



2024/2052

31.7.2024

REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2024/2052 DELLA COMMISSIONE

del 30 luglio 2024

che modifica il regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 per quanto riguarda il suo ambito di applicazione e alcuni criteri di rendimento dei metodi analitici in relazione ai residui di sostanze farmacologicamente attive impiegate negli animali destinati alla produzione di alimenti

(Testo rilevante ai fini del SEE)

LA COMMISSIONE EUROPEA,

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

visto il regolamento (UE) 2017/625 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 15 marzo 2017, relativo ai controlli ufficiali e alle altre attività ufficiali effettuati per garantire l'applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi, delle norme sulla salute e sul benessere degli animali, sulla sanità delle piante nonché sui prodotti fitosanitari, recante modifica dei regolamenti (CE) n. 999/2001, (CE) n. 396/2005, (CE) n. 1069/2009, (CE) n. 1107/2009, (UE) n. 1151/2012, (UE) n. 652/2014, (UE) 2016/429 e (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio, dei regolamenti (CE) n. 1/2005 e (CE) n. 1099/2009 del Consiglio e delle direttive 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE e 2008/120/CE del Consiglio, e che abroga i regolamenti (CE) n. 854/2004 e (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, le direttive 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE e 97/78/CE del Consiglio e la decisione 92/438/CEE del Consiglio (regolamento sui controlli ufficiali) ⁽¹⁾, in particolare l'articolo 34, paragrafo 6,

considerando quanto segue:

- (1) Il regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 della Commissione ⁽²⁾ stabilisce norme relative al rendimento dei metodi analitici in relazione ai residui di sostanze farmacologicamente attive impiegate negli animali destinati alla produzione di alimenti, all'interpretazione dei risultati e ai metodi da utilizzare per il campionamento.
- (2) Il regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 riguarda, tra l'altro, i criteri di rendimento per i metodi analitici in relazione ai residui di sostanze farmacologicamente attive nei mangimi. È tuttavia opportuno chiarire che tale regolamento di esecuzione riguarda solo i metodi utilizzati per verificare la conformità a determinate norme che stabiliscono livelli regolamentari nei mangimi, oggetto dei piani di controllo nazionali pluriennali nel settore dei residui di sostanze farmacologicamente attive di cui al regolamento di esecuzione (UE) 2022/1646 della Commissione ⁽³⁾, e non riguarda i metodi utilizzati per verificare la conformità alle norme sulla contaminazione incrociata per le sostanze attive antimicrobiche nei mangimi non bersaglio, di cui al regolamento delegato (UE) 2024/1229 della Commissione ⁽⁴⁾. L'ambito di applicazione del regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 dovrebbe essere modificato di conseguenza.
- (3) Dall'adozione del regolamento di esecuzione (UE) 2021/808, diverse norme internazionali sono state aggiornate. Per garantire che continuino a essere accurati, è opportuno aggiornare di conseguenza i pertinenti riferimenti.

⁽¹⁾ GU L 95 del 7.4.2017, pag. 1, ELI: <http://data.europa.eu/eli/reg/2017/625/oj>.

⁽²⁾ Regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 della Commissione, del 22 marzo 2021, sul rendimento dei metodi analitici in relazione ai residui di sostanze farmacologicamente attive impiegate negli animali destinati alla produzione di alimenti, sull'interpretazione dei risultati e sui metodi da utilizzare per il campionamento e che abroga le decisioni 2002/657/CE e 98/179/CE (GU L 180 del 21.5.2021, pag. 84, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/808/oj).

⁽³⁾ Regolamento di esecuzione (UE) 2022/1646 della Commissione, del 23 settembre 2022, relativo alle modalità pratiche uniformi di esecuzione dei controlli ufficiali per quanto riguarda l'uso di sostanze farmacologicamente attive autorizzate come medicinali veterinari o come additivi per mangimi, e dei loro residui, e l'uso di sostanze farmacologicamente attive vietate o non autorizzate e dei loro residui, al contenuto specifico dei piani di controllo nazionali pluriennali e alle modalità specifiche per l'elaborazione degli stessi (GU L 248 del 26.9.2022, pag. 32, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2022/1646/oj).

⁽⁴⁾ Regolamento delegato (UE) 2024/1229 della Commissione, del 20 febbraio 2024, che integra il regolamento (UE) 2019/4 del Parlamento europeo e del Consiglio stabilendo livelli massimi specifici di contaminazione incrociata per le sostanze attive antimicrobiche nei mangimi non bersaglio e metodi di analisi per tali sostanze nei mangimi (GU L, 2024/1229, 30.4.2024, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_del/2024/1229/oj).

- (4) Per garantire che i criteri di rendimento siano controllati adeguatamente, è opportuno che nel regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 sia indicato chiaramente che qualsiasi deviazione dai criteri tecnici stabiliti dovrebbe essere documentata e analizzata, conservando prove rintracciabili. Tale prescrizione dovrebbe pertanto essere aggiunta alle prescrizioni generali relative ai metodi analitici.
- (5) Il periodo di transizione per alcune disposizioni stabilito all'articolo 7 del regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 è terminato. È pertanto opportuno modificare di conseguenza tale articolo.
- (6) Per migliorare la leggibilità delle prescrizioni generali per i metodi di conferma, alcune parti delle pertinenti disposizioni dovrebbero essere incluse in un sottocapitolo apposito relativo all'uso specifico della co-cromatografia.
- (7) Sulla base dell'esperienza acquisita durante l'attuazione del regolamento di esecuzione (UE) 2021/808, in alcuni casi il coefficiente di variazione in condizioni di ripetibilità non può soddisfare le prescrizioni relative alla precisione ed è pertanto opportuno modificare tale prescrizione per tenere conto delle condizioni di riproducibilità.
- (8) In base alle caratteristiche di rendimento, vi sono tre tipi diversi di metodi di screening. Sebbene i metodi qualitativi e quantitativi siano definiti nel regolamento di esecuzione (UE) 2021/808, manca una spiegazione del metodo di screening semiquantitativo. È pertanto opportuno aggiungere una spiegazione di questo tipo di metodo alla classificazione dei metodi analitici.
- (9) Le prescrizioni relative all'esecuzione di svariati esperimenti singoli per ciascuna modifica importante fanno attualmente riferimento alla robustezza. Poiché in caso di modifica importante è necessario controllare anche le altre caratteristiche di rendimento, è opportuno menzionare tutte le necessarie caratteristiche di rendimento e modificare di conseguenza le pertinenti disposizioni.
- (10) Per una sostanza farmacologicamente attiva non consentita è richiesta la validazione di una concentrazione pari a 0,5 volte il valore di riferimento per interventi (RPA). Tuttavia a volte ciò non è ragionevolmente ottenibile perché la concentrazione è troppo bassa dal punto di vista analitico, e quindi la concentrazione pari a 0,5 volte l'RPA può essere sostituita dalla concentrazione più bassa ragionevolmente ottenibile tra 0,5 e 1,0 volte l'RPA. In alcuni casi il livello minimo di taratura può essere inferiore alle 0,5 volte l'RPA ed è pertanto opportuno aggiungere la possibilità di validazione a tale livello di concentrazione nelle pertinenti note a piè di pagina.
- (11) Per chiarire il numero totale di replicati necessari per determinare la ripetibilità e la riproducibilità intralaboratorio, tale numero dovrebbe essere indicato esplicitamente nelle pertinenti sottocategorie.
- (12) La validazione dei metodi analitici può essere effettuata in base a modelli alternativi utilizzando un piano sperimentale. Attualmente è disponibile la norma internazionale ISO/TS 23471:2022, ed è pertanto opportuno indicare il riferimento di tale norma come ulteriore possibilità per il calcolo delle caratteristiche del metodo.
- (13) Nel determinare la stabilità di un analita, un approccio isocrono consente una migliore determinazione delle potenziali instabilità dell'analita, nonché una stima dei periodi di conservazione adeguati. È pertanto opportuno aggiungere tale approccio alle opzioni per la determinazione della stabilità dell'analita.
- (14) Durante l'attuazione del regolamento di esecuzione (UE) 2021/808, la procedura che descrive la determinazione della stabilità dell'analita nella matrice ha dato luogo a interpretazioni diverse. È pertanto opportuno chiarire ulteriormente tale procedura, in particolare per quanto riguarda le fasi di fortificazione dell'analita e l'uso dei termini adeguati per le aliquote e le porzioni.
- (15) Attualmente il calcolo della capacità di rivelazione di screening ($CC\beta$) per il metodo 2 per le sostanze farmacologicamente attive non autorizzate o vietate comprende solo i casi in cui la concentrazione bersaglio per lo screening scelta fornisce risultati falsi conformi pari o inferiori al 5 %. È pertanto opportuno aggiungere una disposizione per il caso in cui la percentuale di risultati falsi conformi sia superiore a 5.

- (16) Per i metodi di screening è riportata solo la $CC\beta$ per la singola sostanza. La disposizione aggiuntiva relativa alla somma di $CC\beta$ inclusa nelle disposizioni per il calcolo della $CC\beta$ è pertanto ridondante e dovrebbe essere soppressa.
- (17) La necessità di determinare il recupero assoluto del metodo dipende dall'indisponibilità dello standard interno o dall'utilizzo o meno di una taratura della matrice fortificata. L'attuale formulazione secondo cui il recupero assoluto del metodo deve essere determinato se non si usa uno standard interno o una taratura della matrice fortificata può generare confusione, perché potrebbe dare a intendere che entrambi i casi si verifichino contemporaneamente, mentre solo una delle due condizioni è sufficiente per determinare il recupero assoluto.
- (18) Per quanto riguarda gli effetti matrice relativi, attualmente il valore del coefficiente di variazione si riferisce a una percentuale numerica massima senza distinzione delle frazioni di massa. Poiché nell'allegato I, tabella 2, del regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 sono indicati vari coefficienti di variazione accettabili a seconda delle diverse frazioni di massa, il coefficiente di variazione accettabile dovrebbe riferirsi ai valori elencati in tale tabella.
- (19) È pertanto opportuno modificare di conseguenza il regolamento di esecuzione (UE) 2021/808.
- (20) Le misure di cui al presente regolamento sono conformi al parere del comitato permanente per le piante, gli animali, gli alimenti e i mangimi,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

Il regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 è modificato come segue:

- (1) l'articolo 1 è sostituito dal seguente:

«Articolo 1

Oggetto e ambito di applicazione

Il presente regolamento stabilisce norme relative ai metodi di analisi utilizzati per il campionamento e per le analisi di laboratorio in relazione ai residui di sostanze farmacologicamente attive nel quadro dei piani nazionali quali definiti all'articolo 3 del regolamento di esecuzione (UE) 2022/1646 della Commissione (*). Stabilisce inoltre norme per l'interpretazione dei risultati analitici di tali analisi di laboratorio.

Il presente regolamento si applica ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alle prescrizioni relative alla presenza di residui di sostanze farmacologicamente attive.

(*) Regolamento di esecuzione (UE) 2022/1646 della Commissione, del 23 settembre 2022, relativo alle modalità pratiche uniformi di esecuzione dei controlli ufficiali per quanto riguarda l'uso di sostanze farmacologicamente attive autorizzate come medicinali veterinari o come additivi per mangimi, e dei loro residui, e l'uso di sostanze farmacologicamente attive vietate o non autorizzate e dei loro residui, al contenuto specifico dei piani di controllo nazionali pluriennali e alle modalità specifiche per l'elaborazione degli stessi (GU L 248 del 26.9.2022, pag. 32, ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2022/1646/oj).»;

- (2) all'articolo 2, il secondo comma è così modificato:

- a) il punto 36) è sostituito dal seguente:

«36) “riproducibilità”: precisione in condizioni in cui i risultati di prove sono ottenuti con lo stesso metodo, sullo stesso materiale di prova, in laboratori differenti con differenti operatori che utilizzano apparecchiature differenti (*);

(*) ISO 5725-1:2023 Accuratezza (esattezza e precisione) di metodi e risultati di misurazione – parte 1: Principi generali e definizioni (capitolo 3).»;

b) il punto 47) è sostituito dal seguente:

«47) “unità”: le unità descritte nella norma ISO 80000-1:2022 (*) e nella direttiva 80/181/CEE del Consiglio (**);

(*) ISO 80000-1:2022 Grandezze ed unità di misura – parte 1: Generalità (introduzione).

(**) Direttiva 80/181/CEE del Consiglio, del 20 dicembre 1979, per il ravvicinamento delle legislazioni degli Stati membri relative alle unità di misura che abroga la direttiva 71/354/CEE (GU L 39 del 15.2.1980, pag. 40, ELI: <http://data.europa.eu/eli/dir/1980/181/oj>).»;

(3) all'articolo 3, punto 4), dopo il primo comma è aggiunto il secondo comma seguente:

«Qualora durante la validazione siano state osservate deviazioni dai criteri di cui all'allegato I, tabelle 1 e 2, l'impatto di tali deviazioni sul risultato della validazione è analizzato in modo documentato e rintracciabile.»;

(4) all'articolo 7, il terzo comma è soppresso;

(5) l'allegato I del regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 è modificato conformemente all'allegato del presente regolamento.

Articolo 2

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 30 luglio 2024

Per la Commissione

La presidente

Ursula VON DER LEYEN

ALLEGATO

L'allegato I del regolamento di esecuzione (UE) 2021/808 è così modificato:

- 1) il punto 1.2.1 è sostituito dal seguente:

«1.2.1. **Prescrizioni generali per i metodi di conferma**

Per le sostanze vietate o non autorizzate, il CCa deve essere il più basso ragionevolmente ottenibile. Per le sostanze vietate o non autorizzate per le quali è stato stabilito un valore di riferimento per interventi a norma del regolamento (UE) 2019/1871, il CCa deve essere inferiore o pari al valore di riferimento per interventi.

Per le sostanze autorizzate il CCa deve essere superiore, ma il più vicino possibile, all'LMR o all'LM.

A fini di conferma sono utilizzati solo i metodi analitici per i quali si possa dimostrare, in modo documentato e rintracciabile, che sono validati e hanno un tasso di falsi non conformi (errore α) inferiore o pari all'1 % per le sostanze vietate o non autorizzate oppure inferiore o pari al 5 % per le sostanze autorizzate.

I metodi di conferma devono fornire informazioni sulla composizione chimica e sulla struttura dell'analita. Di conseguenza, i metodi di conferma basati esclusivamente sull'analisi cromatografica senza l'uso della rivelazione tramite spettrometria di massa non sono adeguati all'impiego isolato come metodi di conferma per le sostanze farmacologicamente attive vietate o non autorizzate. Nel caso in cui la spettrometria di massa non sia adeguata per le sostanze autorizzate, possono essere utilizzati altri metodi quali HPLC-DAD e HPLC-FLD, o una combinazione di essi.

Se necessario secondo il metodo di conferma, all'inizio della procedura di estrazione si deve aggiungere all'aliquota da analizzare uno standard interno adeguato. A seconda della disponibilità, sono impiegate forme stabili dell'analita marcate con isotopi, che sono particolarmente indicate per la rivelazione con la spettrometria di massa, oppure composti analoghi strettamente correlati in modo strutturale all'analita.»;

- 2) tra i punti 1.2.1 e 1.2.2 è aggiunto il seguente punto 1.2.1 bis:

«1.2.1 bis. **Uso specifico della co-cromatografia quando non sono disponibili standard interni**

Ove non sia possibile impiegare alcuno standard interno adeguato, l'identificazione dell'analita è preferibilmente confermata dalla co-cromatografia (*). In tal caso si ottiene un solo picco, e l'altezza (o l'area) del picco ingrandito è equivalente alla quantità di analita aggiunto. Se ciò non è possibile, si devono utilizzare standard a matrice abbinata o a matrice fortificata.

(*) La co-cromatografia è una procedura nella quale, prima delle fasi cromatografiche, l'estratto del campione viene diviso in due parti. Una parte viene sottoposta a cromatografia tale e quale; l'altra parte è miscelata con l'analita standard che deve essere misurato. La miscela è quindi sottoposta a cromatografia. La quantità di analita standard aggiunto deve essere simile alla quantità stimata dell'analita nell'estratto. La co-cromatografia è utilizzata per migliorare l'identificazione di un analita quando vengono impiegati metodi cromatografici, in particolare quando non si può utilizzare alcuno standard interno adeguato.»;

- 3) al punto 1.2.2.2, la frase dopo la tabella 2 è sostituita dalla seguente:

«Per le analisi effettuate in condizioni di ripetibilità, il coefficiente di variazione in condizioni di ripetibilità è generalmente inferiore ai due terzi dei valori elencati nella tabella 2 e deve essere pari o inferiore al coefficiente di variazione in condizioni di riproducibilità.»;

- 4) il punto 1.2.3 è sostituito dal seguente:

«1.2.3. **Prescrizioni relative alla separazione cromatografica**

1.2.3.1. Tempo di ritenzione minimo accettabile

Per la cromatografia liquida (LC) o la gascromatografia (GC), il tempo di ritenzione minimo accettabile per l'analita o gli analiti sotto esame è pari al doppio del tempo di ritenzione corrispondente al volume vuoto della colonna.

1.2.3.2. Tempo di ritenzione dell'analita nell'estratto

Il tempo di ritenzione dell'analita nell'estratto deve corrispondere a quello dello standard di taratura, di uno standard a matrice abbinata o di uno standard a matrice fortificata con una tolleranza di $\pm 0,1$ minuti. Per la cromatografia rapida, con un tempo di ritenzione inferiore a 2 minuti, è accettabile una deviazione inferiore al 5 % del tempo di ritenzione.

1.2.3.3. Tempo di ritenzione in caso di uso di uno standard interno

Se si usa uno standard interno, il rapporto tra il tempo di ritenzione cromatografica dell'analita e quello dello standard interno, ossia il tempo di ritenzione relativo dell'analita, deve corrispondere a quello dello standard di taratura, dello standard a matrice abbinata o dello standard a matrice fortificata con una deviazione massima dello 0,5 % per la gascromatografia e dell'1 % per la cromatografia liquida per i metodi validati a decorrere dalla data di entrata in vigore del presente regolamento.»

- 5) al punto 2.1, la tabella 5 è sostituita dalla seguente:

«Tabella 5

Classificazione dei metodi analitici in base alle caratteristiche di rendimento che devono essere determinate

| Metodo | Conferma | | Screening | | |
|--|-------------|--------------|-------------|----------------------|--------------|
| | Qualitativa | Quantitativa | Qualitativo | Semiquantitativo (*) | Quantitativo |
| Sostanze | A | A, B | A, B | A, B | A, B |
| Identificazione conformemente al punto 1.2 | x | x | | | |
| CC α | x | x | | | |
| CC β | - | | x | x | x |
| Esattezza | | x | | | x |
| Precisione | | x | | (x) | x |
| Effetto matrice relativo/recupero assoluto (*) | | x | | | x |
| Selettività/specificità | | x | x | x | x |
| Stabilità (#) | | x | x | x | x |
| Robustezza | | x | x | x | x |

-
- x: deve essere dimostrato, mediante validazione, il rispetto delle prescrizioni relative alle caratteristiche di rendimento.
- x) Non è necessario rispettare i requisiti di precisione di cui al punto 1.2.2.2 per i metodi di screening semiquantitativi. La precisione deve essere tuttavia determinata per dimostrare l'adeguatezza del metodo a evitare risultati analitici falsi conformi.
- A: sostanze vietate o non autorizzate
- B: sostanze autorizzate
- ([†]) Un metodo di screening semiquantitativo è un metodo di screening che fornisce risultati quantitativi ma non rispetta i requisiti di precisione di cui all'allegato I, tabella 2, del presente regolamento.
- (*) Per i metodi MS occorre provare mediante validazione il rispetto delle prescrizioni relative alle caratteristiche di rendimento. L'effetto matrice relativo del metodo deve essere determinato se tale effetto non è stato valutato durante la procedura di validazione. Il recupero assoluto del metodo deve essere determinato se non si usa uno standard interno o una taratura della matrice fortificata.
- (^{†*}) Se i dati sulla stabilità degli analiti in una matrice sono disponibili nella letteratura scientifica o grazie ad un altro laboratorio, non è necessario che tali dati siano nuovamente determinati dal laboratorio interessato. Il riferimento a dati disponibili sulla stabilità degli analiti in soluzione è tuttavia accettabile solo se sono applicate condizioni identiche.»;
-

- 6) il punto 2.2.1 è sostituito dal seguente:

«2.2.1. **Validazione convenzionale**

Il calcolo dei parametri in base ai metodi convenzionali richiede l'esecuzione di svariati esperimenti singoli (cfr. la tabella 5 del presente allegato). Per le modifiche importanti è necessario verificare il mantenimento della validità delle caratteristiche di rendimento. Per i metodi ad analita multiplo è possibile analizzare contemporaneamente svariati analiti, a condizione di aver precedentemente escluso possibili interferenze pertinenti. In tal modo è possibile determinare svariate caratteristiche di rendimento. Pertanto, per ridurre il carico di lavoro è consigliabile combinare per quanto possibile gli esperimenti (ad esempio, ripetibilità e riproducibilità intralaboratorio con la specificità, analisi dei campioni bianchi per determinare il limite di decisione di conferma e prova della specificità).»;

- 7) al punto 2.2.1.2, punto 1, la lettera a) è sostituita dalla seguente:

«a) 0,5 (**), 1,0 e 1,5 volte il valore di riferimento per interventi; oppure

(**) Se, per una sostanza farmacologicamente attiva non consentita, la validazione di una concentrazione pari a 0,5 volte il valore di riferimento per interventi non è ragionevolmente ottenibile, la concentrazione di 0,5 volte il valore di riferimento per interventi può essere sostituita dalla concentrazione più bassa ragionevolmente ottenibile tra 0,5 e 1,0 volte il valore di riferimento per interventi, o dal livello minimo di taratura, se inferiore a 0,5 volte il valore di riferimento per interventi.»;

- 8) il punto 2.2.1.3 è così modificato:

a) al punto 1, la lettera a) è sostituita dalla seguente:

«a) 0,5 (***), 1,0 e 1,5 volte il valore di riferimento per interventi; oppure

(***) Se, per una sostanza farmacologicamente attiva non consentita, la validazione di una concentrazione pari a 0,5 volte il valore di riferimento per interventi non è ragionevolmente ottenibile, la concentrazione di 0,5 volte il valore di riferimento per interventi può essere sostituita dalla concentrazione più bassa ragionevolmente ottenibile tra 0,5 e 1,0 volte il valore di riferimento per interventi, o dal livello minimo di taratura, se inferiore a 0,5 volte il valore di riferimento per interventi.»;

b) il punto 6 è sostituito dal seguente:

«6. ripetere tali passaggi in almeno altre due occasioni per un totale di almeno 18 replicati per livello.»;

- 9) il punto 2.2.1.4 è così modificato:

a) al punto 1, la lettera a) è sostituita dalla seguente:

«a) 0,5 (****), 1,0 e 1,5 volte il valore di riferimento per interventi; oppure

(****) Se, per una sostanza farmacologicamente attiva non consentita, la validazione di una concentrazione pari a 0,5 volte il valore di riferimento per interventi non è ragionevolmente ottenibile, la concentrazione di 0,5 volte il valore di riferimento per interventi può essere sostituita dalla concentrazione più bassa ragionevolmente ottenibile tra 0,5 e 1,0 volte il valore di riferimento per interventi, o dal livello minimo di taratura, se inferiore a 0,5 volte il valore di riferimento per interventi.»

b) il punto 5 è sostituito dal seguente:

«5. Ripetere tali passaggi in almeno altre due occasioni (per un totale di almeno 18 replicati per livello) con lotti differenti di materiale bianco, operatori differenti ed in condizioni ambientali il più possibile differenti, ad esempio, lotti di reagenti o di solventi differenti ecc., temperature ambientali differenti, strumenti differenti, oppure una variazione di altri parametri ecc.»

10) al punto 2.2.2, la frase dopo la tabella 6 è sostituita dalla seguente:

«Il calcolo delle caratteristiche del metodo deve essere effettuato come descritto da Jülicher *et al.* (****) o dalla norma ISO/TS 23471:2022 (*****).

(****) Jülicher, B., Gowik, P. e Uhlig, S. (1998), «Assessment of detection methods in trace analysis by means of a statistically based in-house validation concept». *Analyst*, 123, 173.

(*****) ISO/TS 23471:2022 *Experimental designs for evaluation of uncertainty – Use of factorial designs for determining uncertainty functions.*»;

11) al punto 2.5, il terzo comma è sostituito dal seguente:

«Qualora non siano disponibili i dati sulla stabilità richiesti, devono essere utilizzati gli approcci seguenti. È inoltre possibile ricorrere all'applicazione di un approccio isocrono (*****), con uno schema di temperatura di conservazione simile a quello di cui alla tabella 7 del presente allegato, che consente di determinare le potenziali instabilità dell'analita e di effettuare una stima dei periodi di conservazione adeguati.

(*****) Lamberty, A., Schimmel, H. e Pauwels, J. (1998) «The study of the stability of reference materials by isochronous measurements.» *Fres. J. Anal. Chem.* 360, 359.»;

12) il punto 2.5.2 è sostituito dal seguente:

«2.5.2. **Determinazione della stabilità dell'analita/degli analiti nella matrice**

1. Quando possibile, utilizzare campioni «incurred». Ove non sia disponibile alcuna matrice «incurred», deve essere utilizzata una matrice bianca fortificata con l'analita.
2. Se è disponibile una matrice «incurred» di interesse, omogeneizzarla, preferibilmente finché è ancora fresca. Dividere la matrice in cinque porzioni e analizzare un'aliquota da ciascuna porzione.
3. Se non è disponibile alcuna matrice «incurred», prendere della matrice bianca e omogeneizzarla. Dividere la matrice in cinque porzioni. Fortificare ciascuna porzione con l'analita attorno al livello di interesse, che deve preferibilmente essere preparato in una piccola quantità di soluzione acquosa. Analizzare immediatamente un'aliquota da ciascuna porzione.

4. Conservare le porzioni (sottocampioni) della matrice «incurred» omogeneizzata o della matrice bianca fortificata a una temperatura che rifletta le condizioni di conservazione adottate nel laboratorio per una determinata associazione analita/matrice e determinare le concentrazioni dell'analita dopo la conservazione a breve, medio e lungo termine (almeno per il tempo in cui il campione è solitamente conservato in laboratorio).
 5. Il valore medio di cinque aliquote di una porzione conservata non deve differire di più della riproducibilità intralaboratorio del metodo dal valore medio di cinque aliquote appena preparate. Il valore medio delle cinque aliquote appena preparate è utilizzato come base per calcolare la differenza percentuale.
 6. Registrare il tempo massimo di conservazione accettabile e le condizioni ottimali di conservazione.»;
- 13) il punto 2.7 è così modificato:
- a) al punto 1, la lettera b) è sostituita dalla seguente:
 - «b) metodo 2: studio del materiale bianco fortificato al livello di concentrazione della concentrazione bersaglio per lo screening scelta inizialmente. A tale livello di concentrazione devono essere analizzati 20 bianchi fortificati al fine di garantire una base affidabile per tale determinazione. Se a tale livello di concentrazione rimane $\leq 5\%$ di risultati falsi conformi, il livello equivale alla capacità di rivelazione del metodo. Se si ottiene $> 5\%$ di risultati falsi conformi, la concentrazione bersaglio per lo screening scelta deve essere aumentata e lo studio ripetuto per verificare la conformità al requisito del $\leq 5\%$ di risultati falsi conformi.»;
 - b) al punto 2, il secondo comma è soppresso;
- 14) al punto 2.9, il primo comma è sostituito dal seguente:
- «Non occorre determinare il recupero assoluto del metodo se è disponibile uno standard interno o una taratura della matrice fortificata, o se sono disponibili entrambi. In tutti gli altri casi il recupero assoluto del metodo deve essere determinato.»;
- 15) al punto 2.10, l'ultimo comma è sostituito dal seguente:
- «Il coefficiente di variazione non deve essere superiore ai valori di cui alla tabella 2 del presente allegato per il fattore matrice (standard normalizzato per IS).»;
- 16) al capitolo 3, il terzo comma è sostituito dal seguente:
- «Durante le analisi di routine, l'analisi dei materiali di riferimento certificati (MRC) è l'opzione preferibile per dimostrare il rendimento del metodo. Poiché raramente sono disponibili MRC che contengono gli analiti pertinenti ai livelli di concentrazione richiesti, possono essere utilizzati come alternativa anche materiali di riferimento forniti e caratterizzati dai laboratori di riferimento dell'Unione europea o dai laboratori che possiedono un accreditamento ISO/IEC 17043:2023 (*****). Come ulteriore alternativa possono essere utilizzati materiali di riferimento interni, controllati periodicamente.

(*****) ISO/IEC 17043:2023 Valutazione della conformità – Requisiti generali per le prove valutative interlaboratorio.».