Ce document constitue un outil de documentation et n'engage pas la responsabilité des institutions

►**B**

DIRECTIVE 2002/70/CE DE LA COMMISSION

du 26 juillet 2002

établissant des prescriptions pour la détermination des teneurs en dioxines et en PCB de type dioxine des aliments des animaux

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

(JO L 209 du 6.8.2002, p. 15)

Modifiée par:

		Journal officiel		
		nº	page	date
►**M1**	Directive 2005/7/CE de la Commission du 27 janvier 2005	L 27	41	29.1.2005

▼B

DIRECTIVE 2002/70/CE DE LA COMMISSION

du 26 juillet 2002

établissant des prescriptions pour la détermination des teneurs en dioxines et en PCB de type dioxine des aliments des animaux

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 70/373/CEE du Conseil du 20 juillet 1970 concernant l'introduction de modes de prélèvement d'échantillons et de méthodes d'analyse communautaires pour le contrôle officiel des aliments des animaux ([1]), modifiée en dernier lieu par l'acte d'adhésion de l'Autriche, de la Finlande et de la Suède, et notamment son article 2,

considérant ce qui suit:

(1) La directive 1999/29/CE du Conseil du 22 avril 1999 concernant les substances et produits indésirables dans l'alimentation des animaux ([2]), modifiée en dernier lieu par la directive 2001/102/CE ([3]), établit des teneurs maximales pour les dioxines et les furanes dans plusieurs matières premières d'aliments des animaux et dans plusieurs aliments des animaux.

(2) Il est nécessaire d'établir des prescriptions plus spécifiques applicables à la méthode d'analyse, de façon à garantir que les laboratoires utilisent des méthodes d'analyse présentant des niveaux de performance comparables.

(3) Les dispositions concernant le mode de prélèvement des échantillons et les méthodes d'analyse ont été établies sur la base des connaissances actuelles et pourront être adaptées à l'évolution des connaissances scientifiques et techniques.

(4) Les dispositions de la présente directive concernent exclusivement l'analyse des dioxines et des PCB de type dioxine dans le cadre de la mise en œuvre de la directive 2001/102/CE modifiant la directive 1999/29/CE concernant les substances et produits indésirables dans l'alimentation des animaux.

(5) Il convient de mettre en œuvre une stratégie active en vue d'obtenir des données fiables et complètes sur la présence de PCB de type dioxine dans les matières premières des aliments des animaux et dans les aliments des animaux. Il convient donc d'établir des prescriptions concernant les méthodes d'analyse à utiliser pour déterminer la teneur en PCB de type dioxine des matières premières des aliments des animaux et des aliments des animaux.

(6) Une méthode analytique de dépistage dont la validité a été démontrée et est largement reconnue, et qui est dotée d'une grande capacité, peut être utilisée en vue de sélectionner les échantillons présentant une teneur significative en dioxine. La teneur en dioxine de ces échantillons doit ensuite être déterminée au moyen d'une méthode analytique de confirmation. C'est pourquoi il convient de fixer des prescriptions pour les méthodes analytiques de confirmation et pour la méthode de dépistage.

(7) Les mesures prévues par la présente directive sont conformes à l'avis du comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale,

([1]) JO L 170 du 3.8.1970, p. 2.
([2]) JO L 115 du 4.5.1999, p. 32.
([3]) JO L 6 du 10.1.2002, p. 45.

▼B

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article premier

Les États membres garantissent que les prélèvements d'échantillons destinés au contrôle officiel des teneurs en dioxines et en furanes des aliments des animaux et à la détermination des teneurs en PCB de type dioxine des aliments des animaux sont effectués conformément aux méthodes décrites à l'annexe I.

Article 2

Les États membres garantissent que la préparation des échantillons et les méthodes d'analyse utilisées pour le contrôle officiel des teneurs en dioxines et en furanes des aliments des animaux et pour la détermination des teneurs en PCB de type dioxine des aliments des animaux sont conformes aux critères décrits à l'annexe II.

Article 3

Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires et administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive au plus tard le 28 février 2003. Ils en informent immédiatement la Commission.

Lorsque les États membres adoptent ces dispositions, celles-ci contiennent une référence à la présente directive ou sont accompagnées d'une telle référence lors de leur publication officielle. Les modalités de cette référence sont arrêtées par les États membres.

Article 4

La présente directive entre en vigueur le vingtième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel des Communautés européennes*.

Article 5

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

▼B

ANNEXE I

MÉTHODES DE PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS POUR LE CONTRÔLE OFFICIEL DES TENEURS EN DIOXINES (PCDD/PCDF) ET POUR LE DOSAGE DES PCB DE TYPE DIOXINE DANS CERTAINS ALIMENTS DES ANIMAUX

▼M1

1. **Objet et domaine d'application**

Les échantillons destinés au contrôle officiel des teneurs en dioxines (PCDD/PCDF) des aliments des animaux ainsi qu'à la détermination des teneurs en PCB de type dioxine ([1]) des aliments des animaux sont à prélever conformément aux dispositions de la directive 76/371/CEE. Les exigences quantitatives concernant les contrôles des substances ou produits répartis uniformément dans les aliments pour animaux prévues au point 5.A. de l'annexe à la directive 76/371/CEE doivent être appliquées. Les échantillons globaux ainsi obtenus sont considérés comme représentatifs des lots ou sous-lots sur lesquels ils sont prélevés. Le respect des teneurs maximales fixées dans la directive 2002/32/CE du Parlement européen et du Conseil ([2]) est établi sur la base des teneurs déterminées dans les échantillons de laboratoire.

2. **Conformité du lot ou sous-lot aux spécifications**

Le lot est accepté si le résultat d'une analyse unique n'excède pas la teneur maximale correspondante fixée dans la directive 2002/32/CE compte tenu de l'incertitude de mesure.

Le lot n'est pas conforme à la teneur maximale fixée dans la directive 2002/32/CE si le résultat analytique confirmé par une double analyse et calculé sous forme de moyenne d'au moins deux déterminations distinctes dépasse quasi certainement la teneur maximale compte tenu de l'incertitude de mesure.

L'incertitude de mesure peut être prise en compte de l'une des deux manières suivantes:

— en calculant l'incertitude étendue à l'aide d'un coefficient de couverture 2 qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %;

([1]) Tableau des PCB de type dioxine

Congénère	Valeur du TEF	Congénère	Valeur du TEF
Dibenzo-p-dioxines **(«PCDD»)**		PCB «de type dioxine»: **PCB non-ortho + PCB mono-ortho**	
2,3,7,8-TCDD	1	**PCB non-orthoPCB mono-ortho**	
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB 77	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 169	0,01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01		
OCDD	0,0001		
Dibenzofuranes **(«PCDF»)**		**PCB mono-ortho**	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 114	0,0005
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 118	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,0001
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Abréviations utilisées: «T» = tétra; «Pe» = penta; «Hx» = hexa; «Hp» = hepta; «O» = octa; «CDD» = chlorodibenzodioxine; «CDF» = chlorodibenzofurane; «CB» = chlorobiphényle.

([2]) JO L 140 du 30.5.2002, p. 10.

▼**M1**

— en établissant la limite de décision (CCα) conformément aux dispositions de la décision 2002/657/CE de la Commission ([1]) (point 3.1.2.5 de l'annexe — cas de substances pour lesquelles une limite autorisée est fixée).

Les règles d'interprétation ici définies sont applicables aux résultats d'analyse des échantillons destinés au contrôle officiel. Elles ne portent pas atteinte au droit des États membres d'appliquer les règles nationales en cas d'analyse à des fins de défense ou d'arbitrage conformément à l'article 18 de la directive 95/53 ([2]).

([1]) JO 221 du 17.8.2002, p. 8.
([2]) JO L 265 du 8.11.1995, p. 17.

▼B

ANNEXE II

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET PRESCRIPTIONS RELATIVES AUX MÉTHODES D'ANALYSE UTILISÉES POUR LE CONTRÔLE OFFICIEL DES TENEURS EN DIOXINES (PCDD/PCDF) DE CERTAINS ALIMENTS DES ANIMAUX ET POUR LE DOSAGE DES PCB DE TYPE DIOXINE DANS CERTAINS ALIMENTS DES ANIMAUX

1. **Objet et domaine d'application**

Ces prescriptions s'appliquent aux analyses de matières premières des aliments des animaux et d'aliments des animaux eux-mêmes aux fins du dosage des dioxines [dibenzo-p-dioxines polychlorées (PCDD) et dibenzofuranes polychlorés (PCDF)] et des polychlorobiphényles (PCB) de type dioxine.

Pour surveiller la présence de dioxines dans les aliments des animaux, il est possible de mettre en œuvre une stratégie reposant sur une méthode de dépistage, afin de sélectionner les échantillons dont la teneur en dioxines et en PCB de type dioxine est, soit inférieure au niveau considéré, sans que l'écart dépasse 30 à 40 %, soit supérieure au niveau considéré. La teneur en dioxines des échantillons présentant des teneurs significatives doit être déterminée et/ou confirmée au moyen d'une méthode de confirmation.

Les méthodes de dépistage visent à détecter la présence de dioxines et de PCB de type dioxine au niveau considéré. Elles sont dotées d'une grande capacité de traitement d'échantillons, ce qui permet de passer au crible de nombreux échantillons en vue de détecter ceux qui pourraient s'avérer positifs. Elles sont spécialement conçues pour éviter les faux résultats négatifs.

Les méthodes de confirmation fournissent des informations complètes ou complémentaires permettant l'identification et la quantification univoque de dioxines et de PCB de type dioxine au niveau considéré.

2. **Contexte**

Du fait que les échantillons de l'environnement et les échantillons biologiques (y compris les échantillons de matières premières d'aliments des animaux ou d'aliments des animaux) contiennent en général des mélanges complexes de différents congénères de dioxines, le concept de facteurs d'équivalence toxique (TEF) a été créé pour faciliter l'évaluation des risques. Ces TEF ont été établis pour exprimer les concentrations de mélanges de PCDD et de PCDF substitués en 2,3,7,8 et, depuis peu, de certains PCB non-ortho et mono-ortho substitués ayant des propriétés semblables à celles des dioxines, en équivalents toxiques (TEQ) de la 2,3,7,8-TCDD (annexe I, note 1 de bas de page).

Les concentrations de chaque substance dans un échantillon donné sont multipliées par leurs TEF respectifs, puis elles sont additionnées de façon à obtenir la concentration totale en composés de type dioxine, exprimée en TEQ.

Pour le calcul de l'«estimation haute», on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à la limite de quantification.

Pour le calcul de l'«estimation basse», on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à zéro.

Pour le calcul de l'«estimation intermédiaire», on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à la moitié de la limite de quantification.

▼M1

Aux fins de la présente directive uniquement, la limite spécifique acceptée de quantification d'un congénère est la concentration d'un analyte dans l'extrait d'un échantillon qui produit une réponse instrumentale aux deux ions différents à contrôler par un rapport S/B (signal/bruit) de 3:1 pour le signal le moins sensible et remplit les conditions de base telles que, par exemple, temps de rétention, rapport isotopique selon la procédure de détermination décrite dans la méthode EPA 1613, révision B.

▼B

3. **Prescriptions d'assurance qualité pour la préparation des échantillons**

Les dispositions générales concernant la préparation des échantillons en vue de l'analyse, telles qu'elles sont définies dans l'annexe de la directive 81/680/CEE de la Commission du 30 juillet 1981 modifiant les directives 71/250/CEE, 71/393/CEE, 72/199/CEE, 73/46/CEE, 74/203/CEE, 75/84/CEE, 76/372/CEE et 78/633/CEE portant fixation de méthodes d'analyse communautaires pour le contrôle officiel des aliments des animaux [1] s'appliquent.

En outre, les prescriptions suivantes s'appliquent:

— les échantillons doivent être conservés et transportés dans des récipients en verre, en aluminium, en polypropylène ou en polyéthylène. Toute trace de poussière de papier doit être enlevée du contenant de l'échantillon. La verrerie doit être rincée à l'aide de solvants préalablement soumis à un contrôle de détection de dioxines,

— un essai à blanc doit être réalisé, en effectuant l'ensemble de la procédure analytique avec pour seule différence l'absence de l'échantillon,

— le poids de l'extrait doit être suffisamment élevé, de façon à répondre aux exigences de sensibilité.

4. **Prescriptions applicables aux laboratoires**

— Les laboratoires doivent démontrer la validité de la méthode dans une plage autour de la limite maximale réglementaire, par exemple à des niveaux égaux à 0,5 fois, 1 fois et 2 fois ce niveau, avec un coefficient de variation acceptable pour les analyses répétées. Pour plus de précisions sur les critères de validité, se reporter au point 5.

— La limite de quantification pour une méthode de confirmation ne doit pas dépasser le cinquième du niveau considéré, pour garantir des coefficients de variation acceptables dans la plage susmentionnée.

— Des essais à blanc et des expériences avec enrichissement ou des analyses sur des échantillons de contrôle (si possible, des matériaux de référence certifiés) doivent être effectués régulièrement, dans le cadre des mesures d'assurance qualité internes.

— Des participations couronnées de succès à des études interlaboratoires qui évaluent la compétence du laboratoire sont la meilleure façon de démontrer l'aptitude de ce dernier à effectuer des analyses spécifiques. Cependant, une participation réussie à une étude interlaboratoire portant, par exemple, sur des échantillons de sols ou d'eaux usées, ne suffit pas à démontrer une compétence pour les échantillons de denrées alimentaires ou d'aliments des animaux, qui présentent des niveaux de contamination inférieurs. C'est pourquoi la participation continuelle à des études interlaboratoires sur la détermination des teneurs en dioxine et en PCB de type dioxine des matrices d'aliments des animaux et/ou de denrées alimentaires correspondantes est obligatoire.

— Les laboratoires doivent être acrédités par un organisme habilité qui se conforme au guide ISO/CEI 58, de manière à garantir qu'ils appliquent les procédures d'assurance qualité à leurs analyses. Les laboratoires doivent être agréés selon la norme ISO/CEI 17025:1999.

5. **Prescriptions concernant les procédures d'analyse relatives aux dioxines et aux PCB de type dioxine**

Prescriptions fondamentales de validité des procédures d'analyse

— *Sensibilité élevée et faibles limites de détection*. En ce qui concerne les PCDD et les PCDF, les seuils de détection doivent être de l'ordre du picogramme de TEQ (10^{-12} g), étant donné la toxicité extrêmement élevée de ces composés. Il est connu que les PCB se présentent en quantités plus élevées que les PCDD ou PCDF. Pour la plupart des congénères du groupe des PCB, une sensibilité de l'ordre du nanogramme (10^{-9} g) est suffisante. Cependant, pour la mesure des congénères du groupe des PCB de type dioxine plus toxiques (en particulier les congénères non-ortho substitués), il convient d'atteindre la même sensibilité que pour les PCDD et les PCDF.

— *Grande sélectivité (spécificité)*. Il est nécessaire de distinguer les PCDD, les PCDF et les PCB de type dioxine d'une multitude d'autres composés extraits simultanément de l'échantillon, susceptibles d'interférer, et qui

[1] JO L 246 du 29.8.1981, p. 32.

▼B

sont présents dans des concentrations supérieures de plusieurs ordres de grandeur à celle des analytes à doser. Pour les méthodes de chromatographie en phase gazeuse et/ou de spectrométrie de masse (CG/SM), il est nécessaire de distinguer entre plusieurs congénères, notamment entre les congénères toxiques (c'est-à-dire les dix-sept PCDD et PCDF substitués en 2,3,7,8 et les PCB de type dioxine) et les autres congénères. Les bio-essais doivent permettre de déterminer sélectivement les valeurs de TEQ, en tant que somme de PCDD, PCDF et PCB de type dioxine.

— *Grande exactitude (justesse et fidélité)*. L'essai doit fournir une estimation valide et fiable de la concentration réelle d'un échantillon. Une grande exactitude (exactitude de la mesure: degré de concordance entre le résultat de la mesure et la valeur réelle ou attribuée de la grandeur à mesurer) est nécessaire pour empêcher qu'un résultat d'analyse d'échantillon ne soit rejeté en raison du manque de fiabilité de l'estimation des TEQ. L'exactitude est une expression de la justesse (la différence entre la valeur moyenne mesurée pour un analyte dans un matériau certifié et sa valeur certifiée, exprimée en pourcentage de cette valeur) et de la fidélité (la fidélité est généralement calculée sous forme d'écart-type; elle englobe la répétabilité et la reproductibilité et indique le degré de concordance entre les résultats obtenus par application répétée du procédé expérimental dans des conditions déterminées).

Les méthodes de dépistage peuvent comprendre des bio-essais et des méthodes CG/SM. Les méthodes de confirmation sont des méthodes de chromatographie en phase gazeuse à haute résolution/de spectrométrie de masse à haute résolution (CGHR/SMHR). Les critères suivants doivent être remplis pour la valeur totale en TEQ:

	méthodes de dépistage	méthodes de confirmation
taux de faux négatifs	< 1 %	
justesse		– 20 % à + 20 %
coefficient de variation	< 30 %	< 15 %

6. **Prescriptions spécifiques concernant les méthodes CG/SM utilisées à des fins de dépistage ou de confirmation**

— Des étalons internes de PCDD/F substitués en 2,3,7,8 marqués au ^{13}C (et des étalons internes de PCB de type dioxine marqués au ^{13}C, si des PCB de type dioxine doivent être dosés) doivent être ajoutés au tout début de la méthode d'analyse, par exemple avant la phase d'extraction, afin de valider la procédure analytique. Au moins un congénère doit être ajouté pour chacun des groupes isomères tetra à octachlorés des PCDD/F (et au moins un congénère pour chaque groupe isomère des PCB de type dioxine, si des PCB de type dioxine doivent être dosés) (une autre méthode consiste à ajouter au moins un congénère pour chaque fonction d'enregistrement d'un isomère sélectionné par spectrométrie de masse utilisée pour le contrôle des PCDD/F et des PCB de type dioxine). Il est fortement recommandé, surtout pour les méthodes de confirmation, d'utiliser l'ensemble des dix-sept étalons internes de PCDD/F substitués en 2,3,7,8 marqués au ^{13}C ainsi que la totalité des douze étalons internes de PCB de type dioxine marqués au ^{13}C (si des PCB de type dioxine doivent être dosés).

Des facteurs de réponse relatifs doivent également être déterminés dans le cas des congénères pour lesquels aucun analogue marqué au ^{13}C n'est ajouté, en utilisant des solutions d'étalonnage appropriées.

— Pour les aliments des animaux d'origine végétale et les aliments des animaux d'origine animale contenant moins de 10 % de graisses, il est obligatoire d'ajouter les étalons internes avant la phase d'extraction. Pour les aliments des animaux d'origine animale contenant plus de 10 % de graisses, les étalons internes peuvent être ajoutés soit avant la phase d'extraction soit après l'extraction des graisses. Il convient de valider adéquatement l'efficacité de l'extraction, en fonction de la phase au cours de laquelle les étalons internes ont été introduits et de la façon dont les résultats sont consignés (sur base du produit ou des graisses).

— Avant l'analyse CG/SM, un ou deux étalons de substitution doivent être ajoutés.

▼B

— Un contrôle de récupération est nécessaire. Dans le cas des méthodes de confirmation, les taux de récupération des étalons internes doivent se situer dans une plage allant de 60 à 120 %. Pour des congénères individuels, en particulier pour certaines dibenzodioxines et dibenzofuranes hepta et octachlorés, des taux de récupération inférieurs ou supérieurs sont acceptables, à condition que leur contribution à la valeur TEQ ne dépasse pas 10 % de la valeur totale TEQ (en tenant compte uniquement des PCDD/F). Dans le cas des méthodes de dépistage, les taux de récupération doivent se situer dans une plage allant de 30 à 140 %.

— Il convient de séparer les dioxines des composés chlorés interférents, tels que les PCB et les diphényléthers chlorés, en utilisant des techniques chromatographiques appropriées (de préférence au moyen d'une colonne de florisil, d'alumine et/ou de charbon).

— La séparation des isomères par chromatographie en phase gazeuse doit être suffisante (< 25 % de pic à pic entre 1,2,3,4,7,8-HxCDF et 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

— Le dosage doit être effectué conformément à la méthode EPA 1613, révision B, intitulée «Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS» de l'agence pour la protection de l'environnement des États-Unis ou à une autre méthode présentant des critères d'efficacité équivalents.

— L'écart entre l'estimation haute et l'estimation basse de l'ensemble des congénères ne doit pas dépasser 20 % pour les aliments des animaux dont la contamination par les dioxines est d'environ du ou dépasse le niveau maximal. Pour les aliments des animaux dont le niveau de contamination est largement inférieur au niveau maximal, l'écart peut se situer dans une plage allant de 25 à 40 %.

7. **Méthodes analytiques de dépistage**

7.1. *Introduction*

Différentes approches analytiques peuvent être mises en œuvre pour la méthode de dépistage: une approche de dépistage pure et une approche quantitative.

Approche de dépistage

La réponse des échantillons est comparée à celle d'un échantillon de référence, au niveau considéré. Les échantillons dont la réponse est inférieure à celle de la référence sont déclarés négatifs et ceux dont la réponse est supérieure à celle de la référence sont considérés comme positifs. Prescriptions:

— dans chaque série d'essais, un échantillon blanc et un ou des échantillons de référence doivent être extraits et testés au même moment et dans les mêmes conditions. La réponse de l'échantillon de référence doit être nettement plus élevée que celle du blanc,

— des échantillons de référence supplémentaires, d'une concentration égale à 0,5 fois et 2 fois le niveau considéré, doivent être inclus, pour démontrer l'efficacité de l'essai dans la plage pertinente pour le contrôle du niveau considéré,

— dans le cas où l'on procède à l'essai d'autres matrices, la validité du ou des échantillons de référence doit être prouvée, en utilisant de préférence des échantillons dont la valeur de TEQ, établie par CGHR/SMHR, est de l'ordre de celui de l'échantillon de référence ou, à défaut, un blanc enrichi pour atteindre ce niveau,

— étant donné qu'aucun étalon interne ne peut être utilisé dans le cadre des bio-essais, les tests de répétabilité sont d'une grande importance pour obtenir des données sur l'écart-type au sein d'une série d'essais. Le coefficient de variation doit être inférieur à 30 %,

— dans le cas des bio-essais, il convient de définir les composés cibles, les interférences potentielles, ainsi que la valeur maximale tolérée pour le blanc.

▼B

Approche quantitative

L'approche quantitative comprend obligatoirement des séries de dilution types, un processus de nettoyage et de mesurage double ou triple, ainsi que des essais à blanc et des tests de récupération. Le résultat peut être exprimé en TEQ, ce qui suppose que les composés à l'origine du signal satisfont au principe du TEQ. À cette fin, on peut utiliser la TCDD (ou un mélange type de dioxines/furanes) pour élaborer une courbe d'étalonnage, qui permet de calculer la valeur de TEQ dans l'extrait et par conséquent, dans l'échantillon. Cette quantité est ensuite corrigée de la valeur de TEQ calculée pour l'échantillon blanc (pour tenir compte des impuretés provenant des solvants ou des substances chimiques utilisés) et pour la récupération (cette dernière quantité est calculée à partir de la valeur TEQ dans un échantillon de contrôle de la qualité dont la concentration est proche du niveau considéré). Il ne faut jamais perdre de vue qu'une partie de la perte apparente de la récupération peut être due à des effets de matrice et/ou à des écarts entre les valeurs des TEF pour les bio-essais et les valeurs officielles des TEF établies par l'OMS.

7.2. *Prescriptions concernant les méthodes analytiques de dépistage*

— Le dépistage peut être effectué au moyen de méthodes d'analyse CG/SM et de bio-essais. Les prescriptions établies au point 6 doivent être utilisées pour les méthodes CG/SM. Des prescriptions spécifiques sont établies au point 7.3 pour les bio-essais cellulaires et au point 7.4 pour les bio-essais réalisés au moyen de *kits*.

— Des données doivent être fournies sur le nombre de résultats faux positifs et faux négatifs d'un grand nombre d'échantillons en dessous et au-dessus du niveau maximal ou du seuil d'intervention, par comparaison avec la valeur de TEQ déterminée par une méthode analytique de confirmation. Les taux réels de faux négatifs doivent être inférieurs à 1 %. Le taux de faux échantillons positifs doit être suffisamment faible pour que l'utilisation de la méthode de dépistage reste avantageuse.

— Les résultats positifs doivent toujours être confirmés par une méthode analytique de confirmation (CGHR/SMHR). En outre, des échantillons d'une large plage de TEQ doivent être confirmés par CGHR/SMHR (environ 2 à 10 % des échantillons négatifs). Des informations sur la correspondance entre les résultats des bio-essais et ceux de la CGHR/SMHR doivent être fournies.

7.3. *Prescriptions spécifiques aux bio-essais cellulaires*

— Pour les bio-essais, une série de concentrations de référence de TCDD ou d'un mélange dioxines/furanes (courbe de réponse avec $R^2 > 0,95$ pour une dose complète) est nécessaire lors de chaque essai. Cependant, pour le dépistage, une courbe plus détaillée dans la zone des faibles teneurs peut être utilisée pour l'analyse des échantillons à faible teneur.

— Pour les résultats du bio-essai dans un intervalle de temps constant, il convient d'utiliser une concentration de référence de TCDD (environ 3 fois la limite de quantification) sur un formulaire de contrôle qualité. On peut également se fonder sur la réponse relative d'un échantillon de référence comparée à une courbe d'étalonnage de TCDD, étant donné que la réponse des cellules peut dépendre d'un grand nombre de facteurs.

— Il convient de réaliser et de vérifier des graphiques de contrôle de qualité pour chaque type de matériau de référence, afin de garantir que le résultat est conforme aux indications fournies.

— L'induction de la dilution de l'échantillon utilisée doit se situer dans la partie linéaire de la courbe de réponse, en particulier pour les calculs quantitatifs. Les échantillons qui se situent au-delà de cette partie linéaire doivent être dilués et faire l'objet d'un nouvel essai. C'est pourquoi il est conseillé de tester au moins trois dilutions à la fois.

— L'écart type ne doit ni dépasser 15 % lorsqu'une triple mesure est effectuée pour chaque dilution d'échantillon, ni dépasser 30 % pour trois expériences indépendantes.

— Il est possible de choisir comme limite de détection une valeur égale à trois fois l'écart type du blanc de solvant ou de la réponse de fond. Une autre méthode consiste à prendre une concentration qui correspond à une réponse supérieure à la réponse de fond sur la courbe d'étalonnage du jour (facteur d'induction 5 fois supérieur au blanc de solvant). Il est possible de choisir comme limite de quantification une valeur cinq à six fois supérieure à l'écart type du blanc de solvant ou de prendre une

▼B

concentration qui correspond à une réponse nettement supérieure à la réponse de fond sur la courbe d'étalonnage du jour (facteur d'induction 10 fois supérieur au blanc de solvant).

7.4. *Prescriptions spécifiques aux bio-essais réalisés au moyen de «kits»* ([1])

— Il convient de suivre les instructions du fabricant en ce qui concerne la préparation des échantillons et les analyses.

— Les *kits* d'essai dont la date d'expiration est dépassée ne doivent pas être utilisés.

— Il convient de ne pas utiliser des matériaux ou composants prévus pour d'autres *kits*.

— La température de conservation des *kits* d'essais doit se situer dans la plage de températures de conservation spécifiée et leur température de fonctionnement doit être égale à la valeur spécifiée.

— La limite de détection pour les immuno-essais s'obtient en additionnant la moyenne et une valeur égale à 3 fois l'écart-type, pour une série de 10 analyses du blanc, et en divisant cette somme par la valeur de la pente dans l'équation de régression linéaire.

— Il convient d'utiliser des étalons de référence pour les essais en laboratoire, afin de garantir que la réponse à l'étalon se situe dans une plage acceptable.

8. **Indication des résultats**

Dans la mesure où la procédure analytique le permet, les résultats doivent comprendre les teneurs en congénères individuels des PCDD/PCDF et des PCB et les estimations haute, basse et intermédiaire doivent être indiqués, afin de consigner un maximum de données, ce qui permet une interprétation des résultats en fonction de prescriptions spécifiques.

Le rapport doit également mentionner la teneur en graisses de l'échantillon ainsi que la méthode utilisée pour extraire les graisses.

Les taux de récupérations des étalons internes individuels doivent être fournis s'ils se situent en dehors de la plage mentionnée au point 6 ou s'ils dépassent le niveau maximal. Dans tous les autres cas, ils doivent être fournis sur demande.

([1]) À ce jour, il n'a pas encore été prouvé que, parmi les bio-essais réalisés au moyen de kits commercialisés, il en existe au moins un qui dispose d'une sensibilité et d'une fiabilité suffisantes pour pouvoir être utilisé à des fins de dépistage de dioxines, aux niveaux requis pour les échantillons de denrées alimentaires et d'aliments des animaux.