

ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗΣ ΜΕΘΟΔΩΝ GMO

A. Ποιοτική Μέθοδος Ανίχνευσης GMOs

- 1) **Ειδικότητα (Επιλεκτικότητα) / Specificity**: Εάν πρόκειται για μέθοδο PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης) η ειδικότητα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 95%.
Τρόπος ελέγχου: Αναλύονται N_1 (π.χ. 20) θετικά και N_2 αρνητικά δείγματα.
 $\% \text{Ειδικότητα} = [\text{ορθώς αρνητικά} / N_2 (\text{αρνητικά δείγματα}) \times 100$.
- 2) **Ευαισθησία / Sensitivity**: Τρόπος ελέγχου: Αναλύονται N_1 (π.χ. 20) θετικά και N_2 αρνητικά δείγματα.
 $\% \text{Ειδικότητα} = [\text{ορθώς θετικά} / N_1 (\text{θετικά δείγματα}) \times 100$.
- 3) **Αποτελεσματικότητα / Efficiency** : Τρόπος ελέγχου: Αναλύονται N_1 (π.χ 20) θετικά και N_2 αρνητικά δείγματα.
 $\% \text{ Αποτελεσματικότητα} = [(\text{ορθώς θετικά} + \text{ορθώς αρνητικά}) / N_1 + N_2] \times 100$.
- 4) **Όριο ανίχνευσης / Detection limit**: Πρέπει να είναι μικρότερο του 0,1%. Προσδιορίζεται ως η χαμηλότερη περιεκτικότητα υλικού αναφοράς που δίνει θετική ανίχνευση σε ποσοστό τουλάχιστον 70% από 6 επαναλήψεις.
- 5) **Επιδράσεις μήτρας / Παρεμπόδιση, matrix effect / inhibition**: Απαιτείται επικύρωση στο αιτούμενο μητρικό υλικό (συγκεκριμένο φυτικό προϊόν).
- 6) **Πιστότητα / Precision (Επαναληψιμότητα) / Ενδιάμεση Πιστότητα / Intermediate Precision, Αναπαραγωγιμότητα / Reproducibility**: Ελέγχεται η «πιστότητα» θετικής και αρνητικής ανίχνευσης ενός θετικού και αρνητικού μάρτυρα σε συνθήκες επαναληψιμότητας, ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας και διεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας. Η επαναληψιμότητα πρέπει να έχει $\% \text{RSD} < 25$ σε όλη τη γραμμική περιοχή της μεθόδου.
- 7) **Ευστάθεια (Ανθεκτικότητα) / Robustness**: Ελέγχεται η επίδραση των πειραματικών συνθηκών (χρόνος επώασης, θερμοκρασία επώασης κατά την εκχύλιση και ποσότητα

δείγματος). Η απόκριση του προσδιορισμού πρέπει να μη μεταβάλλεται περισσότερο από 30%.

8) **Συμμετοχή σε διεργαστηριακές συγκρίσεις και σχήματα δοκιμών ικανότητας.**

B. Ποσοτική Μέθοδος Προσδιορισμού GMOS

Απαιτούνται όλα τα ανωτέρω και επιπλέον:

- 9) **Ακρίβεια / Accuracy:** Υπολογίζεται η ανάκτηση (Recovery) της μεθόδου με χρήση Πιστοποιημένων Υλικών Αναφοράς (CRMs). Δεδομένου ότι η διαθεσιμότητα CRMs περιορίζεται σε ελάχιστο αριθμό υποστρωμάτων, θεωρείται αποδεκτή η τιμή και η αβεβαιότητα υλικού που έχει εξετασθεί από ένα άλλο διαπιστευμένο εργαστήριο για ποσοτικό προσδιορισμό GMOs στο συγκεκριμένο υπόστρωμα ή διεργαστηριακά. Κριτήριο αποδοχής $\pm 25\%$ της τιμής αναφοράς σε όλη τη γραμμική περιοχή.
- 10) **Όριο Ποσοτικοποίησης / Quantitation Limit:** Είναι το τριπλάσιο του Ορίου Ανίχνευσης και προσδιορίζεται ως το 10-πλάσιο της SD του αραιότερου προτύπου ή δείγματος. Κριτήριο αποδοχής να είναι μικρότερο του 1/10 του νομοθετικού ορίου με RSD μικρότερο του 25%.
- 11) **Γραμμική περιοχή καμπύλης αναφοράς:** Πρέπει να περιλαμβάνει το 1/10 και τουλάχιστον 5 φορές τη συγκέντρωση στόχο – νομοθετικό όριο (π.χ. για όριο 0,9% η περιοχή πρέπει να είναι από 0,09% έως 4,5%.
- 12) **Γραμμικότητα (Linearity):** Εξετάζεται η γραμμικότητα της καμπύλης βαθμονόμησης C_i ως προς \log περιεκτικότητας προτύπων και εκφράζεται από το συντελεστή συσχέτισης (correlation coefficient) ($R^2 \geq 0,98$). Η κλίση πρέπει να κυμαίνεται από -3,1 έως -3,6.
- 13) **Προσδιορισμός αβεβαιότητας:** Υπολογίζεται από την τυπική απόκλιση αναπαραγωγιμότητας και την αβεβαιότητα των προτύπων.