|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| L 180/84 |  | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

# ИСПОЛНИТЕЛЬНЫЙ РЕГЛАМЕНТ КОМИССИИ (ЕС) № 2021/808

**от 22 марта 2021 года**

**о применении аналитических методов для определения остатков фармакологически активных веществ, используемых у сельскохозяйственных животных, и об интерпретации результатов, а также о методах, которые будут использоваться для отбора проб и отмены Решений 2002/657/ЕС и 98/179/ЕС**

**(Текст применим в ЕЭЗ)**

ЕВРОПЕЙСКАЯ КОМИССИЯ,

принимая во внимание Договор о функционировании Европейского Союза,

Принимая во внимание Регламент (ЕС) 2017/625 Европейского парламента и Совета от 15 марта 2017 года об официальных мерах контроля и других видах официальной деятельности, выполняемых с целью обеспечения применения пищевого и кормового законодательства, правил по здоровью и благополучию животных, здоровью растений, средствам защиты растений, вносящий изменения в Регламенты (ЕС) № 999/2001, (ЕС) № 396/2005, (ЕС) № 1069/2009, (ЕС) № 1107/2009, (ЕС) № 1151/2012, (ЕС) № 652/2014, (ЕС) 2016/429 и (ЕС) 2016/2031 Европейского парламента и Совета, Регламенты Совета (ЕС) № 1/2005 и (ЕС) № 1099/2009 и Директивы Совета 98/58/EC, 1999/74/EC, 2007/43/EC, 2008/119/EC и 2008/120/EC и отменяющий Регламенты (ЕС) № 854/2004 и (ЕС) № 882/2004 Европейского парламента и Совета, Директивы Совета 89/608/EEC, 89/662/EEC, 90/425/EEC, 91/496/EEC, 96/23/EC, 96/93/EC и 97/78/EC и Решение Совета 92/438/EEC (Регламент об официальных мерах контроля) [([[1]](#footnote-1))](#_bookmark6), и, в частности, Статью 34(6) указанного документа,

Принимая во внимание следующее:

1. Регламент (ЕС) № 2017/625 устанавливает правила применения мер официального контроля и прочих контрольных мероприятий компетентными органами государств-членов с целью проверки соответствия законодательству Евросоюза, в частности, в области безопасности пищевых продуктов на всех этапах производства, переработки и сбыта. Он устанавливает конкретные правила официального контроля в отношении веществ, использование которых может привести к образованию остатков в пищевых продуктах и кормах, и устанавливает общие требования к методам отбора проб, лабораторных анализов и тестов во время официального контроля и других официальных мероприятий.
2. Решение Комиссии 2002/657/ЕС [(](#_bookmark7)[[2]](#footnote-2)[)](#_bookmark7) устанавливает требования к характеристикам аналитических методов и интерпретации результатов анализов определенных веществ и их остатков в живых животных и продуктах животного происхождения, а Решение Комиссии 98/179/ЕС [(](#_bookmark8)[[3]](#footnote-3)[)](#_bookmark8) устанавливает подробные правила официального отбора проб для мониторинга определенных веществ и их остатков в живых животных и продуктах животного происхождения. Оба Решения были приняты на основании Директивы Совета 96/23/ЕС [(](#_bookmark9)[[4]](#footnote-4)[)](#_bookmark9), которая была отменена Регламентом (ЕС) 2017/625. С учетом новых научных разработок эти правила следует обновить и интегрировать в систему официального контроля, определенную Регламентом (ЕС) 2017/625.
3. В соответствии со Статьей 1(2) Решения 2002/657/ЕС, это Решение не должно применяться к веществам, для которых в другом законодательстве Союза установлены более конкретные правила. Этими веществами являются микотоксины в пищевых продуктах, диоксины и диоксиноподобные полихлорированные бифенилы (ПХБ) в пищевых продуктах, а также свинец, кадмий, ртуть и бенз(а)пирена в пищевых продуктах. Микотоксины в пищевых продуктах должны соответствовать требованиям, установленным Регламентом Комиссии (ЕС) № 401/2006 [(](#_bookmark10)[[5]](#footnote-5)[)](#_bookmark10), определяющим методы отбора проб и анализа для официального контроля уровней микотоксинов в пищевых продуктах. Регламент Комиссии (ЕС) 2017/644 [(](#_bookmark11)[[6]](#footnote-6)[)](#_bookmark11), устанавливающий методы отбора проб и анализа для контроля уровней диоксинов, диоксиноподобных ПХБ и недиоксиноподобных ПХБ в некоторых пищевых продуктах применим в случае с диоксинами и диоксиноподобными ПХБ. Положения по отбору проб и анализу для официального контроля содержания свинца, кадмия, ртути и бенз(а)пирена в пищевых продуктах изложены в Регламенте Комиссии (ЕС) № 333/2007 ([[7]](#footnote-7) ).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/85 |

1. По соображениям ясности и правовой определенности целесообразно объединить положения, применимые к отбору проб и анализу фармакологически активных веществ, в один правовой акт, как в случае с микотоксинами, диоксинами, диоксиноподобными ПХБ, свинцом, кадмием, ртутью и бенз(а)пиреном в пищевых продуктах.
2. Поэтому Решения 98/179/ЕС и 2002/657/ЕС должны быть отменены и заменены настоящим Регламентом.
3. В соответствии с Регламентом (ЕС) № 1831/2003 Европейского парламента и Совета [(](#_bookmark16)[[8]](#footnote-8)[)](#_bookmark16), кокцидиостаты и гистомоностаты могут использоваться в качестве кормовых добавок, поэтому Регламент Комиссии (ЕС) № 152/2009 [(](#_bookmark17)[[9]](#footnote-9)[)](#_bookmark17), устанавливающий методы отбора проб и анализа для официального контроля кормов, распространяется на анализ их содержания в кормах. Однако настоящий Регламент должен применяться в тех случаях, когда корма анализируются в рамках последующих действий во время расследования источника несоответствующих образцов в случаях подозрения или установленного несоблюдения правил Союза, применимых к использованию или остаткам фармакологически активных веществ, разрешенных к применению в ветеринарных лекарственных препаратах или в качестве кормовых добавок, или правил Союза, применимых к использованию или остаткам запрещенных или неразрешенных фармакологически активных веществ.
4. В целях обеспечения непрерывности проведения официального контроля остатков фармакологически активных веществ и других официальных мероприятий по ним и во избежание необходимости повторной валидации всех методов сразу, методы, которые были валидированы до даты вступления в силу настоящего Регламента могут продолжать использоваться в течение ограниченного периода времени при условии соблюдения требований пунктов 2 и 3 Приложения I к Решению 2002/657/ЕС. Поэтому уместно предоставить государствам-членам достаточно времени для применения требований, изложенных в настоящем Регламенте, ко всем аналитическим методам.
5. Меры, предусмотренные настоящим Регламентом, соответствуют мнению Постоянного комитета по вопросам растений, животных, пищевых продуктов и кормов.

УТВЕРДИЛА НАСТОЯЩИЙ РЕГЛАМЕНТ:

*Статья 1*

# Предмет рассмотрения и область применения

Настоящий Регламент устанавливает правила, касающиеся методов анализа, используемых для отбора проб и лабораторных анализов в отношении остатков фармакологически активных веществ в живых животных, производящих пищевые продукты, их частях тела и жидкостях, экскрементах, тканях, продуктах животного происхождения, побочных продуктах животного происхождения, кормах и воде. Она также устанавливает правила интерпретации аналитических результатов этих лабораторных анализов.

Настоящий Регламент распространяется на официальные проверки, направленные на проверку соблюдения требований по наличию остатков фармакологически активных веществ.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/86 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

*Статья 2*

# Определения

Для целей настоящего Регламента применяются определения в статье 2 Делегированного регламента Комиссии (ЕС) 2019/2090 [(](#_bookmark24)[[10]](#footnote-10)[)](#_bookmark24), Регламенте Комиссии (ЕС) 2019/1871 [(](#_bookmark25)[[11]](#footnote-11)[)](#_bookmark25), статье 2 Регламента (ЕС) № 470/2009 Европейского парламента и Совета [(](#_bookmark26)[[12]](#footnote-12)[)](#_bookmark26) и Регламенте Совета (ЕЭС) № 315/93 [(](#_bookmark27)[[13]](#footnote-13)[)](#_bookmark27).

Также применяются следующие определения:

1. «абсолютное извлечение» означает выход на заключительном этапе аналитического процесса для аналита, деленный на количество аналита в исходной пробе, выраженное в процентах;
2. «точность» означает близость соответствия между результатом испытаний и принятым истинным эталонным значением, определяемым путем оценки истинности и прецизионности [(](#_bookmark28)[[14]](#footnote-14)[)](#_bookmark28);
3. «альфа(α)-ошибка» означает вероятность того, что испытуемый образец соответствует требованиям, даже если получен несоответствующий результат измерения;
4. «аналит» означает компонент анализируемой системы;
5. «разрешенное вещество» означает фармакологически активное вещество, разрешенное для использования у сельскохозяйственных животных в соответствии с Директивой 2001/82/ЕС Европейского парламента и Совета [(](#_bookmark29)[[15]](#footnote-15)[)](#_bookmark29) ;
6. «бета(β)-ошибка» означает вероятность того, что тестируемый образец действительно не соответствует требованиям, даже если был получен соответствующий результат измерения;
7. «систематическая погрешность» означает разницу между расчетным значением результата теста и принятым эталонным значением;
8. «калибровочный эталон» означает прослеживаемый эталон для измерений, который представляет количество интересующего вещества таким образом, что его значение связывается с эталонной базой;
9. «сертифицированный эталонный материал» (СЭМ) означает эталонный материал, сопровождаемый документацией, выпущенной уполномоченным органом и обеспечивающий одно или несколько заданных значений свойств с соответствующими неопределенностями и трассируемостью с применением допустимых процедур [(](#_bookmark30)[[16]](#footnote-16)[)](#_bookmark30);
10. «совместная хроматография» означает метод, при котором неизвестное вещество наносится на хроматографическую подложку вместе с одним или несколькими известными соединениями в расчете на то, что относительное поведение неизвестного и известного веществ поможет в идентификации неизвестного;
11. «совместное исследование» означает анализ одного и того же образца (образцов) с использованием одного и того же метода для определения рабочих характеристик метода в разных лабораториях, когда исследование позволяет рассчитать случайную ошибку измерения и лабораторную погрешность для используемого метода;

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/87 |

1. «подтверждающий метод» означает метод, который предоставляет полную или дополнительную информацию, позволяющую однозначно идентифицировать вещество и, при необходимости, количественно определить его одним из следующих способов:
   1. на максимальном уровне остатка или максимальном уровне для разрешенных веществ;
   2. в контрольных точках действия (КТД) по запрещенным или неразрешенным веществам, в отношении которых установлен контрольный пункт действия;
   3. в концентрации настолько низкой, насколько это разумно достижимо для запрещенного или неразрешенного вещества, в отношении которого не установлена точка отсчета для принятия мер;
2. «коэффициент охвата (k)» означает число, которое выражает желаемый уровень достоверности и связано с расширенной неопределенностью измерения;
3. «Предел принятия решения для подтверждения (CCα)» означает предел, при котором и выше которого можно сделать вывод с вероятностью α о том, что образец не соответствует требованиям, а значение 1 – α означает статистическую достоверность того, что допустимый предел был превышен, в процентах;
4. «способность обнаружения скринингом (CCβ)» означает наименьшее содержание аналита, которое может быть обнаружено или определено количественно в образце с вероятностью ошибки β:
   1. в случае запрещенных или неразрешенных фармакологически активных веществ CCβ является самой низкой концентрацией, при которой метод способен обнаружить или количественно определить со статистической достоверностью 1 – β образцы, содержащие остатки запрещенных или неразрешенных веществ;
   2. в случае разрешенных веществ CCβ – это концентрация, при которой метод способен обнаруживать концентрации ниже допустимого предела со статистической достоверностью 1 – β;
5. «обогащенный материал образца» означает образец, обогащенный известным количеством анализируемого вещества, подлежащего обнаружению или количественному определению;
6. «межлабораторное исследование» означает организацию, проведение и оценку испытаний одного и того же образца (образцов) двумя или более лабораториями в соответствии с заранее установленными условиями для оценки результатов испытаний либо в виде совместного исследования, либо проверки квалификации;
7. «внутренний стандарт (ВС)» означает вещество, не содержащееся в образце и имеющее физико-химические свойства, максимально схожие со свойствами анализируемого вещества, подлежащего идентификации или количественному определению;
8. «интересующий уровень» означает концентрацию вещества или анализируемого вещества в образце, которая является существенной для определения его соответствия законодательству в отношении:
   1. максимальный остаточный уровень или максимальный уровень разрешенных веществ в соответствии с Регламентом Комиссии (ЕС) № 124/2009 [(](#_bookmark32)[[17]](#footnote-17)[)](#_bookmark32) и Регламентом Комиссии (ЕС) № 37/2010 [(](#_bookmark33)[[18]](#footnote-18)[)](#_bookmark33);
   2. контрольные точки действия для запрещенных или неразрешенных веществ, для которых контрольная точка действия установлена в соответствии с Регламентом (ЕС) 2019/1871;
   3. концентрация настолько низкая, насколько это аналитически достижимо для запрещенного или неразрешенного вещества, в отношении которого не установлена контрольная точка действия для принятия мер;
9. «низший калиброванный уровень» (НКУ) означает наименьшую концентрацию, по которой была откалибрована измерительная система;
10. «матрица» означает материал, из которого берется образец;
11. «эффект матрицы» означает разницу в аналитической реакции между стандартом, растворенным в растворителе, и стандартом, соответствующим матрице, либо без коррекции с использованием внутреннего стандарта, либо с коррекцией с использованием внутреннего стандарта;

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/88 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

1. «стандарт, соответствующий матрице» означает холостую (т.е. свободную от аналита) матрицу, к которой после переработки пробы добавляется аналит в диапазоне концентраций;
2. «обогащенный матрицей стандарт» означает холостую (т.е. свободную от аналита) матрицу, в которую перед экстракцией растворителем и переработкой проб добавляют аналит в диапазоне концентраций;
3. «измеряемая величина» означает конкретную величину, подлежащую измерению;
4. «неопределенность измерения» – неотрицательный параметр, связанный с результатом измерения, который характеризует разброс значений, которые можно обоснованно отнести к измеряемой величине на основе использованной информации;
5. «критерии эффективности» означают требования к характеристике эффективности, в соответствии с которыми можно судить о том, что аналитический метод подходит для предполагаемого использования и дает надежные результаты;
6. «прецизионность» означает степень совпадения между независимыми результатами испытаний, полученными в оговоренных условиях, и выражается в виде стандартного отклонения или коэффициента вариации результатов испытаний;
7. «качественный метод» означает аналитический метод, который обнаруживает или идентифицирует вещество или группу веществ на основе их химических, биологических или физических свойств;
8. «количественный метод» означает аналитический метод, который определяет количество или массовую долю вещества таким образом, чтобы ее можно было выразить в виде числового значения в соответствующих единицах;
9. «извлечение» означает количество аналита с поправкой на восстановление, деленное на количество обогащенного аналита в образце матрицы, выраженное в процентах;
10. «коррекция восстановления» означает использование внутренних стандартов, использование калибровочной кривой матрицы, а также использование поправочного коэффициента восстановления, а также сочетание этих подходов;
11. «эталонный материал» означает материал, достаточно однородный и стабильный по отношению к одному или нескольким указанным свойств, которые были признаны пригодными для использования по назначению в процессе измерения или при проверке номинальных свойств [(](#_bookmark36)[[19]](#footnote-19)[)](#_bookmark36) ;
12. «относительный эффект матрицы» означает разницу в аналитическом отклике между стандартом, растворенным в растворителе, и стандартом, соответствующим матрице, с поправкой на внутренний стандарт;
13. «повторяемость» означает прецизионность в условиях, когда независимые результаты испытаний получены одним и тем же методом на идентичных объектах испытаний в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования в короткие промежутки времени;
14. «воспроизводимость» означает точность в условиях, когда результаты испытаний получены одним и тем же методом на идентичных объектах испытаний в разных лабораториях разными операторами с использованием разного оборудования [(](#_bookmark37)[[20]](#footnote-20)[)](#_bookmark37) ;
15. «надежность» означает восприимчивость аналитического метода к изменениям экспериментальных условий, при которых метод может применяться в том виде, в каком он представлен, или с указанными незначительными модификациями;
16. «метод скрининга» означает метод, используемый для скрининга вещества или класса веществ на интересующем уровне;
17. «целевая концентрация скрининга» (ЦКС) означает концентрацию ниже или равную CCβ, при которой скрининговое измерение классифицирует образец как потенциально несоответствующий «положительный результат скрининга» и инициирует подтверждающее тестирование;
18. «селективность» означает способность метода различать измеряемый аналит и другие вещества;
19. «одно лабораторное исследование» или «внутренняя валидация» означает аналитическое исследование, в котором участвует одна лаборатория с использованием одного метода для анализа одного и того же или разных испытуемых материалов в различных условиях в течение обоснованных длительных интервалов времени;

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/89 |

1. «добавление стандарта» означает процедуру, при которой одна часть образца анализируется как таковая, а известные количества стандартного аналита добавляются к другим пробам перед анализом;
2. «стандартный аналит» означает аналит с известным и сертифицированным содержанием и чистотой, который будет использоваться в качестве эталона в анализе;
3. «вещество» означает материю постоянного состава, характеризуемую составляющими ее объектами и определенными физическими свойствами;
4. «испытуемая часть» означает количество материала, взятого из образца, на котором проводится испытание или наблюдение;
5. «истинность» означает близкое соответствие между средним значением, полученным из большой серии результатов испытаний, и принятым эталонным значением;
6. «единицы» означают те единицы, которые описаны в ISO 80000 [(](#_bookmark41)[[21]](#footnote-21)[)](#_bookmark41) и Директиве Совета 80/181/ЕЭС [(](#_bookmark42)[[22]](#footnote-22)[)](#_bookmark42);
7. «валидация» означает демонстрацию путем проверки и предоставления эффективных доказательств того, что конкретные требования конкретного предполагаемого использования выполняются [(](#_bookmark43)[[23]](#footnote-23)[)](#_bookmark43) в рамках одного лабораторного исследования или совместного исследования;
8. «внутрилабораторная воспроизводимость» или «промежуточная прецизионность/внутрилабораторная воспроизводимость» означает прецизионность измерения при наборе внутрилабораторных условий в конкретной лаборатории.

*Статья 3*

# Методы анализа

Государства-члены должны обеспечить, чтобы пробы, взятые в соответствии со статьей 34 Регламента (ЕС) 2017/625, анализировались с использованием методов, соответствующих следующим требованиям:

1. они задокументированы в инструкциях по тестированию, предпочтительно в соответствии с Приложениями к ISO 78-2:1999 Химия. Структура стандартов. Часть 2: Методы химического анализа [(](#_bookmark44)[[24]](#footnote-24)[)](#_bookmark44) ;
2. они соответствуют критериям эффективности и другим требованиям к аналитическим методам, изложенным в Главе 1 Приложения I к настоящим Правилам;
3. они прошли валидацию в соответствии с требованиями, изложенными в главах 2 и 4 Приложения I к настоящим Правилам;
4. они позволяют обеспечить соблюдение контрольных точек для действий, изложенных в Регламенте (ЕС) 2019/1871, определение наличия запрещенных и неразрешенных веществ и обеспечение соблюдения максимальных уровней (МУ), которые были установлены на основе Регламента (EEC) № 315/93 и Регламента (EC) № 124/2009, а также максимально допустимые уровни остатков (МУО), которые были установлены на основе Регламентов (EC) № 1831/2003 и (EC) № 470/2009.

*Статья 4*

# Контроль качества

Государства-члены должны обеспечивать качество результатов анализов, проводимых в соответствии с Регламентом (ЕС) 2017/625, в частности, путем мониторинга результатов испытаний или калибровки в соответствии с ISO/IEC 17025:2017 (Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий) и с требованиями по контролю качества при рутинном анализе, изложенными в Главе 3 Приложения I к настоящим Правилам.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/90 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

*Статья 5*

# Интерпретация результатов

1. Результат анализа считается несоответствующим, если он равен или превышает предел принятия решения для подтверждения (CCα).
2. Для разрешенных веществ, для которых установлен МУО или МУ, предел принятия решения для подтверждения (CCα) должен представлять собой концентрацию, при которой и выше которой можно со статистической достоверностью численного значения 1–α решить, что разрешенный предел превышен.
3. Для неразрешенных или запрещенных веществ или разрешенных веществ, для которых не установлены МУО или МУ для конкретного вида или продукта, пределом принятия решения для подтверждения (CCα) должен быть самый низкий уровень концентрации, при котором может быть принято решение со статистической достоверностью с числовым значением 1 – α, что данный аналит присутствует.
4. Для неразрешенных или запрещенных фармакологически активных веществ ошибка α должна составлять 1 % или менее. Для всех других веществ погрешность α должна составлять 5% или менее.

*Статья 6*

# Методы отбора проб

Государства-члены должны гарантировать, что образцы отбираются, перерабатываются и маркируются в соответствии с подробными методами отбора образцов, изложенными в Приложении II к настоящему Регламенту.

*Статья 7*

# Отмены и переходные меры

Решения 2002/657/ЕС и 98/179/ЕС отменяются с даты вступления в силу настоящего Регламента.

Однако до 10 июня 2026 г. требования, изложенные в пунктах 2 и 3 Приложения I к Решению 2002/657/ЕС, продолжают применяться к методам, которые прошли валидацию до даты вступления в силу настоящего Регламента.

*Статья 8*

# Вступление в силу

Настоящий Регламент вступает в силу на двадцатый день после публикации в *Официальном журнале Европейского Союза*.

Настоящий Регламент считается обязательным для исполнения (в полном объеме) и непосредственно применимым ко всем Государствам-членам.

Брюссель, 22 марта 2021 г.

*От имени Комиссии*

*Председатель*

Урсула ФОН ДЕР ЛЯЙЕН

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/91 |

*ПРИЛОЖЕНИЕ I*

ГЛАВА 1

# КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ДРУГИЕ ТРЕБОВАНИЯ К АНАЛИТИЧЕСКИМ МЕТОДАМ

* 1. **Требования к методам скрининга**
     1. *Категории подходящих методов скрининга*

В качестве подходящих методов скрининга должны использоваться качественные, полуколичественные или количественные методы.

* + 1. *Требования к биологическим, биохимическим или физико-химическим методам скрининга*

Для запрещенных или неразрешенных веществ CCβ должен быть настолько низким, насколько это разумно достижимо, и в любом случае ниже контрольной точки действия (КТД) для веществ, для которых КТД установлены в соответствии с Регламентом (ЕС) 2019/1871.

Для разрешенных фармакологически активных веществ CCβ должен быть ниже, чем МУО или МУ.

Для целей скрининга должны использоваться только те аналитические методы, для которых можно продемонстрировать документально прослеживаемым образом, что они валидированы и имеют долю ложных соответствий ниже или равную 5% (β-ошибка). В случае подозрения на несоответствие результата этот результат должен быть подтвержден подтверждающим методом.

Методы количественного скрининга, используемые как для скрининга, так и для подтверждения, должны соответствовать тем же требованиям к точности, диапазону и воспроизводимости, как описано в 1.2.2.1 и 1.2.2.2.

# Требования к подтверждающим методам

* + 1. *Общие требования к подтверждающим методам*

Для запрещенных или неразрешенных веществ CCα должен быть настолько низким, насколько это разумно достижимо. Для запрещенных или неразрешенных веществ, для которых в соответствии с Регламентом (ЕС) 2019/1871 установлена КТД, CCα должен быть ниже или равен контрольной точке для действия.

Для разрешенных веществ CCα должен быть выше МУО или МУ, но как можно ближе к нему.

В целях подтверждения должны использоваться только аналитические методы, для которых можно документально прослеживаемым образом продемонстрировать, что они валидированы и имеют ложный уровень несоответствия (α-ошибка), который меньше или равен 1% для запрещенных или неразрешенных веществ или меньше или равен 5% для разрешенных веществ.

Подтверждающие методы должны предоставлять информацию о структурно-химическом составе анализируемого вещества. Следовательно, подтверждающие методы, основанные только на хроматографическом анализе без использования масс-спектрометрического обнаружения, сами по себе не подходят для использования в качестве подтверждающих методов для запрещенных или неразрешенных фармакологически активных веществ. В случае, если масс-спектрометрия не подходит для разрешенных веществ, можно использовать другие методы, например, ВЭЖХ-ДМД и -ФЛД или их комбинацию.

Если требуется в соответствии с подтверждающим методом, соответствующий внутренний стандарт должен быть добавлен к пробе для анализа в начале процедуры экстракции. В зависимости от наличия, либо меченые стабильными изотопами формы анализируемого вещества, которые особенно подходят для масс-спектрометрического обнаружения, либо соединения-аналоги, которые структурно тесно связаны с аналитом. Если нельзя использовать подходящий внутренний стандарт, идентификацию анализируемого вещества предпочтительно следует подтверждать совместной хроматографией [(](#_bookmark46)см.[[25]](#footnote-25)[)](#_bookmark46). В этом случае должен быть получен только один пик, увеличенная высота пика (или площадь) которого эквивалентна количеству добавленного аналита. Если это невозможно, следует использовать стандарты, соответствующие матрице или усиленные матрицей.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/92 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

* + 1. *Общие критерии эффективности подтверждающих методов*
       1. Истинность по восстановлению

Для повторных анализов сертифицированного эталонного материала отклонение экспериментально определенной скорректированной средней массовой доли извлечения от сертифицированного значения должно соответствовать минимальным диапазонам истинности, указанным в Таблице 1.

*Таблица 1*

# Минимальная истинность количественных методов

|  |  |
| --- | --- |
| Массовая доля | Диапазон |
| ≤ 1 мкг/кг | от –50% до +20% |
| от > 1 мкг/кг до 10 мкг/кг | от –30% до +20% |
| ≥ 10 мкг/кг | от –20 % до +20 % |

При отсутствии сертифицированных эталонных материалов допустимо, чтобы истинность измерений оценивалась другими способами, такими как использование материалов с присвоенными значениями из межлабораторных исследований или путем добавления известных количеств аналита(-ов) к холостой матрице.

* + - 1. Прецизионность

Коэффициент вариации (CV) для повторного анализа эталонного или обогащенного материала в условиях внутрилабораторной воспроизводимости не должен превышать уровень, рассчитанный по уравнению Горвица. Уравнение:

CV = 2 (1 – 0,5 log C)

где C представляет собой массовую долю, выраженную в виде степени числа 10 (например, 1 мг/г = 10-3). Для массовых долей ниже 120 мкг/кг применение уравнения Горвица дает неприемлемо высокие значения. Поэтому допустимый максимальный коэффициент вариации не должен превышать значения, представленные в таблице 2.

*Таблица 2*

# Приемлемый коэффициент вариации

|  |  |
| --- | --- |
| **Массовая доля** | **CV воспроизводимости (%)** |
| **> 1 000 мкг/кг** | 16 (адаптировано из уравнения Горвица) |
| **> 120 мкг/кг – 1000 мкг/кг** | 22 (адаптировано из уравнения Горвица) |
| **10–120 мкг/кг** | 25 [\*](#_bookmark48) |
| **< 10 мкг/кг** | 30 [\*](#_bookmark48) |

[\*](#_bookmark47) Представленный CV (%) является ориентировочным и должен быть настолько низким, насколько это возможно.

Для анализов, проводимых в условиях повторяемости, коэффициент вариации в условиях повторяемости не должен превышать двух третей значений, перечисленных в таблице 2.

* + 1. *Требования к хроматографическому разделению*

Для жидкостной (ЖХ) или газовой хроматографии (ГХ) минимально допустимое время удерживания исследуемого(ых) аналита(ов) должно быть в два раза больше времени удерживания, соответствующего пустому объему колонки. Время удерживания аналита в экстракте должно соответствовать калибровочному стандарту, стандарту, согласованному с матрицей, или стандарту, усиленному матрицей, с допуском ± 0,1 минуты. Для быстрой хроматографии, где время удерживания менее 2 минут, допускается отклонение менее 5% от времени удерживания.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/93 |

В случае использования внутреннего стандарта отношение хроматографического времени удерживания аналита к внутреннему стандарту, то есть относительное время удерживания аналита, должно соответствовать соотношению калибровочного стандарта, стандарта, согласованного с матрицей или усиленного матрицей, с максимальным отклонением 0,5 % для газовой хроматографии и 1 % для жидкостной хроматографии для методов, валидированных с даты вступления в силу настоящих Правил.

* + 1. *Особые критерии эффективности для масс-спектрометрии*
       1. Масс-спектрометрическое обнаружение

Масс-спектрометрическое детектирование должно осуществляться с использованием некоторых из следующих вариантов:

* + - * 1. запись масс-спектров полного сканирования (ПС);
        2. контроль заданных ионов (КЗИ);
        3. методы последовательной масс-спектрометрии (МСn), например, контроль селективных реакций (КСР);
        4. сочетание методов масс-спектрометрии (МС) или последовательной масс-спектрометрии (МСn ) с соответствующими режимами ионизации.

Подходят как масс-спектрометрия низкого разрешения (МСНР, разрешение на единицу массы), так и масс-спектрометрия высокого разрешения (МСВР), включая, например, секторы двойной фокусировки, времяпролетные инструменты (ВП) и инструменты орбитрэп.

Для подтверждения идентичности аналита в масс-спектрометрии высокого разрешения (МСВР) отклонение массы всех диагностических ионов должно быть ниже 5 частей на миллион (или в случае с m/z < 200 ниже 1 мДа). Исходя из этого, эффективное разрешение должно быть выбрано соответствующим цели, и разрешение обычно должно быть выше 10 000 для всего диапазона массы при 10% впадины или 20 000 для полной ширины на половине максимума (ПШПМ).

Когда масс-спектрометрическое определение выполняется путем регистрации спектров полного сканирования (как МСНР, так и МСВР), подходят только диагностические ионы с относительной интенсивностью более 10% в эталонном спектре калибровочного стандарта, стандарта, согласованного с матрицей, или стандартов, обогащенных матрицей. Диагностические ионы должны включать молекулярный ион (если он присутствует с интенсивностью ≥ 10 % основного пика) и характеристические фрагменты или ионы-продукты.

Выбор иона-предшественника: Когда масс-спектрометрическое определение проводят путем фрагментации после отбора ионов-предшественников, отбор ионов-предшественников проводят с разрешением в единицу массы или выше. Выбранный ион-предшественник должен быть молекулярным ионом, характерными аддуктами молекулярного иона, характерными ионами-продуктами или одним из их изотопных ионов. В случае, если выбор предшественника имеет окно массового выбора более одного дальтона (например, в случае независимого сбора данных), метод рассматривается как подтверждающий анализ полного сканирования.

Фрагментные ионы и ионы-продукты: Выбранные фрагментные ионы или ионы-продукты должны быть диагностическим фрагментом для измеряемого аналита/продукта. Неселективные переходы (например, катион тропилия или потеря воды) должны быть по возможности исключены. Содержание диагностических ионов должно быть определено по площади пика или высоте интегрированных выделенных ионных хроматограмм. Это также применимо, когда для идентификации используются измерения полного сканирования. Отношение сигнал/шум (S/N) всех диагностических ионов должно быть больше или равно трем к одному (3:1).

Относительные интенсивности: Относительная интенсивность диагностических ионов (соотношение ионов) выражается в процентах от интенсивности наиболее распространенного иона или перехода. Соотношение ионов должно быть определено путем сравнения спектров или путем интегрирования сигналов выделенных следов массы ионов. Соотношение ионов в анализируемом веществе, подлежащем подтверждению, должно соответствовать соотношению ионов в стандартах, согласованных с матрицей, стандартах, обогащенных матрицей, или стандартных растворах при сопоставимых концентрациях, измеренных в тех же условиях, с относительным отклонением ± 40 %.

Для всех масс-спектрометрических анализов должно быть определено по крайней мере одно соотношение ионов. Это предпочтительно ионы, полученные в ходе одного сканирования, но ионы также могут возникать в результате различных сканирований одного и того же ввода (т. е. полное сканирование и фрагментированное сканирование).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/94 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

* + - 1. Идентификация

Для выбора адекватных режимов сбора данных и критериев оценки должна использоваться система точек идентификации. Для подтверждения идентичности веществ в матрице, для которых установлен МУО (разрешенное использование), требуется минимум 4 точки идентификации. Для неразрешенных или запрещенных веществ требуется 5 точек идентификации. Одна точка может быть результатом хроматографического разделения. В таблице 3 показано количество точек идентификации, которые дает каждый из методов. Чтобы соответствовать требованию к идентификационным баллам, необходимым для подтверждения, можно добавить идентификационные баллы, полученные с помощью различных методов.

* + - * 1. Все масс-спектрометрические анализы должны сочетаться с методом разделения, который демонстрирует достаточную способность разделения и селективность для конкретного применения. Подходящими методами разделения являются, среди прочего, жидкостная и газовая хроматография, капиллярный электрофорез (КЭ) и сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ). В случае аналита, который представляет собой изобар или изомерное соединение, приемлемость времени удерживания (т. е. ± 0,5 % в ГХ и ± 1 % в ЖХ и СФХ) является обязательной для подтверждения его идентификации.
        2. Для достижения минимального количества точек идентификации можно комбинировать максимум три отдельных метода.
        3. Различные режимы ионизации (например, электронная ионизация и химическая ионизация) считаются разными методами.

*Таблица 3*

# Идентификационные баллы для каждого метода

|  |  |
| --- | --- |
| Метод: | Идентификационные баллы |
| Разделение (режим ГХ, ЖХ, СФХ, КЭ) | 1 |
| Ион МСНР | 1 |
| Выбор иона-предшественника в диапазоне масс <±0,5 Да | 1 (непрямое) |
| Ион-продукт МСНРn | 1,5 |
| Ион МСВР | 1,5 |
| Ион-продукт МСВРn | 2,5 |

*Таблица 4*

# Примеры количества точек идентификации конкретных приемов и комбинаций приемов (n = целое число)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Метод: | Разделение | Количество ионов | Опознавательные пункты |
| ГХ-МС (ЭУ или ХИ) | ГХ | n | 1 + n |
| ГХ-МС (ЭИ и ХИ) | ГХ | 2 (ЭИ) + 2 (КИ) | 1 + 4 = 5 |
| ГХ-МС (ЭИ или ХИ) 2 производных | ГХ | 2 (производная А) + 2 (производная В) | 1 + 4 = 5 |
| ЖХ-МС | ЖХ | н (МС) | 1 + n |
| ГХ или ЖХ-МС/МС | ГХ или ЖХ | 1 предшественник + 2 продукта | 1 + 1 + 2 × 1,5 = 5 |
| ГХ или ЖХ-МС/МС | ГХ или ЖХ | 2 предшественника + 2 продукта | 1 + 2 + 2 × 1,5 = 6 |
| ГХ- или ЖХ-МС3 | ГХ или ЖХ | 1 предшественник + 1 продукт МС2 + 1 продукт МС3 | 1 + 1 + 1,5 + 1,5 = 5 |
| ГХ- или ЖХ-МСВР | ГХ или ЖХ | n | 1 + n × 1,5 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/95 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ГХ- или ЖХ-МСВР/МС | ГХ или ЖХ | 1 предшественник (диапазон масс <±0,5 Да) + 1 продукт | 1 + 1 + 2,5 = 4,5 |
| ГХ- или ЖХ-МСВР и МСВР/МС | ГХ или ЖХ | 1 полный ион сканирования + 1 ион продукта МСВР [a](#_bookmark50) | 1 + 1,5 + 2,5 = 5 |
| ГХ- и ЖХ-МС | ГХ и ЖХ | 2 иона (ГХ-МС) + 1 ион (ЖХ-МС) | 1 + 1 + 2 + 1 + 1 = 6 |
| [a Не определяется никакой дополнительной идентификационной точки для выбора иона-предшественника, если этот ион-предшественник является тем же ионом (или](#_bookmark49) аддуктом, или изотопом), что и ион МСВР, отслеживаемый при полном сканировании. | | | |

* + 1. *Особые критерии эффективности для определения аналита с помощью жидкостной хроматографии с использованием методов обнаружения, отличных от масс-спектрометрии*

Только для разрешенных веществ следующие методы могут использоваться в качестве альтернативы методам, основанным на масс-спектрометрии, при условии, что выполняются соответствующие критерии для этих методов:

1. спектрофотометрия с обнаружением диодной матрицы полного сканирования (ДМД) в случае использования с ВЭЖХ;
2. спектрофотометрия с обнаружением флуоресценции (ФЛД) в случае использования с ВЭЖХ.

Жидкостная хроматография с обнаружением в УФ/видимом диапазоне (одна длина волны) сама по себе не подходит для использования в качестве подтверждающего метода.

* + - 1. Критерии эффективности для спектрофотометрии с диодной матрицей полного сканирования

Должны выполняться критерии эффективности хроматографического разделения, включенные в главу 1.2.3.

Максимумы поглощения в УФ-спектре аналита должны быть на тех же длинах волн, что и у калибровочного стандарта в матрице, в пределах максимального запаса, определяемого разрешающей способностью системы обнаружения. Для обнаружения диодной матрицы этот максимальный запас обычно находится в пределах ± 2 нм. Спектр анализируемого вещества выше 220 нм для тех частей двух спектров, где относительное поглощение больше или равно 10 %, не должен заметно отличаться от спектра калибровочного стандарта. Этот критерий выполняется, когда, во-первых, присутствуют одинаковые максимумы и, во-вторых, когда разница между двумя спектрами ни в какой точке не превышает 10 % оптической плотности калибровочного стандарта. В случае использования компьютерной библиотеки, поиска и сопоставления сравнение спектральных данных официальных образцов с данными калибровочного раствора должно превышать критический коэффициент совпадения. Этот фактор должен быть определен в процессе валидации для каждого аналита на основе спектров, для которых выполняются описанные выше критерии. Должна быть проверена изменчивость спектров, вызванная матрицей образца и работой детектора.

* + - 1. Критерии эффективности спектрофотометрии с обнаружением флуоресценции

Должны выполняться критерии эффективности хроматографического разделения, включенные в главу 1.2.3.

Выбор длин волн возбуждения и испускания в сочетании с условиями хроматографии должен осуществляться таким образом, чтобы свести к минимуму влияние мешающих компонентов в экстрактах холостой пробы. Между длинами волн возбуждения и излучения должно быть не менее 50 нанометров.

Максимум ближайшего пика на хроматограмме должен быть отделен от обозначенного пика анализируемого вещества не менее чем на один полный пик шириной 10% от максимальной высоты пика аналита.

Это относится к молекулам, которые проявляют природную флуоресценцию, и к молекулам, которые проявляют флуоресценцию после трансформации или дериватизации.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/96 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

ГЛАВА 2

# ВАЛИДАЦИЯ

* 1. **Рабочие характеристики, подлежащие определению для аналитических методов**

Посредством валидации метода должно быть продемонстрировано, что аналитический метод соответствует критериям, применимым к соответствующим рабочим характеристикам. Различные цели контроля требуют различных категорий методов. Таблица 5 определяет, какие рабочие характеристики должны быть проверены для того или иного типа метода. Дальнейшее объяснение каждого параметра дается в этой главе.

*Таблица 5*

# Классификация аналитических методов по характеристикам, которые необходимо определить

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Метод | Подтверждение | | Скрининговое исследование | | |
| Качественное | Количественное | Качественное | Полуколичественное | Количественное |
| Вещества | A | A, B | A, B | A, B | A, B |
| Идентификация в соответствии с 1.2 | x | x |  |  |  |
| CCα | x | x |  |  |  |
| CCβ | - |  | x | x | x |
| Истинность | x |  |  | x |
| Прецизионность | x |  | (х) | x |
| Относительный матричный эффект/абсолютное извлечение [\*](#_bookmark54) | x |  |  | x |
| Высокая селективность (специфичность) | x | x | x | x |
| Стабильность[#](#_bookmark53) | x | x | x | x |
| Прочность | x | x | x | x |
| x: Требуется доказать посредством валидации, что требования к эксплуатационным характеристикам соблюдены.  (x) Требования к точности главы 1.2.2.2 не должны выполняться для полуколичественных методов скрининга. Однако прецизионность должна быть определена, чтобы доказать пригодность метода для избежания ложных аналитических результатов.  A: запрещенные или неразрешенные вещества  B: разрешенные вещества  [# Если данные о стабильности аналитов в матрице доступны из научной литературы или из другой лаборатории, нет необходимости в повторном определении этих данных](#_bookmark52) соответствующей лабораторией. Однако ссылка на доступные данные о стабильности аналитов в решении приемлема только при идентичных условиях.  [\*](#_bookmark51) Актуально для методов МС, чтобы доказать посредством валидации выполнение требований к рабочим характеристикам. Относительный матричный эффект метода должен быть определен, если этот эффект не оценивался в ходе процедуры валидации. Абсолютное восстановление метода должно быть определено, когда не используется внутренний стандарт или калибровка, усиленная матрицей. | | | | | |

# Достоверность, повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость

В этой главе приведены примеры и ссылки на процедуры проверки. Можно использовать другие подходы для демонстрации того, что метод соответствует критериям эффективности, при условии, что они обеспечивают такой же уровень и качество информации.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/97 |

* + 1. *Традиционная валидация*

Расчет параметров в соответствии с обычными методами требует проведения нескольких отдельных экспериментов. Каждая характеристика эффективности должна быть определена для каждого существенного изменения (см. раздел 2.4). Для методов с несколькими аналитами можно одновременно анализировать несколько аналитов, если исключены возможные значимые помехи. Аналогичным образом можно определить несколько рабочих характеристик. Поэтому, чтобы свести к минимуму рабочую нагрузку, рекомендуется максимально сочетать эксперименты (например, повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость со специфичностью, анализ холостой пробы для определения предела принятия решения для подтверждения и тестирование специфичности).

* + - 1. Достоверность на основе сертифицированного эталонного материала

Предпочтительно определять истинность аналитического метода с помощью сертифицированного эталонного материала (СЭМ). Процедура для этого описана в ISO 5725-4:1994 [(](#_bookmark58)[[26]](#footnote-26)[)](#_bookmark58).

Пример приведен ниже:

* + - * 1. Проанализируйте шесть повторов СЭМ в соответствии с инструкциями по тестированию для метода;
        2. Определите концентрацию аналита, присутствующего в каждом образце повторов;
        3. Рассчитайте среднее значение, стандартное отклонение и коэффициент вариации (%) *для этих шести повторов*;
        4. Рассчитайте истинность, разделив обнаруженную среднюю концентрацию на сертифицированное значение (измеренное как концентрация) и умножив на 100, чтобы выразить результат в процентах.

Достоверность (%) = (средняя обнаруженная концентрация с поправкой на восстановление) × 100/сертифицированное значение

* + - 1. Достоверность на основе укрепленных образцов

Если сертифицированный эталонный материал недоступен, истинность метода должна быть определена экспериментально с использованием укрепленной пустой матрицы, как минимум, в соответствии со следующей схемой:

* + - * 1. Для методов, валидированных с даты вступления в силу настоящего Регламента, выбирают контрольный материал и обогащают в концентрации:

0,5 [(](#_bookmark59)[[27]](#footnote-27)[)](#_bookmark59), в 1,0 и 1,5 раза больше КТД; или

0,1 [(](#_bookmark60)[[28]](#footnote-28)[)](#_bookmark60), 1,0 и 1,5 МУО или МУ для разрешенных веществ; или

1,0, 2,0 и 3,0-кратный размер НКУ для запрещенных веществ (для которых не установлена КТД).

* + - * 1. На каждом уровне анализ должен быть выполнен в шести повторностях.
        2. Проанализируйте образцы.
        3. Рассчитайте концентрацию, обнаруженную в каждом образце.
        4. Рассчитайте истинность для каждого образца, используя приведенное ниже уравнение, а затем вычислите среднюю истинность и коэффициент вариации для шести результатов при каждом уровне концентрации.

Истинность (%) = (средняя обнаруженная концентрация с поправкой на восстановление) × 100/уровень обогащения

Для методов для разрешенных веществ, валидированных до даты применения настоящего Регламента, достаточно определения истинности метода с использованием 6 обогащенных аликвот в 0,5, 1,0 и 1,5 раза больше МУО или МУ.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/98 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

* + - 1. Повторяемость
         1. Для методов, валидированных с даты вступления в силу настоящих Правил, готовят набор образцов идентичных бланковых матриц одного и того же вида. Они должны быть обогащены аналитом для получения концентраций, эквивалентных:

0,5- [(](#_bookmark64)[[29]](#footnote-29)[)](#_bookmark64), 1,0- и 1,5-кратному значению КТД, или

0,1- [(](#_bookmark65)[[30]](#footnote-30)[)](#_bookmark65), 1,0- и 1,5-кратному значению МУО или МУ для разрешенных веществ, или

1,0, 2,0 и 3,0-кратному значению НКУ для неразрешенных или запрещенных веществ в случае, если КТД не применяется.

* + - * 1. На каждом уровне анализ должен быть выполнен не менее чем в шести повторах.
        2. Проанализируйте образцы.
        3. Рассчитайте концентрацию, обнаруженную в каждом образце.
        4. Рассчитайте среднюю концентрацию, стандартное отклонение и коэффициент вариации (%) обогащенных образцов.
        5. Повторите эти шаги как минимум в двух других случаях.
        6. Рассчитайте общие средние концентрации, стандартные отклонения (путем усреднения квадрата стандартного отклонения отдельных случаев и извлечения из него квадратного корня) и коэффициенты вариации для обогащенных образцов.

Для методов для разрешенных веществ, валидированных до даты вступления в силу настоящего Регламента, достаточно определения повторяемости с обогащенными матрицами в концентрациях в 0,5, 1,0 и 1,5 раза больше МУО или МУ.

В качестве альтернативы расчет повторяемости можно выполнить в соответствии со стандартом ISO 5725-2:2019 [(](#_bookmark66)[[31]](#footnote-31)[)](#_bookmark66).

* + - 1. Межлабораторная воспроизводимость;
         1. Для валидаций, проводимых после даты вступления в силу настоящего Регламента, подготовьте набор образцов указанного испытуемого материала (идентичных или разных матриц), обогащенных аналитом (веществами), чтобы получить концентрации, эквивалентные:

0,5(5), 1,0 и 1,5-кратному значению КТД, или

0,1(6), 1,0 и 1,5-кратному значению МУО или МУ для разрешенных веществ, или

1,0, 2,0 и 3,0-кратному значению НКУ для неразрешенных или запрещенных веществ в случае, если КТД не применяется.

* + - * 1. Выполните анализ на каждом уровне концентрации, по крайней мере, в шести повторах холостого материала.
        2. Проанализируйте образцы.
        3. Рассчитайте концентрацию, обнаруженную в каждом образце.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.5.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/99 |

* + - * 1. Повторите эти шаги по крайней мере еще в двух случаях с разными партиями холостого материала, разными операторами и как можно большим числом различных условий окружающей среды, например, с разными партиями реагентов, растворителей, разными комнатными температурами, разными инструментами или изменением других параметров.
        2. Определите среднюю концентрацию, стандартное отклонение и коэффициент вариации (%) обогащенных образцов.

Для методов для разрешенных веществ, валидированных до даты вступления в силу настоящего Регламента, достаточно определения внутрилабораторной воспроизводимости с обогащенными матрицами в концентрациях в 0,5, 1,0 и 1,5 раза больше МУО или МУ.

В качестве альтернативы расчет внутрилабораторной воспроизводимости/промежуточной прецизионности также может быть выполнен в соответствии с ISO 5725-2:2019, ISO 11843-1:1997 [(](#_bookmark69)[[32]](#footnote-32)[)](#_bookmark69), Кодекс CAC/GL 59-2006 [(](#_bookmark70)[[33]](#footnote-33)[)](#_bookmark70).

* + 1. *Валидация по альтернативным моделям*

Расчет параметров в соответствии с альтернативными моделями требует выполнения плана эксперимента. План эксперимента должен быть разработан в зависимости от количества различных видов и различных исследуемых факторов. Таким образом, первым шагом всей процедуры валидации является рассмотрение популяций образцов, которые будут проанализированы в лаборатории в будущем, для определения наиболее важных видов и факторов, которые могут повлиять на результаты измерений. Факторный подход позволяет оценить неопределенность измерения результатов испытаний, полученных при различных условиях испытаний в данной лаборатории, например, при разных аналитиках, разных инструментах, разных партиях реагентов, разных матрицах, разном истекшем времени анализа и разных температурах анализа. Впоследствии диапазон концентраций должен быть выбран целенаправленно в соответствии с МУО или МУ для разрешенных веществ или КТД или НКУ для запрещенных или неразрешенных веществ.

Факторный подход направлен на установление надежных данных точности и данных измерений путем одновременно контролируемого варьирования выбранных факторов. Это позволяет оценить комбинированное влияние факторных эффектов и случайных эффектов. Схема эксперимента позволяет также исследовать надежность [(](#_bookmark71)[[34]](#footnote-34) [)](#_bookmark71) аналитического метода и определение внутреннего стандартного отклонения воспроизводимости по матрицам.

Ниже приводится пример альтернативного подхода с использованием ортогонального плана эксперимента.

Можно исследовать до семи факторов (факторов шума). Исследование разработано таким образом, чтобы прецизионность, истинность (на основе обогащенных образцов), чувствительность, неопределенность измерения и критические концентрации можно было определить одновременно путем реализации плана эксперимента.

*Таблица 6*

# Пример ортогонального плана эксперимента с 7 факторами (I – VII), варьируемыми на двух уровнях (A/B) в валидационном исследовании с восемью прогонами (комбинация уровней факторов)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | Фактор | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|  |  | Прогон 01 | A | A | A | A | A | A | A |
|  |  | Прогон 02 | A | A | B | A | B | B | B |
|  |  | Прогон 03 | A | B | A | B | A | B | B |
|  |  | Прогон 04 | A | B | B | B | B | A | A |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/100 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

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

Расчет характеристик метода должен выполняться, как описано Юлихером с соавт. [(](#_bookmark74)[[35]](#footnote-35)[)](#_bookmark74).

* + 1. *Другие подходы к валидации*

Можно использовать другие подходы для демонстрации того, что метод соответствует критериям эффективности для рабочих характеристик, при условии, что они обеспечивают тот же уровень и качество информации. Валидация может также выполняться в форме межлабораторных исследований, установленных Codex Alimentarius, ISO или IUPAC [(](#_bookmark75)[[36]](#footnote-36)[)](#_bookmark75) или в соответствии с альтернативными методами, такими как отдельные лабораторные исследования или внутренняя проверка [(](#_bookmark76)[[37]](#footnote-37)[)](#_bookmark76). Когда применяются альтернативные процедуры валидации, базовая модель и стратегия с соответствующими предпосылками, допущениями и формулами должны быть изложены в протоколе валидации или, по крайней мере, должны быть даны ссылки на их доступность.

# Высокая селективность (специфичность)

Способность различать аналит и близкородственные вещества должна быть определена в максимально возможной степени. Должна быть определена интерференция гомологов, изомеров, продуктов разложения, эндогенных веществ, аналогов, продуктов метаболизма интересующего остатка, матричных соединений или любого другого потенциально интерферирующего вещества, и, при необходимости, метод должен быть изменен, чтобы избежать выявленных интерференций. Для определения специфичности метода следует использовать следующий подход:

1. Выберите ряд химически родственных соединений или других веществ, которые могут встретиться с интересующим соединением, которые могут присутствовать в образцах, и проверьте, могут ли они мешать анализу целевого аналита(-ов).
2. Проанализируйте соответствующее количество репрезентативных холостой пробы, например, разные партии или партии разных видов животных (n ≥ 20), и проверьте любые интерференции сигналов, пиков или следов ионов в интересующей области, где ожидается элюирование целевого аналита.
3. Обогащайте репрезентативные холостые пробы при соответствующей концентрации веществами, которые могут помешать идентификации и/или количественному определению анализируемого вещества, и исследуйте, может ли добавленное вещество:
   1. может привести к ложной идентификации;
   2. затрудняет идентификацию целевого аналита;
   3. заметно влияет на количественную оценку.

# Прочность

Аналитический метод должен быть испытан на предмет его продолжительной работы в различных экспериментальных условиях, которые включают, например, различные условия отбора проб и незначительные изменения, которые могут иметь место при рутинных испытаниях. Для проверки стойкости метода изменения, вносимые в условия эксперимента, должны быть незначительными. Важность этих изменений должна быть оценена. Каждая характеристика эффективности должна быть определена для всех незначительных изменений, которые, как было показано, оказывают существенное влияние на эффективность анализа.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/101 |

# Стабильность

Должна быть определена стабильность калибровочного стандарта, стандарта, согласованного с матрицей, и/или стандартов, обогащенных матрицей, а также аналита или компонентов матрицы в образце во время хранения или анализа, поскольку нестабильность может повлиять на результаты испытаний.

Обычно стабильность аналита хорошо охарактеризована при различных условиях хранения. Необходимую информацию могут предоставить эксперименты, проводимые для мониторинга условий хранения стандартов и образцов, проводимые в рамках обычной системы аккредитации лабораторий и контроля качества. Если доступны данные о стабильности для аналитов в матрице (например, на основе информации из EURL, опубликованных данных и т. д.), эти данные не должны определяться каждой лабораторией. Однако ссылка на имеющиеся данные о стабильности аналитов в растворе и в матрице допустима только в том случае, если применяются идентичные условия.

Если требуемые данные о стабильности недоступны, следует использовать следующие подходы.

* + 1. *Определение стабильности аналита в растворе*

1. Приготовьте свежие исходные растворы аналита (веществ) и разбавьте их, как указано в инструкциях к тесту, чтобы получить достаточное количество аликвот (например, 40) каждой выбранной концентрации. Образцы должны быть приготовлены из:
   1. Растворы аналита, используемые для витаминизации;
   2. Растворы аналитов, используемые для окончательного анализа;
   3. Любое другое решение, представляющее интерес (например, дериватизированные стандарты).
2. Измерьте содержание аналита в свежеприготовленном растворе в соответствии с инструкциями к анализу.
3. Разливают соответствующие объемы в подходящие контейнеры, маркируют и хранят в соответствии со световыми и температурными условиями схемы, приведенной в таблице 7. Время хранения должно быть выбрано с учетом применяемой аналитической практики, в идеале до тех пор, пока первые явления деградации не будут наблюдаться во время идентификации и/или количественного определения. Если при исследовании стабильности не наблюдается деградации, продолжительность хранения при исследовании стабильности должна быть равна продолжительности максимального срока хранения раствора.
4. Рассчитайте концентрацию аналита (веществ) в каждой аликвоте по сравнению с концентрацией аналита в свежеприготовленном растворе по следующей формуле:

Остаток аналита (%) = C i × 100/C свежий

C i = концентрация в момент времени i

C свежий = концентрация свежего раствора

Среднее значение пяти повторов растворов, которые хранились, не должно отличаться более чем на 15% от среднего значения пяти свежеприготовленных повторных растворов. Среднее значение пяти свежеприготовленных растворов должно использоваться в качестве основы для расчета процентной разницы.

*Таблица 7*

# Схема определения стабильности аналита в растворе

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 20°C | 4°C | 20°C |
| Темный | 10 аликвот | 10 аликвот | 10 аликвот |
| Нежирные |  |  | 10 аликвот |

* + 1. *Определение стабильности аналита(-ов) в матрице*

1. Используйте, где это возможно, полученные образцы. При отсутствии полученной матрицы следует использовать пустую матрицу, обогащенную аналитом.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/102 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

1. Когда образовавшаяся матрица доступна, определяют концентрацию в матрице, пока матрица еще свежая. Храните дополнительные аликвоты гомогенизированной полученной матрицы при температуре минус 20 °C или ниже, если требуется, и определяйте концентрации аналита до тех пор, пока образец остается в лаборатории.
2. Если порожденная матрица недоступна, возьмите холостую матрицу и гомогенизируйте ее. Разделите матрицу на пять аликвот. Каждую аликвоту обогащают аналитом, который желательно готовить в небольшом количестве водного раствора. Немедленно проанализируйте одну аликвоту. Остальные аликвоты хранят при температуре не ниже минус 20 °С и при необходимости анализируют их после краткосрочного, среднесрочного и долгосрочного хранения с учетом применяемых аналитических методов.
3. Запишите максимально допустимое время хранения и оптимальные условия хранения.

Среднее значение пяти хранившихся повторных растворов не должно отличаться более чем на внутрилабораторную воспроизводимость метода от среднего значения пяти свежеприготовленных повторных растворов. Среднее значение пяти свежеприготовленных растворов должно использоваться в качестве основы для расчета процентной разницы.

# Предел принятия решения для подтверждения (CCα)

Значение CCα определяется для подтверждающих методов. Значение CCα должно быть установлено в условиях, соответствующих требованиям к идентификации или идентификации плюс количественному определению, как определено в разделе «Критерии эффективности и другие требования к аналитическим методам», представленному в Главе 1.

Для контроля соответствия образцов комбинированная стандартная неопределенность измерения уже учтена в значении CCα (предел решения для подтверждения).

1. Для неразрешенных или запрещенных фармакологически активных веществ CCα рассчитывается следующим образом:
   1. Метод 1: по процедуре калибровочной кривой в соответствии с ISO 11843-1:1997 [(](#_bookmark78)[[38]](#footnote-38)[)](#_bookmark78) (здесь называется критическим значением чистой переменной состояния). В этом случае должен использоваться холостой материал, который укрепляется на уровне КТД или НКУ и выше с равноудаленными шагами. Проанализируйте образцы. После идентификации нанесите график сигнала, где это возможно, или пересчитанную концентрацию в зависимости от добавленной концентрации. Соответствующая концентрация на точке пересечения y плюс стандартное отклонение внутрилабораторной воспроизводимости на точке пересечения, умноженное на 2,33, равняется пределу принятия решения. Этот метод применим только для количественных анализов. Пределы решений, полученные с помощью этого подхода, должны быть проверены путем анализа холостой матрицы, усиленной расчетным пределом решений.
   2. Метод 2: путем анализа не менее 20 репрезентативных холостых материалов на матрицу, чтобы иметь возможность рассчитать отношение сигнал/шум во временном окне, в котором ожидается наличие аналита. В качестве предела решения можно использовать трехкратное соотношение сигнал/шум. Это применимо к количественному и качественному анализу. Пределы решений, полученные с помощью этого подхода, должны быть проверены путем анализа холостой матрицы, усиленной расчетным пределом решений.
   3. Метод 3: CCα = НКУ + k (односторонний, 99 %) × (суммарная) стандартная неопределенность измерения при НКУ

Для неавторизованных или запрещенных фармакологически активных веществ, в зависимости от валидационного эксперимента (и его соответствующих степеней свободы), может быть обоснованно применено t-распределение, или, если за основу взято распределение Гаусса (одностороннее, n=∞), следует использовать k-фактор 2,33.

Внутрилабораторная воспроизводимость и истинность подходят для определения (комбинированной) стандартной неопределенности измерения, если они определяются с учетом всех соответствующих влияющих факторов.

Метод 2 для расчета CCα можно использовать только до 1 января 2026 года в случае методов, валидированных до даты вступления в силу настоящего Регламента. Для методов, валидированных после вступления в силу настоящего Регламента, должны использоваться только методы 1 или 3.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/103 |

1. Для разрешенных веществ CCα рассчитывается следующим образом:
   1. Для разрешенных веществ в сочетаниях матрица/вид, для которых установлены МУО или МУ:
      1. Метод 1: по процедуре калибровочной кривой в соответствии с ISO 11843-1:1997 (здесь упоминается как критическое значение переменной чистого состояния). В этом случае должен использоваться пустой материал, который укрепляется на уровне МУО или МУ и выше с равноудаленными шагами. Проанализируйте образцы. После идентификации постройте график зависимости сигнала, если это возможно, или пересчитанной концентрации от добавленной концентрации. Соответствующая концентрация при МУО или МУ плюс 1,64-кратное стандартное отклонение внутрилабораторной воспроизводимости при разрешенном пределе равняется пределу принятия решения (α = 5%).
      2. Способ 2: CCα = МУО (или МУ) + k (односторонний, 95 %) × (суммарная) стандартная неопределенность измерения при МУО или МУ.

Для разрешенных веществ, в зависимости от эксперимента по валидации (и соответствующих степеней свободы), может быть обоснованно применено t-распределение, или – если за основу взято распределение Гаусса (одностороннее, n=∞), k- следует использовать коэффициент 1,64.

Внутрилабораторная воспроизводимость и истинность подходят для определения (комбинированной) стандартной неопределенности измерения, если они определяются с учетом всех соответствующих влияющих факторов.

Для фармакологически активных веществ, для которых МУО устанавливается для суммы различных веществ, CCα вещества с наибольшей концентрацией в образце используется в качестве CCα для оценки суммы веществ в измеряемом образце.

* 1. Для разрешенных веществ в комбинациях матрица/вид, для которых не установлен МУО, не должно быть остатков, если только не проведена разрешенная переработка в соответствии со статьей 11 Директивы 2001/82/ЕС. Для разрешенных веществ, для которых МУО не установлен, каскадный МУО, установленный в соответствии с Регламентом Комиссии (ЕС) 2018/470 [(](#_bookmark80)[[39]](#footnote-39)[)](#_bookmark80), должны использоваться для расчета CCα. Должен применяться метод 1 или 2 из абзаца выше, но «МУО» относится к «0,5-кратному МУО каскада с целевым 0,1-кратным МУО каскада, где это разумно возможно».

# Возможность обнаружения для скрининга (CCβ)

CCβ должен быть определен для методов скрининга. CCβ должен быть установлен в соответствии с определением в разделе «Критерии эффективности и другие требования к аналитическим методам», изложенным в Главе 1 настоящего Приложения, и в соответствии с требованиями, изложенными в Таблице 5. Однако для методов скрининга нет необходимости применять полные требования к идентификации (см. 1.2.3, 1.2.4, 1.2.5).

1. Для неразрешенных или запрещенных фармакологически активных веществ должна быть обеспечена максимальная ошибка β 5 %. CCβ рассчитывается следующим образом:
   1. Способ 1: Процедура калибровочной кривой согласно ISO 11843-1:1997 (здесь упоминается как минимальное обнаруживаемое значение чистой переменной состояния). В этом случае должен использоваться репрезентативный чистый материал, который укрепляется на уровне и ниже КТД, или, если КТД не был установлен, вокруг ЦКС с равноудаленными шагами. Проанализируйте образцы. Постройте сигнал против добавленной концентрации. Соответствующая концентрация в ЦКС плюс 1,64-кратное стандартное отклонение внутрилабораторной воспроизводимости среднего измеренного содержания в ЦКС равняется возможности обнаружения. Экстраполяция намного ниже самого низкого уровня обогащения (< 50 % от самого низкого уровня обогащения) должна быть подтверждена экспериментальными данными на этапе проверки.
   2. Способ 2: Исследование обогащенного холостого материала при уровнях концентрации на уровне ЦКС и выше. Для каждого уровня концентрации должны быть проанализированы 20 обогащенных холостых проб, чтобы обеспечить надежную основу для этого определения. Уровень концентрации, при котором остается только ≤ 5 % ложных результатов, соответствует способности обнаружения метода.
   3. Метод 3: CCβ = ЦКС + k (односторонний, 95 %) × (суммарная) стандартная неопределенность измерения на уровне или выше ЦКС.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/104 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

Для неавторизованных или запрещенных фармакологически активных веществ, в зависимости от валидационного эксперимента (и его соответствующих степеней свободы), может быть обоснованно применено t-распределение, или, если за основу взято распределение Гаусса (одностороннее, n=∞), следует использовать k-фактор 1,64.

Внутрилабораторная воспроизводимость и истинность подходят для определения (комбинированной) стандартной неопределенности измерения, если они определяются с учетом всех соответствующих влияющих факторов.

1. Для разрешенных веществ должна быть обеспечена максимальная ошибка β в размере 5%. CCβ рассчитывается следующим образом:
   1. Метод 1: с помощью процедуры калибровочной кривой в соответствии с ISO 11843-1:1997 (здесь упоминается как минимальное обнаруживаемое значение чистой переменной состояния). В этом случае должен использоваться репрезентативный холостой материал, обогащенный до разрешенного предела и ниже, начиная с ЦКС с равноудаленными шагами. Проанализируйте образцы и определите аналит(ы). Рассчитайте стандартное отклонение среднего измеренного содержания в ЦКС.

Соответствующая концентрация в ЦКС плюс 1,64-кратное стандартное отклонение внутрилабораторной воспроизводимости среднего измеренного содержания в ЦКС равняется способности обнаружения,

* 1. Метод 2: путем исследования обогащенного контрольного материала при уровнях концентрации ниже допустимого предела. Для каждого уровня концентрации должны быть проанализированы 20 обогащенных холостых проб, чтобы обеспечить надежную основу для этого определения. Уровень концентрации, при котором остается только ≤ 5 % ложных результатов, соответствует способности обнаружения метода.
  2. Метод 3: CCβ = ЦКС + k (односторонний, 95 %) × (суммарная) стандартная неопределенность измерения на уровне или выше ЦКС.

Для разрешенных веществ, в зависимости от эксперимента по валидации (и его соответствующих степеней свободы), может быть обоснованно применено t-распределение, или, если за основу взято распределение Гаусса (одностороннее, n=∞), k-фактор должно использоваться значение 1,64 (независимо от того, используется ли каскад или используется обычный МУО).

Внутрилабораторная воспроизводимость и истинность подходят для определения (комбинированной) стандартной неопределенности измерения, если они определяются с учетом всех соответствующих влияющих факторов.

Для фармакологически активных веществ, для которых МУО устанавливается для суммы различных веществ, ККβ вещества с наибольшей концентрацией в образце следует использовать в качестве ККβ для оценки суммы веществ в измеряемом образце.

# Калибровочная кривая

Когда калибровочные кривые используются для количественного определения:

1. при построении кривой должно быть использовано не менее пяти предпочтительно равноудаленных уровней (включая нулевой уровень);
2. должен быть описан рабочий диапазон кривой;
3. должны быть описаны математическая формула кривой и согласие данных (коэффициент детерминации R2) с кривой;
4. Должны быть описаны допустимые диапазоны параметров кривой.

Для калибровочных кривых, основанных на стандартном растворе, стандартах, согласованных с матрицей, или стандартах, обогащенных матрицей, должны быть указаны допустимые диапазоны параметров калибровочной кривой, которые могут варьироваться от серии к серии.

# Абсолютное восстановление

Абсолютное восстановление метода должно быть определено, когда не используется внутренний стандарт или калибровка, усиленная матрицей.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/105 |

Когда требования к истинности, изложенные в таблице 1, выполнены, можно использовать фиксированный поправочный коэффициент. В противном случае должен использоваться коэффициент извлечения, полученный для этой конкретной партии. В качестве альтернативы стандартное дополнение [(](#_bookmark84)[[40]](#footnote-40)[)](#_bookmark84) вместо использования поправочного коэффициента извлечения следует использовать процедуру или внутренний стандарт.

Абсолютное извлечение должно быть рассчитано не менее чем для шести репрезентативных партий матрицы.

Аликвоту холостой матрицы обогащают аналитом перед экстракцией, а вторую аликвоту холостой матрицы обогащают после подготовки пробы на соответствующем уровне концентрации и определяют концентрацию аналита.

Восстановление рассчитывается как:

Rec (аналит) = (*площадь* стандарта, усиленного матрицей)/( *площадь* стандарта, соответствующего матрице) × 100

# Относительные матричные эффекты

Относительный матричный эффект должен быть определен во всех случаях. Это может быть сделано либо как часть проверки, либо в отдельных экспериментах. Расчет относительного матричного эффекта должен выполняться не менее чем для 20 различных партий заготовок (матрица/вид) в соответствии с областью применения метода, например, для разных видов, которые необходимо охватить.

Пустая матрица должна быть обогащена после экстракции аналитом на КТД, МУО или МУ и должна анализироваться вместе с чистым раствором аналита.

Относительный матричный эффект или матричный фактор (МФ) рассчитывается как:

|  |  |
| --- | --- |
| МФ(стандарт)= | пиковая площадь стандарта ССМ |
| площадь пика раствора стандарта |
|  |  |
| МФ(ВС)= | площадь пика ССМ IS |
| площадь пика раствора IS |
|  |  |
| МФ (стандартно нормализованный для IS)= | МФ (стандарт) |
| МФ(ВС) |

|  |  |
| --- | --- |
| ВС: | внутренний стандарт |
| ССМ: | стандарт, согласованный с матрицей |

Коэффициент вариации не должен превышать 20 % для МФ (стандарт, нормированный для ВС).

ГЛАВА 3

# КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ВО ВРЕМЯ РЕГУЛЯРНОГО АНАЛИЗА – ПОСТОЯННАЯ ПРОВЕРКА РАБОТЫ МЕТОДА

Требования к обеспечению качества аналитических результатов главы 7.7 ISO/IEC 17025:2017 [(](#_bookmark85)[[41]](#footnote-41)[)](#_bookmark85) должны быть соблюдены.

Во время рутинного анализа анализ сертифицированных эталонных материалов (СЭМ) является предпочтительным вариантом для подтверждения эффективности метода. Поскольку СЭМ, содержащие соответствующие аналиты в требуемых концентрациях, редко доступны, а также справочные материалы, предоставленные и охарактеризованные EURL или лабораториями, имеющими сертификат ISO/IEC 17043:2010 [(](#_bookmark86)[[42]](#footnote-42)[)](#_bookmark86) в качестве альтернативы может использоваться аккредитация. В качестве альтернативы можно использовать собственные эталонные материалы, которые регулярно контролируются.

Текущая проверка эффективности метода во время рутинного анализа должна выполняться на этапе скрининга и этапе подтверждения.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/106 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

1. Для этапа скрининга:

Для каждой серии (партии) проведенных анализов должен быть одновременно проанализирован набор следующих контрольных проб:

* 1. контрольный образец для системной пригодности прибора, в идеале для конкретного метода;
  2. пробы контроля качества, обогащенные при концентрации, близкой к ЦКС и, в идеале, при CCβ скрининга на разрешенные фармакологически активные вещества, а также на запрещенные или неразрешенные вещества);
  3. соответствующий контрольный образец (холостые образцы) и, при необходимости, холостые реагенты.

1. Для подтверждающего шага:

Для каждой серии (партии) проведенных анализов должен быть одновременно проанализирован набор следующих контрольных проб:

* 1. контрольный образец для системной пригодности прибора, в идеале для конкретного метода;
  2. образцы контроля качества, обогащенные в концентрации, близкой к МУО или МУ для разрешенных фармакологически активных веществ или близкой к КТД или НКУ для запрещенных или неразрешенных веществ (несоответствующие контрольные образцы);
  3. соответствующий контрольный образец (холостые образцы) и, при необходимости, холостые реагенты.

Для образцов для контроля качества рекомендуется следующий порядок: контрольный образец для системной пригодности прибора, соответствующий контрольный образец, образец (образцы), подлежащий подтверждению, снова соответствующий контрольный образец и обогащенный образец для контроля качества (несоответствующие контрольные образцы).

Для количественных методов с каждой партией официальных проб должна быть проанализирована и измерена калибровочная кривая до или после вышеперечисленных проб.

Там, где это практически возможно, следует оценивать истинность (на основе обогащенных образцов) всех целевых аналитов в несоответствующих контрольных образцах с помощью карт контроля качества в соответствии с главой 7.7 ISO/IEC 17025:2017. Если для этого требуется непропорционально большое количество определений истинности, количество аналитов может быть уменьшено до числа репрезентативных аналитов.

ГЛАВА 4

# РАСШИРЕНИЕ ПРОВЕРЕННОЙ ОБЛАСТИ РАБОТЫ РАНЕЕ ПРОВЕРЕННОЙ МЕТОДА

Иногда необходимо расширить область применения ранее всесторонне проверенного метода. В этих случаях расширение области должно осуществляться эффективным и аналитически обоснованным способом. Этого можно достичь путем проведения валидации на уменьшенном количестве образцов (например, на половине числа образцов) по сравнению с полной валидацией.

Тем не менее, тип и количество модификаций, подлежащих валидации в единой сокращенной схеме валидации, всегда должны основываться на экспертных знаниях и предыдущем опыте, например, изменение метода обнаружения потребует полной валидации в любом случае.

В целом, чтобы обеспечить постоянную валидность метода, его эффективность должна постоянно контролироваться и сравниваться с первоначально полученными параметрами валидации. В идеале этот непрерывный контроль эффективности метода разработан таким образом, чтобы недостающие данные для полной валидации могли быть собраны с течением времени (например, с помощью нескольких точек данных из образцов контроля качества в каждой аналитической серии).

# Расширение методов в отношении диапазона концентраций

Из-за изменений МУО, МУ и КТД может возникнуть необходимость скорректировать диапазон концентраций, для которого валидирован метод. В таком случае допустимо применение сокращенной схемы проверки.

Калибровочные кривые для модифицированного диапазона должны быть подготовлены в соответствии с утвержденной процедурой. Следует анализировать различные партии, обогащенные различными уровнями концентрации (см. 2.2.1, 2.2.2). Достоверность, воспроизводимость и внутрилабораторная воспроизводимость/промежуточная точность должны находиться в допустимом диапазоне по сравнению с первоначально валидированным методом. При необходимости следует выполнить пересчет CCβ (методы скрининга) и CCα (методы подтверждения).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/107 |

# Расширения методов в отношении дополнительных веществ

Как правило, расширение метода на дополнительные соединения возможно только для аналитов, которые аналогичны по структуре и характеристикам тем, которые уже включены в аналитический метод. В таком случае допустимо применение сокращенной схемы проверки. Точно так же не допускается отклонение от описания метода.

Калибровочные кривые для дополнительных веществ должны быть подготовлены в соответствии с утвержденной процедурой. Необходимо проанализировать различные партии матричных материалов, обогащенных различными уровнями концентрации (см. 2.2.1, 2.2.2). Достоверность, воспроизводимость и внутрилабораторная воспроизводимость/промежуточная точность должны находиться в диапазоне, сравнимом с таковыми для других аналитов первоначально валидированного метода, и соответствовать требованиям, установленным в 1.2.2. Необходимо выполнить расчет CCβ (методы скрининга) и CCα (методы подтверждения) для новых аналитов.

# Расширения методов в отношении матриц/видов

Включение новых матриц или видов в уже утвержденный аналитический метод всегда должно быть индивидуальным решением, основанным на знаниях и опыте, полученных на данный момент с помощью метода и предварительных экспериментов, оценивающих потенциальные матричные эффекты и помехи. Как правило, это возможно только для матриц со схожими свойствами и для некритических аналитов (стабильность, обнаруживаемость).

Калибровочные кривые (стандартные или матричные) должны быть подготовлены в соответствии с утвержденной процедурой. Необходимо проанализировать различные партии матричного материала, обогащенного различными уровнями концентрации (см. 2.2.1, 2.2.2). Достоверность, повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость/промежуточная точность должны находиться в допустимом диапазоне по сравнению с исходно валидированным методом и соответствовать требованиям, установленным в 1.2.2. В зависимости от подхода к валидации может потребоваться перерасчет CCβ (методы скрининга) или CCα (методы подтверждения).

Если результаты не находятся в приемлемом диапазоне по сравнению со значениями для исходной матрицы, потребуется дополнительная полная валидация, чтобы определить параметры эффективности матрицы/вида.

В тех случаях, когда МУО для конкретного вещества различаются для определенных матриц, скорее всего, будет сложно адаптировать объем метода к дополнительной матрице/видам и концентрации, поскольку в этом случае необходимо рассмотреть две модификации. В таких случаях рекомендуется полная валидация.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| L 180/108 | EN | Официальный журнал Европейского союза | 21.05.2021 |

*ПРИЛОЖЕНИЕ II*

# ПРОЦЕДУРЫ ОТБОРА ПРОБ И ОФИЦИАЛЬНАЯ ОБРАБОТКА ПРОБ

1. **Количество образцов**

Минимальные количества образцов должны быть определены в национальной программе контроля остатков. Минимальные количества проб должны быть достаточными для того, чтобы утвержденные лаборатории могли выполнять аналитические процедуры, необходимые для завершения скрининга и подтверждающих анализов. Специально для домашней птицы, аквакультуры, кроликов, дичи, рептилий и насекомых образец состоит из одного или нескольких животных, в зависимости от требований аналитических методов. Для яиц размер выборки составляет не менее 12 яиц или более в соответствии с используемыми аналитическими методами. В случае необходимости анализа нескольких категорий веществ в одной пробе разными аналитическими методами размер пробы должен быть соответственно увеличен.

# Разделение на подвыборки

Если это технически невозможно или не требуется национальным законодательством, каждая проба должна быть разделена как минимум на две эквивалентные подпробы, каждая из которых позволяет провести полную аналитическую процедуру. Разделение может происходить в месте отбора проб или в лаборатории.

# Прослеживаемость

Каждая проба должна быть взята таким образом, чтобы всегда можно было отследить ее до фермы происхождения и партии животных или отдельного животного, где это уместно. В частности, для молока, по выбору государства-члена, пробы могут быть взяты в любом из следующих мест:

* 1. на ферме из сборной емкости;
  2. на уровне молочной промышленности, до выгрузки молока.

# Контейнеры для образцов

Пробы должны быть собраны в подходящие контейнеры для обеспечения целостности и прослеживаемости проб. В частности, контейнеры должны предотвращать подмену, перекрестное загрязнение и порчу. Контейнеры должны быть официально опломбированы.

# Отчет о выборке

После каждой процедуры отбора проб составляется отчет.

Инспектор собирает как минимум следующие данные в отчете о выборке:

* 1. аудиты компетентных органов
  2. имя инспектора или идентификационный код;
  3. официальный код образца;
  4. дата отбора проб;
  5. имя и адрес владельца или лица, ответственного за животных или продукты животного происхождения;
  6. название и адрес фермы происхождения животного (при отборе проб на ферме);
  7. регистрационный номер предприятия-номер бойни;
  8. идентификация животных или продуктов;
  9. вид животного;
  10. образец матрицы;
  11. при необходимости лекарства в течение последних четырех недель перед взятием проб (при взятии проб на ферме);
  12. вещество или группы веществ для исследования;
  13. отдельные замечания.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 21.05.2021 | EN | Официальный журнал Европейского союза | L 180/109 |

Бумажные или электронные копии отчета должны быть предоставлены в зависимости от процедуры отбора проб. Протокол отбора проб и его копии должны быть заполнены таким образом, чтобы обеспечить их подлинность и юридическую силу, что может потребовать подписания этих документов инспектором. В случае отбора проб на ферме фермеру или его заместителю может быть предложено подписать первоначальный отчет об отборе проб.

Оригинал отчета об отборе проб остается в компетентном органе, который должен гарантировать, что посторонние лица не смогут получить доступ к этому оригиналу отчета.

При необходимости фермер или владелец хозяйства может быть проинформирован о взятии проб.

# Отчет о взятии проб для лаборатории

Отчет о отборе проб для лаборатории, созданной компетентными органами, должен соответствовать требованиям, установленным в главе 7 ISO/IEC 17025:2017 [(](#_bookmark88)[[43]](#footnote-43)[)](#_bookmark88) и должен содержать как минимум следующую информацию:

* 1. адрес компетентных органов или уполномоченных органов;
  2. имя инспектора или идентификационный код;
  3. официальный код образца;
  4. дата отбора проб;
  5. вид животного;
  6. образец матрицы;
  7. вещества или группы веществ для исследования;
  8. отдельные замечания.

Отчет о пробах для лаборатории должен сопровождать пробу при отправке в лабораторию.

# Транспортирование и хранение

Программы контроля остатков должны определять подходящие условия хранения и транспортировки для каждой комбинации «аналит/матрица», чтобы гарантировать стабильность аналита и целостность пробы. Время транспортировки должно быть как можно короче, а температура во время транспортировки должна быть адекватной для обеспечения стабильности аналита.

Особое внимание следует уделить транспортным ящикам, температуре и времени доставки в ответственную лабораторию.

В случае любого несоответствия требованиям программы контроля лаборатория должна незамедлительно проинформировать компетентный орган.

1. OЖ L 95, 7.04.2017, стр. 1. [↑](#footnote-ref-1)
2. Решение Комиссии 2002/657/EC от 14 августа 2002 г., реализующее Директиву Совета 96/23/EC относительно использования аналитических методик и интерпретации результатов [↑](#footnote-ref-2)
3. Решение Комиссии 98/179/ЕС от 23 февраля 1998 г., устанавливающее подробные правила официального отбора проб для мониторинга определенных веществ и их остатков в живых животных и продуктах животного происхождения (ОЖ L 65, 5.3.1998, стр. 31). [↑](#footnote-ref-3)
4. Директива Совета 96/23/ЕС от 29 апреля 1996 года о мерах по мониторингу определенных веществ и их остатков в живых животных и продукции животного происхождения, отменяющий Директивы 85/358/EEC и 86/469/EEC и Решения 89/187/EEC и 91/664/ЕЕС (ОЖ L 125, 23.05.1996 г., с. 10). [↑](#footnote-ref-4)
5. Регламент Комиссии (ЕС) № 401/2006 от 23 февраля 2006 г., устанавливающий методы отбора проб и анализа для официального контроля уровня микотоксинов в пищевых продуктах (ОЖ L 70, 9.3.2006, стр. 12). [↑](#footnote-ref-5)
6. Регламент Комиссии (ЕС) 2017/644 от 5 апреля 2017 г., устанавливающий методы отбора проб и анализа для контроля уровней диоксинов, диоксиноподобных ПХБ и недиоксиноподобных ПХБ в определенных пищевых продуктах и отменяющий Регламент (ЕС) № 589/ 2014 (ОЖ L 92, 6.4.2017, стр. 9). [↑](#footnote-ref-6)
7. Регламент Комиссии (ЕС) № 333/2007 от 28 марта 2007 г., устанавливающий методы отбора проб и анализа для контроля уровня микроэлементов и примесей переработки в пищевых продуктах (ОЖ L 88, 29.03.2007, стр. 29). [↑](#footnote-ref-7)
8. Регламент (ЕС) №1831/2003 Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2003 года «О добавках для использования в питании животных» (ОЖ L 268, 18.10.2003, с. 29). [↑](#footnote-ref-8)
9. Регламент Комиссии (ЕС) № 152/2009 от 27 января 2009 г., устанавливающий методы отбора проб и анализа для официального контроля кормов (ОЖ L 54, 26.02.2009, стр. 1). [↑](#footnote-ref-9)
10. Делегированный регламент Комиссии (ЕС) 2019/2090 от 19 июня 2019 г., дополняющий Регламент (ЕС) 2017/625 Европейского парламента и Совета относительно случаев предполагаемого или установленного несоблюдения правил Союза, применимых к использованию или остаткам фармакологически активных веществ, разрешенных к использованию в ветеринарных лекарственных средствах или в качестве кормовых добавок, или правил Союза, применимыми к использованию или остаткам запрещенных или неразрешенных фармакологически активных веществ (ОЖ L 317, 9.12.2019, стр. 28). [↑](#footnote-ref-10)
11. Регламент Комиссии (ЕС) 2019/1871 от 7 ноября 2019 г. о контрольных точках действия неразрешенных фармакологически активных веществ, содержащихся в пищевых продуктах животного происхождения, отменяющий Решение 2005/34/ЕС (ОЖ L 289, 8.11.2019, стр. 41). [↑](#footnote-ref-11)
12. Регламент (ЕС) № (470/2009) Европейского парламента и Совета от 6 мая 2009 года, устанавливающий процедуры Сообщества по определению уровней остатков фармакологически активных веществ в пищевых продуктах животного происхождения, отменяющий Регламент Совета (EEC) № 2377/90 и вносящий изменения в Директиву 2001/82/EC Европейского парламента и Совета и в Регламент (EC) № 726/2004 Европейского парламента и Совета (ОЖ 152, 16.06.2009, с. 11). [↑](#footnote-ref-12)
13. Регламент Совета (ЕЭС) № 315/93 от 8 февраля 1993 г., устанавливающий процедуры Сообщества в отношении загрязняющих веществ в пищевых продуктах (ОЖ L 37, 13.02.1993, стр. 1). [↑](#footnote-ref-13)
14. ISO 3534-1: 2006 Статистика - Словарь и символы – Часть 1: Общие статистические термины и термины, используемые в теории вероятностей (глава 1). [↑](#footnote-ref-14)
15. Директива 2001/82/EC Европейского парламента и Совета от 6 ноября 2001 года о кодексе сообщества, касающемся ветеринарных лекарственных средств (Оф. журнал L 311, 28.11.2001, стр. 1). [↑](#footnote-ref-15)
16. JCGM 200:2008, Международный словарь по метрологии – основные и общие понятия и связанные термины (VIM), третье издание 2008 г.: <https://www.iso.org/sites/JCGM/VIM-JCGM200.htm> (Глава 5 Стандарты измерений ( Эталоны)). [↑](#footnote-ref-16)
17. Регламент Комиссии (ЕС) № 124/2009 от 10 февраля 2009 г., устанавливающий максимальные уровни присутствия кокцидиостатов или гистомоностатов в пищевых продуктах в результате неизбежного переноса этих веществ в нецелевые корма (ОЖ L 40, 11.02.2009, стр. 7). [↑](#footnote-ref-17)
18. Регламент Комиссии (ЕС) №37/2010 от 22 декабря 2009 года о действующих веществах в фармакологии и их классификации по максимальному остаточному уровню в продуктах питания животного происхождения (ОЖ L 15, 20.01.2010 г., с. 1). [↑](#footnote-ref-18)
19. Комиссия Codex Alimentarius, Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций/Всемирная организация здравоохранения, Руководство по аналитической терминологии (CAC/GL 72-2009). [↑](#footnote-ref-19)
20. ISO 5725-1:1994 Точность (истинность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1: Общие принципы и определения (Глава 3). [↑](#footnote-ref-20)
21. ISO 80000-1:2009 Количества и единицы – Часть 1: Общие положения (Введение). [↑](#footnote-ref-21)
22. Директива Совета 80/181/ЕЕС от 20 декабря 1979 г. о сближении законов государств-членов в отношении единиц измерения и об отмене Директивы 71/354/ЕЕС (ОЖ L 39, 15.02.1980, стр. 40). [↑](#footnote-ref-22)
23. ISO/IEC 17025:2017 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий (Глава 3). [↑](#footnote-ref-23)
24. 24 ISO 78-2 1999 Химия. Структура стандартов. Часть 2: Методы химического анализа (приложения). [↑](#footnote-ref-24)
25. Совместная хроматография — это процедура, при которой экстракт образца перед хроматографическим этапом (стадиями) делится на две части. Первая часть хроматографируется как таковая. Вторая часть смешивается со стандартным аналитом, который необходимо измерить. Затем эту смесь также хроматографируют. Количество добавляемого стандартного аналита должно быть аналогично предполагаемому количеству аналита в экстракте. Совместная хроматография используется для улучшения идентификации аналита при использовании хроматографических методов, особенно когда нельзя использовать подходящий внутренний стандарт. [↑](#footnote-ref-25)
26. ISO 5725-4:2020 Точность (истинность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4: Основные методы определения истинности стандартного метода измерения (раздел 3). [↑](#footnote-ref-26)
27. Если для неразрешенного фармакологически активного вещества валидация концентрации, равной 0,5-кратному КТД, нецелесообразно достижима, концентрация, равная 0,5-кратному КТД, может быть заменена наименьшей концентрацией от 0,5-кратной до 1,0-кратной КТД, что разумно достижимо. [↑](#footnote-ref-27)
28. Если для конкретного фармакологически активного вещества валидация концентрации, равной 0,1-кратному МУО, нецелесообразно достижима, концентрация, равная 0,1-кратному МУО, может быть заменена наименьшей концентрацией от 0,1-кратного до 0,5-кратного МУО, что разумно достижимо. [↑](#footnote-ref-28)
29. Если для неразрешенного фармакологически активного вещества валидация концентрации, равной 0,5-кратному КТД, нецелесообразно достижима, концентрация, равная 0,5-кратному КТД, может быть заменена наименьшей концентрацией от 0,5-кратной до 1,0-кратной КТД, что разумно достижимо. [↑](#footnote-ref-29)
30. Если для конкретного фармакологически активного вещества валидация концентрации, равной 0,1-кратному МУО, нецелесообразно достижима, концентрация, равная 0,1-кратному МУО, может быть заменена наименьшей концентрацией от 0,1-кратного до 0,5-кратного МУО, что разумно достижимо. [↑](#footnote-ref-30)
31. ISO 5725-2:2019 Точность (истинность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2: Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения (раздел 3). [↑](#footnote-ref-31)
32. ISO 11843-1:1997 Возможность обнаружения – Часть 1: Термины и определения [↑](#footnote-ref-32)
33. Комиссия Codex Alimentarius, Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций, Всемирная организация здравоохранения, Руководство по оценке неопределенности результатов (CAC/GL 59-2006). [↑](#footnote-ref-33)
34. Упомянутые здесь изменения экспериментальных условий могут состоять из материалов пробы, аналитов, условий хранения, окружающей среды и/или условий подготовки пробы. Для всех экспериментальных условий, которые на практике могут колебаться (например, стабильность реагентов, состав образца, рН, температура), должны быть указаны любые изменения, которые могут повлиять на результат анализа. [↑](#footnote-ref-34)
35. Юлихер Б., Говик П. и Улиг С. (1998) Оценка методов обнаружения при анализе следов с помощью статистической концепции внутренней валидации. (\*) Аналитик, 120 г., 173, 2175-2180. [↑](#footnote-ref-35)
36. IUPAC (1995), Протокол разработки, проведения и интерпретации исследований эффективности методов, Чистая и прикладная химия, 67, 331. [↑](#footnote-ref-36)
37. Говик П., Юлихер Б. и Улиг С. (1998 г.) Многоостаточный метод для нестероидных противовоспалительных препаратов в плазме с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с фотодиодной матрицей. Описание метода и всесторонняя внутренняя проверка. Ж. Хроматогр., 716, 221. [↑](#footnote-ref-37)
38. ISO 11843-1:1997 Возможность обнаружения – Часть 1: Термины и определения [↑](#footnote-ref-38)
39. Исполнительный регламент Комиссии (ЕС) 2018/470 от 21 марта 2018 г. о подробных правилах максимального уровня остатков, который следует учитывать в целях контроля для пищевых продуктов животного происхождения, которые были переработаны в ЕС в соответствии со статьей 11 Директивы 2001/82/ЕС (ОЖ L 79, 22.03.2018, стр. 16). [↑](#footnote-ref-39)
40. Количество добавляемого стандартного аналита может, например, в два-пять раз превышать предполагаемое количество аналита в образце. Эта процедура предназначена для определения содержания аналита в образце с учетом восстановления аналитической процедуры. [↑](#footnote-ref-40)
41. ISO/IEC 17025: 2017 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий (Глава 7.7) [↑](#footnote-ref-41)
42. ISO/IEC 17043:2010 Оценка соответствия – Общие требования к проверке квалификации. [↑](#footnote-ref-42)
43. ISO/IEC 17025: 2017 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий (глава 7.7). [↑](#footnote-ref-43)