tekniken vara en fullscan-konfirmeringsanalys.

Fragment och dotterjoner: De valda fragmenten eller dotterjonerna ska vara specifika fragment för den uppmätta analyten/produkten. Icke-selektiva transitioner (t.ex. tropyliumkatjonen eller förlust av vatten) ska om möjligt utelämnas. Förekomsten av diagnostiska joner ska bestämmas utifrån topparean eller topphöjden i integrerade kromatogram av de valda jonerna. Detta gäller också när fullscan-mätningar används för identifiering. Signalbrusförhållandet (S/N-förhållandet) för alla diagnostiska joner ska vara större än eller lika med 3:1.

Relativa intensiteter: De relativa intensiteterna för de diagnostiska jonerna (jonförhållandet) uttrycks som procent av intensiteten för den vanligast förekommande jonen eller transitionen. Jonförhållandet ska bestämmas genom jämförelse av spektrumet eller genom integrering av signalerna för spåren av den extraherade jonmassan. Jonförhållandet för den analyt som ska bekräftas ska motsvara de matrismatchade standardernas, de matrisspetsade standardernas eller standardlösningarnas vid jämförbara koncentrationer, inom ± 40 % relativ avvikelse.

För alla masspektrometriska analyser ska minst ett jonförhållande bestämmas. De ska helst vara joner som erhållits inom en enda skanning, men jonerna kan också komma från olika skanningar i samma injektion (dvs. fullscan och fragmenteringsskanning).

1.2.4.2 Identifiering

Ett system med identifieringspunkter ska användas för att välja lämpliga framtagningsmetoder och utvärderingskriterier. Vid konfirmering av substansers identitet i en matris för vilken det har fastställts ett MRL-värde (godkänd användning) krävs minst fyra identifieringspunkter. För otillåtna eller förbjudna substanser krävs fem identifieringspunkter. En punkt kan komma från den kromatografiska separationen. I tabell 3 visas antalet identifieringspunkter som kan fås vid var och en av teknikerna. För att uppfylla kraven för identifieringspunkterna som krävs för konfirmering kan identifieringspunkter som kommer från olika tekniker läggas till.

1. Alla masspektrometriska analyser ska kombineras med en separationsteknik som har tillräcklig separationsförmåga och selektivitet för den specifika tillämpningen. Lämpliga separationstekniker är bl.a. vätske- och gaskromatografi, kapillärelektrofores (CE) och superkritisk kromatografi (SFC). För en analyt som uppvisar en isobar- eller isomerförening måste retentionstiden vara godtagbar, dvs. $\pm 0,5$ % vid gaskromatografi (GC) och ± 1 % vid vätskekromatografi (LC) och superkritisk kromatografi (SFC), för att bekräfta dess identitet.
2. Högst tre separata tekniker får kombineras för att uppnå det minsta antalet identifieringspunkter.
3. Olika joniseringsmetoder (t.ex. elektronjonisering och kemisk jonisering) betraktas som olika tekniker.

Tabell 3

Identifieringspunkter per teknik

Teknik	Identifieringspunkt
Separation (GC, LC, SFC, CE)	1
LR-MS-jon	1
Val av moderjon i massområdet $< \pm 0,5$ Da	1 (indirekt)
LR-MS ⁿ -dotterjon	1,5
HR-MS-jon	1,5
HR-MS ⁿ -dotterjon	2,5

Tabell 4

Exempel på antalet identifieringspunkter för specifika tekniker och kombinationer av tekniker (n = ett heltal)

Teknik(er)	Separation	Antal joner	Identifieringspunkter
GC-MS (EI eller CI)	GC	n	1 + n
GC-MS (EI och CI)	GC	2 (EI) + 2 (CI)	1 + 4 = 5
GC-MS (EI eller CI) 2 derivat	GC	2 (derivat A) + 2 (derivat B)	1 + 4 = 5
LC-MS	LC	n (MS)	1 + n
GC- eller LC-MS/MS	GC eller LC	1 moderjon + 2 dotterjoner	1 + 1 + 2 × 1,5 = 5
GC- eller LC-MS/MS	GC eller LC	2 moderjoner + 2 dotterjoner	1 + 2 + 2 × 1,5 = 6
GC- eller LC-MS ³	GC eller LC	1 moderjon + 1 MS ² -dotterjon + 1 MS ³ -dotterjon	1 + 1 + 1,5 × 1,5 = 5
GC- eller LC-HRMS	GC eller LC	n	1 + n × 1,5

GC- eller LC-HRMS/MS	GC eller LC	1 moderjon (massområde $< \pm 0,5$ Da) + 1 dotterjon	$1 + 1 + 2,5 = 4,5$
GC- eller LC-HRMS och HRMS/MS	GC eller LC	1 fullscan-jon + 1 HRMS-dotterjon ^a	$1 + 1,5 + 2,5 = 5$
GC- och LC-MS	GC och LC	2 joner (GCMS) + 1 jon (LCMS)	$1 + 1 + 2 + 1 + 1 = 6$

^a Ingen ytterligare identifieringspunkt erhålls för valet av moderjon, om denna moderjon är samma jon (eller en addukt eller isotop) som den HRMS-jon som övervakas i fullscan.

1.2.5 Särskilda prestandakriterier för bestämning av en analyt genom vätskekromatografi med andra detektionstekniker än masspektrometri

Endast för godkända substanser kan följande tekniker användas som alternativ till masspektrometribaserade metoder, förutsatt att de tillämpliga kriterierna för dessa tekniker är uppfyllda:

1. Fullscan-spektrofotometri med diod array-detektion (DAD) vid användning tillsammans med HPLC.
2. Spektrofotometrisk mätning med fluorescensdetektion (FLD) vid användning tillsammans med HPLC.

Vätskekromatografi med UV/VIS-detektion (en våglängd) är olämplig att användas som enda konfirmeringsmetod.

1.2.5.1 Prestandakriterier för fullscan-spektrofotometri med diod array-detektion

Prestandakriterierna för kromatografisk separation i kapitel 1.2.3 ska vara uppfyllda.

Absorptionsmaxima i analytens UV-spektrum ska vara vid samma våglängder som för kalibreringsstandardens i matris inom en maximal marginal som bestäms av detektionssystemets upplösning. Vid diod array-detektion ligger den maximala marginalen normalt sett inom ± 2 nm. Analytens spektrum över 220 nm får inte skilja sig utseendemässigt från kalibreringsstandardens spektrum vad gäller de delar av dessa två spektrum där den relativa absorbansen är minst 10 %. Detta kriterium är uppfyllt om samma maxima föreligger och skillnaden mellan de båda spektrummen inte vid någon punkt överstiger 10 % av kalibreringsstandardens absorbans. Om datorstödd bibliotekssökning och matchning i databaser används ska spektraldata för de officiella proverna jämföras med data för kalibreringslösningen och överstiga en kritisk matchningsfaktor. Denna faktor ska under valideringen bestämmas för varje enskild analyt på grundval av spektrum som uppfyller de kriterier som beskrivs ovan. Variation i spektrummen som orsakas av provmatrisen och detektorns prestanda ska kontrolleras.

1.2.5.2 Prestandakriterier för spektrofotometrisk mätning med fluorescensdetektion

Prestandakriterierna för kromatografisk separation i kapitel 1.2.3 ska vara uppfyllda.

Valet av excitations- och emissionsvåglängderna i kombination med de kromatografiska betingelserna ska göras så att effekterna av interfererande komponenter i blankprovsextraktet minimeras. Det bör vara minst 50 nanometer mellan excitations- och emissionsvåglängderna.

I ett kromatogram ska den närmaste toppens maximihöjd vara separerad från målanalytens topp med minst en hel toppbredd vid 10 % av maximihöjden för målanalytens topp.

Detta gäller för molekyler med naturlig fluorescens och för molekyler som fluorescerar efter att de omvandlats eller bildat derivat.

KAPITEL 2

VALIDERING

2.1 Prestandaegenskaper som ska bestämmas för analysmetoder

Genom validering av metoden ska det påvisas att analysmetoden överensstämmer med de kriterier som är tillämpliga på de aktuella prestandaegenskaperna. Olika kontrollsyften kräver olika metodkategorier. I tabell 5 anges vilka prestandaegenskaper som ska verifieras för respektive metod, och varje parameter förklaras närmare i detta kapitel.

Tabell 5

Klassificering av analysmetoder genom de prestandaegenskaper som ska bestämmas

Metod	Konfirmering		Screening		
	Kvalitativ	Kvantitativ	Kvalitativ	Semikvantitativ	Kvantitativ
Substanser	A	A, B	A, B	A, B	A, B
Identifiering i enlighet med 1.2	x	x			
CC α	x	x			
CC β	–		x	x	x
Riktighet		x			x
Precision		x		(x)	x
Relativ matriseffekt/absolut utbyte *		x			x
Selektivitet/specifitet		x	x	x	x
Stabilitet #		x	x	x	x
Robusthet		x	x	x	x

x: Det ska bevisas genom valideringen att kraven för prestandaegenskaperna är uppfyllda.

x) Precisionskraven i kapitel 1.2.2.2 behöver inte uppfyllas för semikvantitativa screeningmetoder. Precisionen ska dock bestämmas för att bevisa att metoden är lämplig för att undvika analysresultat som felaktigt bedömts överensstämma (falskt negativa analysresultat).

A: Förbjudna eller otillåtna substanser

B: Godkända substanser

Om stabilitetsdata för analyter i en matris finns tillgängliga i vetenskaplig litteratur eller hos ett annat laboratorium behöver dessa data inte bestämmas igen av det berörda laboratoriet. En hänvisning till tillgängliga stabilitetsdata för analyter i lösningar är dock endast godtagbar om betingelserna är identiska.

* Det är relevant för MS-metoder att valideringen visar att kraven för prestandaegenskaperna är uppfyllda. Metodens relativa matriseffekt ska bestämmas när denna effekt inte har bedömts under valideringen. Metodens absoluta utbyte ska bestämmas när inte någon intern standard eller matrisspetsad kalibrering används.

2.2 Riktighet, repeterbarhet och reproducerbarhet inom ett laboratorium

Detta kapitel ger exempel på och referenser till förfaranden vid validering. Andra sätt att visa att metoden överensstämmer med prestandakriterierna kan användas, förutsatt att de ger information på samma nivå och av samma kvalitet.

2.2.1 Konventionell validering

Beräkningen av parametrarna enligt konventionella metoder kräver att flera enskilda experiment utförs. Varje prestandaegenskap ska bestämmas för varje större ändring (se avsnitt 2.4). Vid metoder som använder flera analyter kan många analyter analyseras samtidigt under förutsättning att eventuella relevanta interferenser har uteslutits. Många prestandaegenskaper kan bestämmas på liknande sätt. För att minimera arbetsbördan är det därför lämpligt att kombinera experimenten i så stor utsträckning som möjligt (t.ex. repeterbarhet och reproducerbarhet inom ett laboratorium med specificitet, analys av blankprover för att bestämma beslutsgränsen vid konfirmering och för att testa specificiteten).

2.2.1.1 Riktighet baserat på ett certifierat referensmaterial

En analysmetods riktighet bör bedömas genom ett certifierat referensmaterial (CRM). Metoden beskrivs i ISO 5725-4:1994 ⁽²⁾.

Ett exempel:

1. Analysera sex replikat av det certifierade referensmaterialet i enlighet med testinstruktionerna för metoden.
2. Bestäm koncentrationen för analyten som finns i varje replikatprov.
3. Beräkna medelvärdet, standardavvikelsen och variationskoefficienten (%) för dessa sex replikat.
4. Beräkna riktigheten genom att dividera den påvisade medelkoncentrationen med det certifierade värdet (mätt som koncentration) och multiplicera med 100 för att uttrycka resultatet i procent.

Riktighet (%) = påvisad utbyteskorrigerad medelkoncentration) × 100/certifierat värde.

2.2.1.2 Riktighet baserat på spetsade prover

Om det inte finns något certifierat referensmaterial att tillgå ska metodens riktighet bestämmas genom försök med spetsad blankmatris, som minst i enlighet med följande:

1. För metoder som valideras efter att denna förordning har trätt i kraft: välj blankmaterial och spetsa vid en koncentration på
 - a) 0,5 ⁽³⁾, 1,0 och 1,5 gånger referensvärdet för åtgärder (RPA), eller
 - b) 0,1 ⁽⁴⁾, 1,0 och 1,5 gånger MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML) för godkända substanser, eller
 - c) 1,0, 2,0 och 3,0 gånger den lägsta kalibrerade nivån (LCL) för otillåtna substanser (för vilka det inte har fastställts något referensvärde för åtgärder).
2. Analysen ska utföras med sex replikat på varje nivå.
3. Analysera proverna.
4. Beräkna koncentrationen som påvisats i varje prov.
5. Beräkna riktigheten för varje prov med hjälp av ekvationen nedan, och beräkna därefter den genomsnittliga riktigheten och variationskoefficienten för de sex resultaten på varje koncentrationsnivå.

Riktighet (%) = (påvisad utbyteskorrigerad medelkoncentration) × 100/spetsningsnivå.

När det gäller metoder för godkända substanser som validerats före denna förordnings tillämpningsdag räcker det att bestämma metodens riktighet med hjälp av 6 spetsade alikvoter vid 0,5, 1,0 och 1,5 gånger MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML).

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

⁽³⁾ Om det för otillåtna farmakologiskt aktiva substanser inte rimligen kan göras en validering av en koncentration på 0,5 gånger RPA, kan koncentrationen på 0,5 gånger RPA ersättas med den lägsta koncentration mellan 0,5 gånger och 1,0 gånger RPA som rimligen kan uppnås.

⁽⁴⁾ Om det för en specifik farmakologiskt aktiv substans inte rimligen kan göras en validering av en koncentration på 0,1 gånger MRL-värdet, kan koncentrationen på 0,1 gånger MRL-värdet ersättas med den lägsta koncentration mellan 0,1 gånger och 0,5 gånger MRL-värdet som rimligen kan uppnås.

2.2.1.3 Repeterbarhet

1. För metoder som valideras efter att denna förordning har trätt i kraft ska en uppsättning prover med identiska blankmatriser av samma djurslag beredas. De ska spetsas med analyten till koncentrationer som motsvarar
 - a) 0,5 ⁽⁵⁾, 1,0 och 1,5 gånger referensvärdet för åtgärder (RPA), eller
 - b) 0,1 ⁽⁶⁾, 1,0 och 1,5 gånger MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML) för godkända substanser, eller
 - c) 1,0, 2,0 och 3,0 gånger den lägsta kalibrerade nivån (LCL) för otillåtna eller förbjudna substanser om inte något referensvärde för åtgärder (RPA) är tillämpligt.
2. Analysen ska utföras med minst sex replikat på varje nivå.
3. Analysera proverna.
4. Beräkna koncentrationen som påvisats i varje prov.
5. Beräkna medelkoncentrationen, standardavvikelsen och variationskoefficienten (%) för de spetsade proverna.
6. Upprepa dessa steg vid minst två andra tillfällen.
7. Beräkna de totala medelkoncentrationerna, standardavvikelserna (genom att beräkna genomsnittet för standardavvikelsen i kvadrat för de enskilda tillfällena och ta kvadratroten därav) och variationskoefficienterna för de spetsade proverna.

När det gäller metoder för godkända substanser som validerats före denna förordnings ikraftträdande räcker det att bestämma repeterbarheten med spetsade matriser vid koncentrationer på 0,5, 1,0 och 1,5 gånger MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML).

Beräkningen av repeterbarhet kan också göras i enlighet med ISO 5725-2:2019 ⁽⁷⁾.

2.2.1.4 Reproducerbarhet inom ett laboratorium

1. För valideringar som utförs efter denna förordnings ikraftträdande bereds en uppsättning prover av specificerat provmaterial (identiska eller olika matriser), spetsade med analyten eller analyterna till koncentrationer som motsvarar
 - a) 0,5⁵, 1,0 och 1,5 gånger referensvärdet för åtgärder (RPA), eller
 - b) 0,1⁶, 1,0 och 1,5 gånger MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML) för godkända substanser, eller
 - c) 1,0, 2,0 och 3,0 gånger den lägsta kalibrerade nivån (LCL) för otillåtna eller förbjudna substanser om inte något referensvärde för åtgärder (RPA) är tillämpligt.
2. Utför analysen på varje koncentrationsnivå med minst sex replikat av blankmaterial.
3. Analysera proverna.
4. Beräkna koncentrationen som påvisats i varje prov.

⁽⁵⁾ Om det för en otillåten farmakologiskt aktiv substans inte rimligen kan göras en validering av en koncentration på 0,5 gånger RPA, kan koncentrationen på 0,5 gånger RPA ersättas med den lägsta koncentration mellan 0,5 gånger och 1,0 gånger RPA som rimligen kan uppnås.

⁽⁶⁾ Om det för en specifik farmakologiskt aktiv substans inte rimligen kan göras en validering av en koncentration på 0,1 gånger MRL-värdet, kan koncentrationen på 0,1 gånger MRL-värdet ersättas med den lägsta koncentration mellan 0,1 gånger och 0,5 gånger MRL-värdet som rimligen kan uppnås.

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

5. Upprepa dessa steg vid minst två olika tillfällen med olika satser blankmaterial, olika laboranter och så många olika miljöbetingelser som möjligt, t.ex. olika reagenssatser, lösningsmedel, olika rumstemperaturer, olika instrument eller en variation av andra parametrar.
6. Bestäm medelkoncentrationen, standardavvikelsen och variationskoefficienten (%) för de spetsade proverna.

När det gäller metoder för godkända substanser som validerats före denna förordnings ikraftträdande räcker det att bestämma reproducerbarheten inom ett laboratorium med spetsade matriser vid koncentrationer på 0,5, 1,0 och 1,5 gånger MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML).

Beräkningen av reproducerbarhet inom ett laboratorium/intermediär precision kan också göras i enlighet med ISO 5725-2:2019, ISO 11843-1:1997 ⁽⁸⁾, Codex CAC/GL 59-2006 ⁽⁹⁾.

2.2.2 Validering enligt alternativa modeller

Beräkningen av parametrarna enligt alternativa modeller förutsätter att en försöksplan används. Försöksplanen ska utformas med hänsyn till antalet olika djurslag och olika faktorer som ska undersökas. För att de viktigaste djurslagen och de faktorer som kan inverka på märesultaten ska kunna bestämmas, ska därför det första steget i hela valideringen gälla de provpopulationer som ska analyseras i laboratoriet i framtiden. Den faktoriella metoden gör det möjligt att bedöma mätosäkerheten för testresultaten, som erhållits under en rad betingelser i ett visst laboratorium, t.ex. olika laboranter, olika instrument, olika partier av reagenser, olika matriser, olika analystider och olika analystemperaturer. Därefter ska koncentrationsintervallet väljas ut på ett ändamålsenligt sätt med hänsyn till MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML) för godkända substanser eller till referensvärdet för åtgärder (RPA) eller den lägsta kalibrerade nivån (LCL) för förbjudna eller otillåtna substanser.

Den faktoriella metoden syftar till att fastställa tillförlitliga precisionsdata och mätdata genom samtidig kontrollerad variation av de utvalda faktorerna. Den möjliggör en utvärdering av den kombinerade inverkan av faktoriella effekter och slumpvisa effekter. Försöksutformningen möjliggör också undersökning av analysmetodens robusthet ⁽¹⁰⁾ och bestämning av standardavvikelsen för intern reproducerbarhet i olika matriser.

Nedan ges ett exempel på ett alternativt tillvägagångssätt med användning av en ortogonal plan för försöksutformning.

Upp till sju faktorer (brusfaktorer) kan undersökas. Studien är utformad så att precision, riktighet (baserat på spetsade prover), känslighet, mätosäkerhet och kritiska koncentrationer kan bestämmas samtidigt med hjälp av försöksplanen.

Tabell 6

Exempel på en ortogonal plan för försöksutformning med sju faktorer (I–VII) som varieras på två nivåer (A/B) i en valideringsstudie med åtta omgångar (kombination av faktornivåer)

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

⁽⁸⁾ ISO 11843-1:1997 *Detektionskapabilitet – Del 1: Termer och definitioner*.

⁽⁹⁾ Codex Alimentarius-kommissionen, FAO/WHO, *Guidelines on estimation of uncertainty of results* (CAC/GL 59-2006).

⁽¹⁰⁾ De ändringar av försöksbetingelserna som avses där kan gälla provmaterial, analyter, lagringsförhållanden, miljö- och/eller provberedningsförhållanden. För alla de försöksbetingelser som i praktiken kan variera (t.ex. reagensernas stabilitet, provsammansättning, pH, temperatur) ska alla avvikelser som kan påverka analysresultatet anges.

Omgång 05	B	A	A	B	B	A	B
Omgång 06	B	A	B	B	A	B	A
Omgång 07	B	B	A	A	B	B	A
Omgång 08	B	B	B	A	A	A	B

Beräkningen av metodegenskaperna ska utföras i enlighet med Jülicher et al ⁽¹¹⁾.

2.2.3 Andra valideringssätt

Andra sätt att visa att analysmetoden överensstämmer med prestandakriterierna för prestandaegenskaper kan användas, förutsatt att de ger information på samma nivå och av samma kvalitet. Validering kan också utföras genom en interlaborativ avprovning enligt Codex Alimentarius, ISO eller IUPAC ⁽¹²⁾, eller enligt alternativa metoder, såsom singellaboratoriestudier eller intern validering ⁽¹³⁾. Om alternativa valideringar tillämpas ska den underliggande modellen och strategin med respektive förutsättningar, antaganden och formler fastställas i valideringsprotokollet eller åtminstone hänvisningar ges till var de finns tillgängliga.

2.3 Selektivitet/specifitet

Förmågan att skilja på analyten och närbesläktade substanser ska bestämmas i största möjliga utsträckning. Interferens från homologer, isomerer, nedbrytningsprodukter, endogena substanser, analoger och metaboliter av den rests substans som undersöks, av matrisföreningar eller av andra eventuellt interfererande substanser ska bestämmas, och vid behov ska metoden ändras så att de identifierade interferenserna undviks. För bestämning av metodens specifitet ska följande tillvägagångssätt användas:

1. Välj ett antal kemiskt besläktade föreningar eller andra substanser som ofta förekommer tillsammans med föreningen i fråga och som kan finnas i proverna, och verifiera om de skulle kunna interferera med analysen av målanalyten eller målanalyterna.
2. Analysera ett lämpligt antal representativa blankprover, t.ex. olika partier eller partier från olika djurslag ($n \geq 20$) och kontrollera om det finns interferenser från signaler, toppar eller jonspår i området i fråga där målanalyten förväntas eluera.
3. Spetsa representativa blankprover vid relevant koncentration med substanser som möjligen skulle kunna interferera med identifieringen och/eller kvantifieringen av analyten, och undersök om den tillsatta substansen
 - a) kan leda till falsk identifiering,
 - b) hindrar identifiering av målanalyten,
 - c) påverkar kvantifieringen märkbart.

2.4 Robusthet

Det ska testas att analysmetodens prestanda upprätthålls vid olika försöksbetingelser, t.ex. olika provtagningsbetingelser och mindre ändringar som kan ske vid rutintestning. För testning av metodens robusthet bör de ändringar som införs i försöksbetingelserna vara mindre ändringar. Dessa ändringars betydelse ska utvärderas. Varje prestandaegenskap ska bestämmas för alla mindre ändringar som har visat sig ha en signifikant effekt på undersökningens prestanda.

⁽¹¹⁾ Jülicher, B., Gowik, P. och 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. och 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*. Chromatogr., 716, 221.

2.5 Stabilitet

Stabiliteten hos kalibreringsstandarderna, den matrismatchade standarderna och/eller de matrisspetsade standarderna och stabiliteten hos analyten eller matrissens beståndsdelar i provet under lagring eller analys ska bestämmas, eftersom instabilitet skulle kunna påverka testresultatet.

Vanligtvis är analytens stabilitet väl beskriven under olika lagringsförhållanden. Den information som krävs kan fås från de försök som genomförs för övervakning av standarders och provers lagringsförhållanden, vilken genomförs som ett led i det normala systemet för ackreditering och kvalitetskontroll av laboratorier. Om stabilitetsdata för analyter i en matris finns tillgängliga (t.ex. baserat på information från EU-referenslaboratorierna eller offentligtgjorda data) behöver dessa data inte bestämmas av varje laboratorium. En hänvisning till tillgängliga stabilitetsdata för analyter i lösningar och i matris är dock endast godtagbar om betingelserna är identiska.

Om erforderliga stabilitetsdata inte finns tillgängliga bör följande tillvägagångssätt användas.

2.5.1 Bestämning av analytens stabilitet i lösning

1. Bered nya stamlösningar av analyten eller analyterna och späd enligt testinstruktionerna för att få tillräckligt många alikvoter (t.ex. 40) av varje vald koncentration. Proverna ska beredas av
 - a) de analytlösningar som används för spetsning,
 - b) de analytlösningar som används för den slutliga analysen,
 - c) alla andra lösningar som är av intresse (t.ex. derivatiserade standarder).
2. Mät analytkoncentrationen i den nyberedda lösningen enligt testinstruktionerna.
3. Portionera lämpliga mängder i passande behållare, märk och lagra enligt ljus- och temperaturförhållandena i tabell 7. Lagringstiden ska väljas med beaktande av den analyspraxis som tillämpas, helst tills de första nedbrytningsfenomenen kan observeras under identifieringen och/eller kvantifieringen. Om ingen nedbrytning iaktas under stabilitetsstudien ska lagringstiden för stabilitetsstudien vara lika med den maximala lagringstiden för lösningen.
4. Beräkna analytens eller analyternas koncentration i varje alikvot jämfört med analytens koncentration i den nyberedda lösningen med hjälp av följande formel:

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

$$C_i = \text{koncentration vid tidpunkt } i$$

$$C_{\text{fresh}} = \text{koncentration för nyberedd lösning}$$

Medelvärdet för fem replikatlösningar som varit lagrade får inte avvika mer än 15 % från medelvärdet för fem nyberedda replikatlösningar. Medelvärdet för de fem nyberedda lösningarna ska användas som grund för beräkningen av skillnaden i procent.

Tabell 7

Plan för bestämning av analytstabilitet i lösning

	- 20 °C	+ 4 °C	+ 20 °C
Mörkt	10 alikvoter	10 alikvoter	10 alikvoter
Ljust			10 alikvoter

2.5.2 Bestämning av stabiliteten hos analyt(er) i matris

1. Använd om möjligt prover från behandlade djur. Om det inte finns någon matris från behandlat djur (incurred matrix) att tillgå ska en blankmatris som spetsats med analyten användas.

2. Om det finns en matris från behandlat djur att tillgå ska koncentrationen i materialet bestämmas medan matrisen fortfarande är ny. Lagra ytterligare alikvoter av den homogeniserade matrisen från behandlat djur vid -20 °C eller lägre temperatur om så krävs, och bestäm koncentrationen för analyten så länge som provet sparas i laboratoriet.
3. Om det inte finns någon matris från behandlat djur att tillgå används en liten mängd blankmatris som homogeniseras. Dela upp matrisen i fem alikvoter. Spetsa varje alikvot med analyten, som helst ska beredas i en liten mängd vattenlösning. Analysera en alikvot direkt. Lagra resterande alikvoter vid -20 °C eller lägre temperatur om så krävs, och analysera dem efter kortvarig, medellång och långvarig lagring med beaktande av de tillämpade analysmetoderna.
4. Registrera den längsta godtagbara lagringstiden och de optimala lagringsförhållandena.

Medelvärde för fem replikatlösningar som varit lagrade får inte avvika från medelvärdet för fem nyberedda replikatlösningar med mer än värdet för metodens reproducerbarhet inom ett laboratorium. Medelvärdet för de fem nyberedda lösningarna ska användas som grund för beräkningen av skillnaden i procent.

2.6 Beslutsgräns vid konfirmering (CCa)

CCa ska bestämmas för konfirmeringsmetoder CCa ska fastställas under betingelser som uppfyller kraven för identifiering eller för identifiering och kvantifiering enligt kapitel 1, "Prestandakriterier och övriga krav för analysmetoder".

För kontroll av provernas överensstämmelse har det redan tagits hänsyn till den kombinerade standardmätosäkerheten i CCa-värdet (beslutsgräns vid konfirmering).

1. För otillåtna eller förbjudna farmakologiskt aktiva substanser ska CCa beräknas på följande sätt:

- a) Metod 1: Genom förfarandet med kalibreringskurvor i enlighet med ISO 11843-1:1997⁽¹⁴⁾ (där benämnt "critical value of the net state variable"). I detta fall ska representativt blankmaterial användas som spetsats vid och över referensvärdet för åtgärder (RPA) eller den lägsta kalibrerade nivån (LCL) i ekvidistanta steg. Analysera proverna. Efter identifiering plottas signalen, om möjligt, eller den omräknade koncentrationen mot den tillsatta koncentrationen. Motsvarande koncentration vid skärningen med y-axeln plus 2,33 gånger standardavvikelsen för reproducerbarheten inom ett laboratorium för skärningen är lika med beslutsgränsen. Denna metod är endast tillämplig på kvantitativa undersökningar. Beslutsgränser som erhålls med detta tillvägagångssätt ska verifieras genom analys av blankmatris som spetsats vid den beräknade beslutsgränsen.
- b) Metod 2: Genom analys av minst 20 representativa blankmaterial per matris för att beräkna signalbrusförhållandet i det tidsfönster där analyten förväntas. Som beslutsgräns kan tre gånger signalbrusförhållandet användas. Detta är tillämpligt på kvantitativa och kvalitativa undersökningar. Beslutsgränser som erhålls med detta tillvägagångssätt ska verifieras genom analys av blankmatris som spetsats vid den beräknade beslutsgränsen.
- c) Metod 3: $CCa = LCL + k$ (ensidig, 99 %) \times (kombinerad) standardmätosäkerhet vid LCL.

För otillåtna eller förbjudna farmakologiskt aktiva substanser kan det, beroende på valideringsförsöket (och dess respektive frihetsgrader), vara rimligt att tillämpa t-fördelningen, eller så ska en k-faktor på 2,33 användas om normalfördelningen (ensidig, $n=\infty$) används som grund.

Reproducerbarheten inom ett laboratorium och riktigheten är lämpliga för att ange (den kombinerade) standardmätosäkerheten, om den bestäms med hänsyn till alla relevanta påverkande faktorer.

Metod 2 för beräkningen av CCa kan endast användas till den 1 januari 2026 om det rör sig om metoder som validerats före denna förordnings ikraftträdande. För metoder som validerats efter denna förordnings ikraftträdande ska endast metod 1 eller 3 användas.

⁽¹⁴⁾ ISO 11843-1:1997 *Detektionskapabilitet – Del 1: Termer och definitioner*.

2. För godkända farmakologiskt aktiva substanser ska CC α beräknas på följande sätt:

- a) För godkända substanser där ett MRL-värde eller en högsta tillåtna halt (ML) fastställs för kombinationer av matriser/djurslag:
 - i) Metod 1: Genom förfarandet med kalibreringskurvor i enlighet med ISO 11843–1:1997 (där benämnt "critical value of the net state variable"). I detta fall ska det användas blankmaterial som spetsats vid och över MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML) i ekvidistanta steg. Analysera proverna. Efter identifiering plottas signalen, om möjligt, eller den omräknade koncentrationen mot den tillsatta koncentrationen. Motsvarande koncentration vid MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML) plus 1,64 gånger standardavvikelsen för reproducerbarheten inom ett laboratorium vid det tillåtna gränsvärdet är lika med beslutsgränsen ($\alpha = 5\%$).
 - ii) Metod 2: $CC\alpha = \text{MRL-värdet (eller den högsta tillåtna halten)} + k \text{ (ensidig, 95 \%)} \times \text{(kombinerad standardmätosäkerhet vid MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML))}$.

För godkända substanser kan det, beroende på valideringsförsöket (och dess respektive frihetsgrader), vara rimligt att tillämpa t-fördelningen, eller så ska en k-faktor på 1,64 användas om normalfördelningen (ensidig, $n=\infty$) används som grund.

Reproducerbarheten inom ett laboratorium och riktigheten är lämpliga för att ange (den kombinerade) standardmätosäkerheten, om den bestäms med hänsyn till alla relevanta påverkande faktorer.

För farmakologiskt aktiva substanser med fastställt MRL-värde för summan av olika substanser ska CC α för substansen med högst koncentration i provet användas som CC α för att bedöma summan av substanser i det uppmätta provet.

- b) För godkända substanser där det inte har fastställts något MRL-värde för kombinationer av matriser/djurslag får inga resthalter förekomma, såvida inte en godkänd behandling i enlighet med artikel 11 i direktiv 2001/82/EG har ägt rum. För godkända substanser för vilka det inte har fastställts något MRL-värde ska ett kaskad-MRL-värde i enlighet med kommissionens genomförandeförordning (EU) 2018/470⁽¹⁵⁾ användas för beräkningen av CC α . Metod 1 eller 2 i stycket ovan ska tillämpas, men med MRL-värdet avses 0,5 gånger MRL-värdet enligt kaskadprincipen, med målet 0,1 gång kaskad-MRL-värdet, om det rimligen kan uppnås.

2.7 Detektionsförmåga vid screening (CC β)

CC β ska bestämmas för screeningmetoder. CC β ska fastställas i enlighet med kapitel 1, "Prestandakriterier och övriga krav för analysmetoder", i denna bilaga och i enlighet med kraven i tabell 5. De fullständiga kraven för identifiering (se 1.2.3, 1.2.4 och 1.2.5) behöver inte tillämpas för screeningmetoder.

1. För otillåtna eller förbjudna farmakologiskt aktiva substanser ska ett β -fel på högst 5 % säkerställas. CC β ska beräknas enligt följande:
 - a) Metod 1: Genom förfarandet med kalibreringskurvor i enlighet med ISO 11843–1:1997 (där benämnt "minimum detectable value of the net state variable"). I detta fall ska det användas ett representativt blankmaterial som spetsats vid och under referensvärdet för åtgärder (RPA) eller, om det inte har fastställts något RPA, omkring målkoncentrationen för screening (STC) i ekvidistanta steg. Analysera proverna. Plotta signalen mot den tillsatta koncentrationen. Motsvarande koncentration vid STC plus 1,64 gånger standardavvikelsen för reproducerbarheten inom ett laboratorium för det genomsnittligt uppmätta innehållat vid STC är lika med detektionsförmågan. Extrapolering långt under den lägsta spetsningsnivån (< 50 % av den lägsta spetsningsnivån) ska bekräftas genom försöksdata i valideringssteget.
 - b) Metod 2: Undersökning av spetsade blankmaterial på koncentrationsnivåer vid och över STC. För varje koncentrationsnivå ska 20 spetsade blankprover analyseras för att garantera ett tillförlitligt underlag för denna bestämning. Koncentrationsnivån, då endast $\leq 5\%$ resultat som felaktigt bedömts överensstämna (falskt negativa resultat) kvarstår, är lika med detektionsförmågan för metoden.
 - c) Metod 3: $CC\beta = \text{STC} + k \text{ (ensidig, 95 \%)} \times \text{(kombinerad) standardmätosäkerhet vid eller över STC}$.

⁽¹⁵⁾ Kommissionens genomförandeförordning (EU) 2018/470 av den 21 mars 2018 om detaljerade bestämmelser om det MRL-värde som ska beaktas för kontrollsyfte när det gäller livsmedel som härrör från djur som har behandlats i EU i enlighet med artikel 11 i direktiv 2001/82/EG (EUT L 79, 22.3.2018, s. 16).

För otillåtna eller förbjudna farmakologiskt aktiva substanser kan det, beroende på valideringsförsöket (och dess respektive frihetsgrader), vara rimligt att tillämpa t-fördelningen, eller så ska en k-faktor på 1,64 användas om normalfördelningen (ensidig, $n=\infty$) används som grund.

Reproducerbarheten inom ett laboratorium och riktigheten är lämpliga för att ange (den kombinerade) standardmätosäkerheten, om den bestäms med hänsyn till alla relevanta påverkande faktorer.

2. För godkända substanser ska ett β -fel på högst 5 % säkerställas. $CC\beta$ ska beräknas enligt följande:

- a) Metod 1: Genom förfarandet med kalibreringskurvor i enlighet med ISO 11843-1:1997 (där benämnt "minimum detectable value of the net state variable"). I detta fall ska det användas ett representativt blankmaterial som spetsats vid och under det tillåtna gränsvärdet, med utgångspunkt i STC i ekvidistanta steg. Analysera proverna och identifiera analyten eller analyterna. Beräkna standardavvikelsen för det genomsnittligt uppmätta innehållet vid STC.

Motsvarande koncentration vid STC plus 1,64 gånger standardavvikelsen för reproducerbarheten inom ett laboratorium för det genomsnittligt uppmätta innehållet vid STC är lika med detektionsförmågan.

- b) Metod 2: Genom undersökning av spetsade blankmaterial på koncentrationsnivåer under det tillåtna gränsvärdet. För varje koncentrationsnivå ska 20 spetsade blankprover analyseras för att garantera ett tillförlitligt underlag för denna bestämning. Koncentrationsnivån, då endast $\leq 5\%$ resultat som felaktigt bedömts överensstämma (falskt negativa resultat) kvarstår, är lika med detektionsförmågan för metoden.

- c) Metod 3: $CC\beta = STC + k$ (ensidig, 95 %) \times (kombinerad) standardmätosäkerhet vid eller över STC.

För godkända substanser kan det, beroende på valideringsförsöket (och dess respektive frihetsgrader), vara rimligt att tillämpa t-fördelningen, eller så ska en k-faktor på 1,64 användas (antingen vid kaskadanvändning eller normal användning av MRL-värden) om normalfördelningen (ensidig, $n=\infty$) används som grund.

Reproducerbarheten inom ett laboratorium och riktigheten är lämpliga för att ange (den kombinerade) standardmätosäkerheten, om den bestäms med hänsyn till alla relevanta påverkande faktorer.

För farmakologiskt aktiva substanser med fastställt MRL-värde för summan av olika substanser ska $CC\beta$ för substansen med högst koncentration i provet användas som $CC\beta$ för att bedöma summan av substanser i det uppmätta provet.

2.8 Kalibreringskurvor

Då kalibreringskurvor används för kvantifiering ska

1. minst fem helst ekvidistanta nivåer (inklusive nollnivå) användas för att konstruera kurvan,
2. kurvans mätområde beskrivas,
3. kurvans matematiska formel och anpassningsgraden för data (determinationskoefficient R^2) till kurvan beskrivas,
4. godtagbara intervall för kurvans parametrar beskrivas.

För kalibreringskurvor baserade på en standardlösning, matricmatchade standarder eller matricspetsade standarder ska godtagbara intervall anges för de parametrar för kalibreringskurvan som kan variera från serie till serie.

2.9 Absolut utbyte

Metodens absoluta utbyte ska bestämmas när inte någon intern standard eller matricspetsad kalibrering används.

När kraven för riktighet i tabell 1 är uppfyllda kan en fast korrigeringsfaktor användas. I annat fall ska den utbytesfaktor som erhållits för den specifika satsen användas. Alternativt ska förfarandet för standardaddition ⁽¹⁶⁾ eller en intern standard användas i stället för en korrigeringsfaktor för utbyte.

Det absoluta utbytet ska beräknas för minst sex representativa partier av matrisen.

En alikvot av blankmatris ska spetsas med analyten före extraktion, och en andra alikvot av blankmatris ska spetsas efter provberedning på en relevant koncentrationsnivå, och analytens koncentration ska bestämmas.

Utbytet ska beräknas enligt följande:

$$\text{Utbyte (analyt)} = (\text{area matrisspetsad standard}) / (\text{area matrismatchad standard}) \times 100$$

2.10 Relativa matriseffekter

Den relativa matriseffekten ska bestämmas i samtliga fall. Detta kan göras antingen som ett led i valideringen eller i separata försök. Beräkningen av den relativa matriseffekten ska göras för minst 20 olika blankpartier (matris/djurslag), enligt tillämpningsområdet för metoden, t.ex. olika djurslag som ska omfattas.

Blankmatrisen bör spetsas efter extraktion med analyten vid referensvärde för åtgärder (RPA), MRL-värdet eller den högsta tillåtna halten (ML) och bör analyseras tillsammans med en ren analytlösning.

Den relativa matriseffekten eller matrisfaktorn (MF) beräknas enligt följande:

$$\text{MF (standard)} = \frac{\text{topparea för MMS}}{\text{topparea för standardlösning}}$$

$$\text{MF (IS)} = \frac{\text{topparea för MMS IS}}{\text{topparea för IS-lösning}}$$

$$\text{MF (standard som är normaliserad mot IS)} = \frac{\text{MF (standard)}}{\text{MF (IS)}}$$

IS: intern standard

MMS: matrismatchad standard

Variationskoefficienten får inte vara större än 20 % för MF (standard som är normaliserad mot IS).

KAPITEL 3

KVALITETSKONTROLL VID RUTINANALYS – LÖPANDE VERIFIERING AV METODENS PRESTANDA

Kraven för kvalitetssäkring av analysresultat i kapitel 7.7 i ISO/IEC 17025:2017 ⁽¹⁷⁾ ska uppfyllas.

Vid rutinanalys är analys av de certifierade referensmaterialen (CRM) det bästa alternativet för att bevisa metodens prestanda. Eftersom certifierade referensmaterial som innehåller den relevanta analyten på de erforderliga koncentrationsnivåerna sällan är tillgängliga, får också referensmaterial som tagits fram och karakteriserats av EU-referenslaboratorierna eller de laboratorier som har en ackreditering enligt ISO/IEC 17043:2010 ⁽¹⁸⁾ användas. Interna referensmaterial som kontrolleras regelbundet får också användas.

Den löpande verifieringen av metodens prestanda vid rutinanalys bör utföras i screeningsteget och konfirmeringssteget.

⁽¹⁶⁾ Mängden standard som tillsätts kan t.ex. vara mellan två och fem gånger den förväntade mängden analyt i provet. Detta förfarande är utformat för att bestämma halten av en analyt i ett prov med beaktande av utbytet för analysmetoden.

⁽¹⁷⁾ ISO/IEC 17025:2017 *Allmänna kompetenskrav för provnings- och kalibreringslaboratorier* (kapitel 7.7).

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

1. Screeningsteget:

För varje serie (sats) utförda analyser ska en uppsättning av följande prover för kvalitetskontroll samtidigt analyseras:

- a) Kontrollprov för instrumentets systemlämplighet, helst metodspecifikt.
- b) Prover för kvalitetskontroll som är spetsade vid en koncentration nära målkoncentrationen för screening (STC) och helst vid $CC\beta$ vid screening både för godkända farmakologiskt aktiva substanser och för förbjudna eller otillåtna substanser.
- c) Överensstämmande (negativt) kontrollprov (blankprover) och i förekommande fall reagensblankar.

2. Konfirmeringssteget:

För varje serie (sats) utförda analyser ska en uppsättning av följande prover för kvalitetskontroll samtidigt analyseras:

- a) Kontrollprov för instrumentets systemlämplighet, helst metodspecifikt.
- b) Prover för kvalitetskontroll som är spetsade vid en koncentration nära MRL-värdet och den högsta tillåtna halten (ML) för godkända farmakologiskt aktiva substanser eller nära referensvärdet för åtgärder (RPA) eller den lägsta kalibrerade nivån (LCL) för förbjudna eller otillåtna substanser (icke-överensstämmande (positiva) kontrollprover).
- c) Överensstämmande (negativt) kontrollprov (blankprover) och i förekommande fall reagensblankar.

Följande ordning rekommenderas för prover för kvalitetskontroll: kontrollprov för instrumentets systemlämplighet, överensstämmande (negativt) kontrollprov, prov(er) som ska konfirmeras, överensstämmande (negativt) kontrollprov på nytt och spetsade prover för kvalitetskontroll (icke-överensstämmande (positiva) kontrollprover).

För kvantitativa metoder ska med varje sats officiella prover en kalibreringskurva analyseras och mätas före eller efter de ovan angivna proverna.

Om det är praktiskt möjligt ska riktigheten (baserat på spetsade prover) av alla målanalyter i de icke-överensstämmande (positiva) kontrollproverna utvärderas med hjälp av kontrollkort i enlighet med kapitel 7.7 i ISO/IEC 17025:2017. Om detta ställer krav på ett oproportionerligt stort antal bestämningar av riktighet kan antalet analyter minskas till ett antal representativa analyter.

KAPITEL 4

UTVIDGNING AV DET VALIDERADE TILLÄMPNINGSSOMRÅDET FÖR EN TIDIGARE VALIDERAD METOD

Ibland är det nödvändigt att utvidga tillämpningsområdet för en metod som tidigare genomgått en omfattande validering. I sådana fall bör tillämpningsområdet utvidgas på ett effektivt och analytiskt korrekt sätt. Detta kan uppnås genom en validering av ett reducerat antal prover (t.ex. hälften av proverna) jämfört med en fullständig validering.

Typen av och antalet ändringar som ska valideras genom en reducerad valideringsordning ska dock alltid baseras på expertkunskap och tidigare erfarenheter, t.ex. skulle en ändring av detektionsteknik i vilket fall som helst kräva en fullständig validering.

I allmänhet ska metodens prestanda övervakas kontinuerligt och jämföras med de ursprungliga valideringsparametrarna så att det försäkras att metoden alltjämt är giltig. Denna löpande kontroll av metodens prestanda ska utformas på ett sådant sätt att de data som saknas för en fullständig validering kan samlas in över tid (t.ex. med några få datapunkter från prover för kvalitetskontroll i varje analysserie).

4.1 Utvidgning av metoder med avseende på koncentrationsintervall

Efter ändringar av MRL-värden, högsta tillåtna halter (ML) och referensvärden för åtgärder (RPA) kan det bli nödvändigt att justera det koncentrationsintervall som en metod har validerats för. I sådant fall är en reducerad valideringsordning godtagbar.

Kalibreringskurvor för det ändrade intervallet bör tas fram enligt det validerade förfarandet. Olika satser som har spetsats på olika koncentrationsnivåer (se 2.2.1 och 2.2.2) bör analyseras. Riktighet, repeterbarhet och reproducerbarhet inom ett laboratorium/intermediär precision bör ligga inom ett godtagbart intervall jämfört med de ursprungligen validerade metoderna. En omräkning av $CC\beta$ (screeningmetoder) och $CC\alpha$ (konfirmeringsmetoder) bör göras i förekommande fall.

4.2 Utvidgning av metoder med avseende på ytterligare substanser

I allmänhet går det bara att utvidga metoder med ytterligare föreningar när det gäller analyter som har samma struktur och egenskaper som de analyter som redan ingår i analysmetoden. I sådant fall är en reducerad valideringsordning godtagbar. Det är inte heller tillåtet att avvika från metodbeskrivningen.

Kalibreringskurvor för de ytterligare substanserna bör tas fram enligt det validerade förfarandet. Olika satser matrismaterial som har spetsats på olika koncentrationsnivåer (se 2.2.1 och 2.2.2) bör analyseras. Riktighet, repeterbarhet och reproducerbarhet inom ett laboratorium/intermediär precision bör ligga inom ett intervall som är jämförbart med intervallet för de andra analyterna i den ursprungligen validerade metoden och överensstämma med kraven i 1.2.2. En beräkning av $CC\beta$ (screeningmetoder) och $CC\alpha$ (konfirmeringsmetoder) ska göras för de nya analyterna.

4.3 Utvidgning av metoder med avseende på matriser/djurslag

Beslutet att införa nya matriser eller djurslag i en redan validerad analysmetod ska alltid fattas från fall till fall baserat på den kunskap och erfarenhet man har av metoden och på de förberedande försöken för utvärdering av potentiella matriseffekter och interferenser. I allmänhet kommer det att vara möjligt endast för matriser som uppvisar liknade egenskaper och för analyter som inte är kritiska (stabilitet, detekterbarhet).

Kalibreringskurvor (standard eller matris) bör tas fram enligt det validerade förfarandet. Olika satser matrismaterial som har spetsats på olika koncentrationsnivåer (se 2.2.1 och 2.2.2) bör analyseras. Riktighet, repeterbarhet och reproducerbarhet inom ett laboratorium/intermediär precision bör ligga inom ett godtagbart intervall jämfört med intervallen för den ursprungligen validerade metoden och överensstämma med kraven i 1.2.2. Beroende på valideringssättet kan det bli nödvändigt med en omräkning av $CC\beta$ (screeningmetoder) eller $CC\alpha$ (konfirmeringsmetoder).

Om resultatet inte ligger inom ett godtagbart intervall jämfört med värdena för den ursprungliga matrisen blir det nödvändigt att göra en ytterligare fullständig validering för att bestämma de matris-/djurslagsspecifika prestanda-parametrarna.

När MRL-värdet för en specifik substans är olika i vissa matriser är det sannolikt svårt att anpassa metodens tillämpningsområde till den ytterligare matrisen/djurslaget och koncentrationen, eftersom två ändringar måste beaktas i detta fall. I sådana fall rekommenderas en fullständig validering.

BILAGA II

PROVTAGNINGSFÖRFARANDEN OCH OFFICIELL BEHANDLING AV PROVER**1. Provmängd**

Det ska framgå av det nationella kontrollprogrammet för rests substanser vilken minsta mängd av ett prov som måste tas. Mängden ska vara tillräckligt stor för att de godkända laboratorierna ska kunna utföra de analysförfaranden som är nödvändiga för att slutföra screeninganalyserna och konfirmeringsanalyserna. När det gäller fjäderfä, vattenbruksdjur, kaniner, hägnat vilt, reptiler och insekter består ett prov av ett eller flera djur, beroende på kraven för analysmetoderna. För ägg ska provstorleken vara minst 12 ägg, men bero av analysmetoden. Om flera substans kategorier behöver analyseras i ett prov med olika analysmetoder ska provstorleken ökas i enlighet med detta.

2. Uppdelning i delprover

Såvida det inte är tekniskt omöjligt eller inte utgör ett krav enligt nationell lagstiftning ska varje prov delas upp i minst två likadana delprover, som vart och ett kan användas för ett komplett analysförfarande. Uppdelningen kan göras på den plats provet tas eller i laboratoriet.

3. Spårbarhet

Varje prov ska tas på ett sådant sätt att det alltid går att spåra det tillbaka till ursprungsföretaget och partiet djur eller det enskilda djuret i förekommande fall. Särskilt när det gäller mjölk kan prover tas, enligt medlemsstatens val, på någon av följande platser:

1. från uppsamlingsbehållaren på jordbruksföretaget,
2. på mejerierna innan mjölken har lastats av.

4. Provbehållare

Proven ska läggas in i lämpliga behållare som håller proven åtskilda och möjliggör spårbarhet. Behållarna ska särskilt förhindra förväxling, korskontaminering och nedbrytning. Transportbehållarna ska vara försedda med en officiell försegling.

5. Provtagningsrapport

Efter varje provtagning ska en rapport skrivas.

Inspektören ska sammanställa minst följande uppgifter i provtagningsrapporten:

1. De behöriga myndigheternas adress.
2. Inspektörens namn eller identitetsbeteckning.
3. Provets officiella kodnummer.
4. Datum då provtagningen ägde rum.
5. Ägarens namn och adress eller motsvarande uppgifter för den person som ansvarade för djuret eller de animaliska produkterna.
6. Om provtagningen äger rum på ett jordbruksföretag: namn på djurets ursprungsföretag samt adress.
7. Anläggningens registreringsnummer/slakteriets nummer.
8. Djurets eller produktens beteckning.
9. Djurslag.
10. Provmatrix.
11. Om provtagningen äger rum på ett jordbruksföretag: i förekommande fall medicinering som ägt rum högst fyra veckor innan provet tas.
12. Substanser eller substansgrupper som ska undersökas.
13. Särskilda kommentarer.

Rapporten ska tillhandahållas i pappersform eller elektroniskt allt efter vad som gäller för respektive provtagningsförfarande. Provtagningsrapporten med kopior ska fyllas i på ett sådant sätt att dess äkthet och rättsliga giltighet säkerställs, vilket kan innebära att dessa handlingar måste undertecknas av inspektören. Om provtagningen äger rum på ett jordbruksföretag kan jordbrukaren eller jordbrukarens ställföreträdare uppmanas att underteckna originalrapporten.

Originalen till provtagningsrapporten ska förvaras hos den behöriga myndigheten, som måste kunna garantera att inga obehöriga personer får tillgång till originalrapporten.

Om så är nödvändigt eller önskvärt kan jordbrukaren eller anläggningens ägare informeras om den provtagning som utförts.

6. Provtagningsrapport till laboratoriet

Den provtagningsrapport till laboratoriet som de behöriga myndigheterna utarbetat ska överensstämma med kraven i kapitel 7 i ISO/IEC 17025:2017 ⁽¹⁾ och ska innehålla åtminstone följande information:

1. De behöriga myndigheternas eller de utsedda organens adress.
2. Inspektörens namn eller identitetsbeteckning.
3. Provets officiella kodnummer.
4. Datum då provtagningen ägde rum.
5. Djurslag.
6. Provmatris.
7. Substanser eller substansgrupper som ska undersökas.
8. Särskilda kommentarer.

Provtagningsrapporten till laboratoriet ska medfölja provet när det sänds till laboratoriet.

7. Transport och lagring

I kontrollprogrammen för rests substanser ska det anges hur varje analyt/matriskombination ska lagras och transporteras för att man ska kunna garantera att analyten håller sig stabil och att proven hålls åtskilda. Transporttiden ska vara så kort som möjligt och temperaturen under transport ska säkerställa att analyten håller sig stabil.

Särskild vikt ska fästas vid transportlådor, temperatur och leveranstider till det ansvariga laboratoriet.

Om föreskrifterna i kontrollprogrammet inte efterlevts fullt ut ska laboratoriet omedelbart informera den behöriga myndigheten.

⁽¹⁾ ISO/IEC 17025:2017 *Allmänna kompetenskrav för provnings- och kalibreringslaboratorier* (kapitel 7.7).