Acest document reprezintă un instrument de documentare, iar instituțiile nu își asumă responsabilitatea pentru conținutul său.

►**B**

DIRECTIVA 2002/70/CE A COMISIEI

din 26 iulie 2002

de stabilire a cerințelor pentru determinarea nivelurilor de dioxine și de PCB de tipul dioxinelor din furaje

(Text cu relevanță pentru SEE)

(JO L 209, 6.8.2002, p. 15)

Astfel cum a fost modificată prin:

		Jurnalul Oficial		
		NR.	Pagina	Data
►**M1**	Directiva 2005/7/CE a Comisiei din 27 ianuarie 2005	L 27	41	29.1.2005

▼B

DIRECTIVA 2002/70/CE A COMISIEI

din 26 iulie 2002

de stabilire a cerințelor pentru determinarea nivelurilor de dioxine și de PCB de tipul dioxinelor din furaje

(Text cu relevanță pentru SEE)

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Europene,

având în vedere Directiva 70/373/CEE a Consiliului din 20 iulie 1970 privind introducerea modalităților de prelevare de probe și a metodelor comunitare de analiză pentru controlul oficial al furajelor ([1]), astfel cum a fost modificată ultima dată prin Actul de aderare a Austriei, a Finlandei și a Suediei, în special articolul 2,

întrucât:

(1) Directiva 1999/29/CE a Consiliului din 22 aprilie 1999 privind substanțele și produsele nedorite utilizate în hrana animalelor ([2]), astfel cum a fost modificată ultima dată prin Directiva 2001/102/CE ([3]), stabilește limite maxime pentru dioxinele și furanii utilizați în anumite furaje și materii prime pentru furaje.

(2) Este necesar să se instituie condiții care să fie respectate de metodele de analiză, pentru a se asigura faptul că laboratoarele utilizează metode de analiză cu niveluri comparabile de performanță.

(3) Dispozițiile privind prelevarea de probe și metodele de analiză au fost elaborate pe baza cunoștințelor actuale și pot fi adaptate astfel încât să se țină seama de progresul cunoștințelor științifice și tehnice.

(4) Dispozițiile prevăzute de prezenta directivă se referă exclusiv la analiza dioxinelor și a PCB de tipul dioxinelor pentru punerea în aplicare a Directivei 2001/102/CE de modificare a Directivei 1999/29/CE privind substanțele și produsele nedorite utilizate în hrana animalelor.

(5) Ar trebui pusă în practică o strategie activă pentru a obține date fiabile și complete cu privire la prezența PCB de tipul dioxinelor în furaje și în materiile prime furajere. Prin urmare, trebuie să se prevadă cerințe referitoare la metodele de analiză care urmează să fie utilizate la determinarea PCB de tipul dioxinelor în furaje și în materiile prime furajere.

(6) Pentru selectarea probelor cu niveluri semnificative de dioxine se poate utiliza o metodă analitică de depistare, a cărei valabilitate este recunoscută pe scară largă și cu un grad înalt de eficiență. Nivelurile de dioxine din probele vizate trebuie să fie determinate cu ajutorul unei metode analitice de confirmare. Prin urmare, este oportun să se stabilească cerințe referitoare la metodele analitice de confirmare și la metoda de depistare.

(7) Măsurile prevăzute de prezenta directivă sunt în conformitate cu avizul Comitetului permanent pentru lanțul alimentar și sănătatea animală,

ADOPTĂ PREZENTA DIRECTIVĂ:

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

▼B

Articolul 1

Statele membre se asigură că prelevarea de probe pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine și de furani și determinarea nivelurilor de PCB de tipul dioxinelor din furaje se efectuează în conformitate cu metodele descrise în anexa I.

Articolul 2

Statele membre se asigură că pregătirea probelor și metodele de analiză folosite pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine și de furani și determinarea nivelurilor de PCB de tipul dioxinelor din furaje respectă criteriile descrise în anexa II.

Articolul 3

Statele membre pun în aplicare actele cu putere de lege și actele administrative necesare pentru a se conforma prezentei directive până la 28 februarie 2003. Statele membre informează de îndată Comisia cu privire la aceasta.

Atunci când statele membre adoptă aceste acte, ele cuprind o trimitere la prezenta directivă sau sunt însoțite de o asemenea trimitere la data publicării lor oficiale. Statele membre stabilesc modalitatea de efectuare a acestei trimiteri.

Articolul 4

Prezenta directivă intră în vigoare în a douăzecea zi de la data publicării în *Jurnalul Oficial al Comunităților Europene*.

Articolul 5

Prezenta directivă se adresează statelor membre.

▼B

ANEXA I

METODE DE PRELEVARE DE PROBE PENTRU CONTROLUL OFICIAL AL NIVELURILOR DE DIOXINE (PCDD/PCDF) ŞI PENTRU DETERMINAREA NIVELURILOR DE PCB DE TIPUL DIOXINELOR DIN ANUMITE FURAJE

▼M1

1. **Obiectul şi domeniul de aplicare**

Probele destinate controlului oficial al conţinuturilor de dioxină (PCDD/PCDF) din furaje, precum şi determinării conţinuturilor de PCB de tip dioxină ([1]) din furaje trebuie prelevate în conformitate cu dispoziţiile Directivei 76/371/CEE. Este necesar să fie aplicate cerinţele cantitative privind controalele substanţelor sau ale produselor repartizate uniform în furajele prevăzute la punctul 5.A din anexa la Directiva 76/371/CEE. Probele globale astfel obţinute sunt considerate ca reprezentative pentru loturile sau subloturile din care sunt prelevate. Respectarea conţinuturilor maxime stabilite în Directiva 2002/32/CE a Parlamentului European şi a Consiliului ([2]) se stabileşte pe baza conţinuturilor determinate în probele de laborator.

2. **Conformitatea lotului sau sublotului cu specificaţiile**

Lotul este acceptat dacă rezultatul unei analize unice nu depăşeşte conţinutul maxim stabilit în Directiva 2002/32/CE, ţinând seama de incertitudinea măsurării.

Lotul nu este conform cu conţinutul maxim stabilit în Directiva 2002/32/CE dacă rezultatul analitic confirmat de o dublă analiză şi calculat sub forma unei medii a cel puţin două determinări distincte depăşeşte aproape sigur conţinutul maxim, ţinând seama de incertitudinea măsurării.

([1]) Tabelul PCB de tip dioxină

Congener	Valoarea TEF
Dibenzo-p-dioxine **(„PCDD")**	
2,3,7,8-TCDD	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01
OCDD	0,0001
Dibenzofurani **(„PCDF")**	
2,3,7,8-TCDF	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01
OCDF	0,0001
PCB *„de tip dioxină"*: **PCB non-orto + PCB mono-orto**	
PCB non-orto	
PCB 77	0,0001
PCB 81	0,0001
PCB 126	0,1
PCB 169	0,01
PCB mono-orto	
PCB 105	0,0001
PCB 114	0,0005
PCB 118	0,0001
PCB 123	0,0001
PCB 156	0,0005
PCB 157	0,0005
PCB 167	0,00001
PCB 189	0,0001

Abrevieri utilizate: „T" = tetra; „Pe" = penta; „Hc" = hexa; „Hp" = hepta; „O" = octa; „CDD" = clorodibenzodioxină; „CDF" = clorodibenzofuran; „CB" = clorobifenil.

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

▼**M1**

Incertitudinea măsurării poate fi luată în seamă într-unul dintre următoarele două moduri:

— calculând incertitudinea extinsă cu ajutorul unui coeficient de acoperire 2 care dă un nivel de încredere de aproximativ 95 %;

— stabilind limita de decizie (CCα) în conformitate cu dispozițiile Deciziei 2002/657/CE a Comisiei [1] (punctul 3.1.2.5 din anexă – cazul unor substanțe pentru care este stabilită o limită autorizată).

Regulile de interpretare definite aici se aplică la rezultatele analizei probelor destinate controlului oficial. Ele nu aduc atingere dreptului statelor membre de a aplica regulile naționale în cazul analizei efectuate în scopuri de apărare sau de arbitraj în conformitate cu articolul 18 din Directiva 95/53 [2].

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

▼B

ANEXA II

PREGĂTIREA PROBELOR ŞI CERINŢE PRIVIND METODELE DE ANALIZĂ UTILIZATE PENTRU CONTROLUL OFICIAL AL NIVELURILOR DE DIOXINE (PCDD/PCDF) ŞI PENTRU DETERMINAREA NIVELURILOR DE PCB DE TIPUL DIOXINELOR DIN ANUMITE FURAJE

1. **Obiectiv şi domeniu de aplicare**

Prezentele cerinţe ar trebui aplicate atunci când furajele şi materiile prime furajere sunt analizate pentru a se depista dioxinele [dibenzo-p-dioxine policlorurate (PCDD), dibenzofuranii policloruraţi (PCDF) şi bifenilii policloruraţi de tipul dioxinelor (PCB)].

Monitorizarea efectuată cu scopul de a detecta prezenţa dioxinelor în furaje se poate realiza prin intermediul unei strategii care implică o metodă de depistare, astfel încât să se selecteze acele probe în care nivelurile de dioxine şi de PCB de tipul dioxinelor sunt cu mai puţin de 30 %-40 % sub sau peste nivelul relevant. Concentraţia de dioxine din acele probe în care se identifică niveluri considerabile trebuie determinată/confirmată printr-o metodă de confirmare.

Metodele de depistare sunt metode utilizate pentru a se detecta prezenţa dioxinelor şi a PCB de tipul dioxinelor la nivelul studiat. Sunt metode de mare capacitate, drept pentru care se supun analizei un număr mare de probe, pentru a selecta apoi dintre ele pe cele care ar putea fi pozitive. Sunt concepute special pentru a evita rezultatele fals negative.

Metodele de confirmare sunt metode care furnizează date complete sau complementare care permit identificarea şi cuantificarea certă a dioxinelor şi a PCB de tipul dioxinelor la nivelul studiat.

2. **Context**

Având în vedere faptul că probele din mediu şi cele biologice (inclusiv probele prelevate din furaje/materii prime furajere) conţin, în general, amestecuri complexe de diverşi congeneri ai dioxinelor, a fost elaborat conceptul de factori de toxicitate echivalentă (TEF) pentru a facilita evaluarea riscurilor. Aceşti TEF au fost stabiliţi pentru a exprima concentraţiile de amestecuri de PCDD şi PCDF substituite în 2,3,7,8 şi, mai recent, de anumiţi PCB substituiţi în non-orto şi mono-orto clor, care au activitate similară dioxinelor, ca echivalenţi de toxicitate (TEQ) ai 2,3,7,8-TCDD (a se vedea anexa I nota de subsol 1).

Concentraţiile fiecărei substanţe într-o anumită probă se înmulţesc cu valorile TEF corespunzătoare şi apoi se adună la concentraţia totală de compuşi de tipul dioxinelor exprimată ca TEQ.

Pentru a calcula „cea mai ridicată estimare”, se consideră că valoarea contribuţiei fiecărui congener necuantificat la TEQ este egală cu limita de cuantificare.

Pentru a calcula „cea mai joasă estimare”, se consideră că valoarea contribuţiei fiecărui congener necuantificat la TEQ este egală cu zero.

Pentru a calcula „estimarea intermediară”, se consideră că valoarea contribuţiei fiecărui congener necuantificat la TEQ este egală cu jumătate din limita de cuantificare.

▼M1

Numai în sensul prezentei directive, limita specifică de cuantificare a unui congener acceptată este concentrarea unui analit în extrasul dintr-o probă care produce un răspuns instrumental la cei doi ioni diferiţi care trebuie controlaţi printr-un raport S/B (semnal/zgomot) de 3:1 pentru semnalul cel mai puţin sensibil şi îndeplineşte condiţiile de bază, cum sunt, de exemplu, timpul de retenţie, raportul izotopic conform procedurii de determinare descrisă în metoda EPA 1613, revizia B.

▼B

3. **Cerinţe de asigurare a calităţii care trebuie respectate la pregătirea probelor**

Se aplică dispoziţiile generale privind pregătirea probelor pentru analiză, stabilite de anexa la Directiva 81/680/CEE a Comisiei din 30 iulie 1981 de

▼B

modificare a Directivelor 71/250/CEE, 71/393/CEE, 72/199/CEE, 73/46/CEE, 74/203/CEE, 75/84/CEE, 76/372/CEE și 78/633/CEE de stabilire a metodelor de analiză comunitare pentru controlul oficial al furajelor ([1]).

De asemenea, trebuie să se îndeplinească următoarele cerințe:

— probele trebuie depozitate și transportate în recipiente de sticlă, aluminiu, polipropilenă sau polietilenă. Din recipientul care conține proba trebuie îndepărtate urmele de praf de hârtie. Recipientele de sticlă trebuie clătite cu solvenți care au fost analizați în prealabil pentru a se depista eventuala prezență a dioxinelor,

— se efectuează o analiză blanc, prin realizarea întregii proceduri analitice, însă fără a utiliza proba,

— masa probei utilizate pentru extracție trebuie să fie suficientă pentru a respecta cerințele referitoare la sensibilitate.

4. **Cerințe aplicabile laboratoarelor**

— Laboratoarele trebuie să demonstreze performanța unei metode în intervalul nivelului studiat, de exemplu 0,5 ×, 1 × și 2 × nivelul studiat, cu un coeficient acceptabil de variație pentru analize repetate. Pentru detalii privind criteriile de acceptare, a se vedea punctul 5.

— Limita de cuantificare pentru o metodă de confirmare trebuie să se situeze în intervalul unei cincimi din nivelul studiat, pentru a garanta că în intervalul nivelului studiat se regăsesc coeficienți de variație acceptabili.

— Ca măsuri interne de control al calității, trebuie efectuate periodic controale blanc, experimente cu îmbogățirea probei sau analize ale unor probe de control (dacă este posibil, cu material de referință certificat).

— Participarea încununată de succes la studii interlaboratoare, care evaluează competența laboratorului, este cea mai bună modalitate de a dovedi competența unui laborator în desfășurarea unor analize specifice. Cu toate acestea, participarea cu succes la studii interlaboratoare în care se analizează, de pildă, probe de sol sau de apă reziduală nu dovedește neapărat competența în domeniul alimentar sau al furajelor, care prezintă niveluri mai scăzute de contaminare. De aceea, este necesară participarea permanentă la studii interlaboratoare pentru determinarea dioxinelor și a PCB de tipul dioxinelor în structura alimentelor/furajelor în cauză.

— Laboratoarele sunt acreditate de un organism recunoscut care funcționează în conformitate cu ghidul ISO 58 pentru a asigura faptul că laboratoarele în cauză aplică gradul necesar de asigurare a calității analizelor. Laboratoarele trebuie să fie acreditate conform normei ISO/IEC/17025:1999.

5. **Cerințe aplicabile procedurilor analitice pentru dioxine și PCB de tipul dioxinelor**

Condiții de bază pentru acceptarea procedurilor analitice:

— *Sensibilitate ridicată și limite joase de detecție*. Pentru PCDD și PCDF, cantitățile detectabile trebuie să fie de ordinul picogramelor de TEQ (10^{-12} g), din cauza toxicității extreme a unora dintre acești compuși. Se cunoaște faptul că PCB sunt întâlniți în cantități mai ridicate decât PCDD și PCDF. Pentru majoritatea congenerilor de PCB, o sensibilitate de ordinul nanogramelor (10^{-9} g) este deja suficientă. Cu toate acestea, pentru măsurarea congenerilor PCB de tipul dioxinelor mai toxici (în special a congenerilor substituiți în non-orto), se poate aplica aceeași sensibilitate ca în cazul PCDD și PCDF.

— *Selectivitate (specificitate) ridicată*. Este necesar să se opereze o distincție între PCDD, PCDF și PCB de tipul dioxinelor dintr-o multitudine de alți compuși coextrași și cu posibile interferențe, prezenți în concentrații cu până la câteva ordine de mărime mai ridicate decât cele ale analiților studiați. Pentru metodele de cromatografie în fază gazoasă/spectrometrie de masă (CG/SM), este necesar să se facă deosebirea între diverșii congeneri, respectiv între cei toxici (de exemplu, cei șaptesprezece PCDD și PCDF substituiți în 2,3,7,8 și PCB de tipul dioxinelor) și ceilalți. Testele biologice trebuie să permită determinarea valorilor

([1]) JO L 246, 29.8.1981, p. 32.

▼B

TEQ în mod selectiv ca sumă de PCDD, PCDF și PCB de tipul dioxinelor.

— *Acuratețe ridicată (autenticitate și precizie)*. Determinarea trebuie să furnizeze o estimare valabilă și fiabilă a concentrației reale dintr-o probă. Acuratețea ridicată (acuratețea măsurătorii: gradul de apropiere dintre rezultatul unei măsurători și valoarea reală sau atribuită a mărimii de măsurat) este necesară pentru a se evita respingerea rezultatului unei măsurători din cauza fiabilității reduse a estimării TEQ. Acuratețea se exprimă prin autenticitate (diferența dintre valoarea medie măsurată pentru un analit pe un material certificat și valoarea sa certificată, exprimată ca procentaj din această valoare) și precizie (precizia se calculează în general ca abatere standard, incluzând repetabilitatea și reproductibilitatea, și indică gradul de apropiere dintre rezultatele obținute prin aplicarea procedurii experimentale de mai multe ori, în anumite condiții stabilite).

Metodele de depistare pot include teste biologice și metode CG/SM; metodele de confirmare cuprind cromatografia în fază gazoasă de înaltă rezoluție/spectrometria de masă de înaltă rezoluție (CGIR/SMIR). Pentru valoarea totală în TEQ trebuie respectate următoarele criterii:

	Metode de depistare	Metode de confirmare
Rata de rezultate fals negative	< 1 %	
Autenticitate		între – 20 % și + 20 %
CV	< 30 %	< 15 %

6. **Cerințe specifice privind metodele CG/SM care trebuie respectate în scopuri de depistare sau de confirmare**

— Încă de la începutul procedurii de analiză, de exemplu înainte de faza de extracție, trebuie adăugate etaloane interne de PCDD/F substituite în 2,3,7,8-clor și marcate cu ^{13}C (și etaloane interne de PCB de tipul dioxinelor marcate cu ^{13}C, dacă trebuie determinate dozele de PCB de tipul dioxinelor), pentru a valida procedura analitică. Trebuie adăugat cel puțin un congener pentru fiecare din grupurile de izomeri tetra-octaclorurați ai PCDD/F (și cel puțin un congener pentru fiecare din grupurile de izomeri ai PCB de tipul dioxinelor, dacă trebuie determinate dozele de PCB de tipul dioxinelor) (o altă metodă constă în adăugarea a cel puțin un congener pentru fiecare funcție de înregistrare a unui izomer selecționat prin spectrometrie de masă utilizată pentru controlul PCDD/F și al PCB de tipul dioxinelor). Se recomandă, mai ales în cazul metodelor de confirmare, utilizarea tuturor celor 17 etaloane interne de PCDD/F substituite în 2,3,7,8 și marcate cu ^{13}C, precum și a celor 12 etaloane interne de PCB de tipul dioxinelor marcate cu ^{13}C (în cazul în care trebuie determinate PCB de tipul dioxinelor).

Trebuie determinați, de asemenea, factorii relativi de reacție pentru acei congeneri pentru care nu se adaugă nici un analog marcat cu ^{13}C, prin intermediul unor soluții de etalonare adecvate.

— Pentru furajele de origine vegetală sau animală care conțin sub 10 % grăsime, este obligatorie adăugarea etaloanelor interne înainte de extracție. Pentru furajele de origine animală care conțin peste 10 % grăsime, etaloanele interne se pot adăuga fie înainte de extracție, fie după extragerea grăsimilor. Trebuie să se efectueze o validare adecvată a eficienței metodei de extracție, în funcție de etapa în care se introduc etaloanele interne și de modul în care se consemnează rezultatele (pe bază de produs sau de grăsimi).

— Înainte de analiza CG/SM, trebuie să se adauge unul sau două etaloane de recuperare (de înlocuire).

— Este necesar să se realizeze un control al recuperării. Pentru metodele de confirmare, recuperarea etaloanelor interne individuale trebuie să se situeze în intervalul 60 %-120 %. Se acceptă și recuperări mai mici sau mai mari pentru anumiți congeneri luați individual, în special pentru dibenzodioxinele și dibenzofuranii hepta- și octo-clorurați, atât timp cât contribuția acestora la valoarea TEQ nu depășește 10 % din

▼B

valoarea TEQ totală (bazată exclusiv pe PCDD/F). Pentru metodele de depistare, rata de recuperare trebuie să se situeze în intervalul 30 % - 140 %.

— Separarea dioxinelor de compușii clorurați care interferează, cum sunt PCB și difenil eterii clorurați, trebuie să se realizeze prin tehnici cromatografice adecvate (de preferință cu coloană de florisil, alumină și/sau carbon).

— Separarea prin cromatografie în fază gazoasă a izomerilor trebuie să fie suficientă (< 25 % de la vârf la vârf între 1,2,3,4,7,8-HxCDF și 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

— Determinarea trebuie să se realizeze conform Metodei EPA 1613 revizie B, intitulată „Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS" sau printr-o altă metodă prezentând criterii de performanță echivalente.

— Diferența dintre cea mai ridicată și cea mai joasă estimare nu trebuie să depășească 20 % pentru furajele caracterizate de o contaminare cu dioxine situată în intervalul nivelului maxim de contaminare sau peste acesta. Pentru furajele cu niveluri de contaminare mult sub nivelul maxim, diferența se poate situa în intervalul 25 % - 40 %.

7. **Metode analitice de depistare**

7.1. *Introducere*

Se pot utiliza diferite abordări analitice prin intermediul metodei de depistare: o depistare pură și o abordare cantitativă.

Depistare pură

Reacția probelor este comparată cu cea a unei probe de referință la nivelul studiat. Probele care dau un răspuns sub cel al referinței sunt declarate negative, iar cele care dau un răspuns mai ridicat sunt considerate pozitive. Cerințe:

— în fiecare serie de teste trebuie incluse o probă martor și una de referință, care trebuie extrase și testate simultan și în aceleași condiții. Reacția probei de referință trebuie să fie în mod clar mai ridicată decât cea a probei martor,

— trebuie incluse probe suplimentare de referință de 0,5 × și 2 × nivelul studiat, pentru a demonstra eficacitatea testului în intervalul relevant, pentru controlul nivelului studiat,

— când se testează alte structuri, trebui demonstrată valabilitatea probelor de referință, preferabil prin includerea de probe pentru care s-a demonstrat prin CGIR/SMIR că nivelul lor TEQ se situează în jurul celui corespunzător unei probe de referință sau unei probe martor îmbogățite la acest nivel,

— având în vedere faptul că nu se pot utiliza etaloane interne în testele biologice, testele de repetabilitate sunt foarte importante pentru obținerea unor informații privind abaterea standard în cadrul unei serii de teste. Coeficientul de variație trebuie să fie sub 30 %,

— pentru testele biologice trebuie definiți compușii vizați, posibilele interferențe și nivelurile martor maxime admise.

Abordare cantitativă

Aceasta presupune o serie de diluții standard, un proces de curățare și de măsurare dublu sau triplu, precum și controale martor și teste de recuperare. Rezultatul poate fi exprimat ca TEQ, presupunându-se astfel că acei compuși care se află la originea semnalului corespund principiului TEQ. În acest sens, se poate utiliza TCDD (sau un amestec standard de dioxine/furani) pentru a obține o curbă de etalonare care permite calcularea nivelului TEQ din extras și, deci, din probă. Cantitatea obținută se corectează apoi cu valoarea TEQ calculată pentru o probă martor (pentru a ține seama de impuritățile din solvenți și din substanțele chimice utilizate) și pentru recuperare (această cantitate fiind calculată pe baza valorii TEQ dintr-o probă de control al calității a cărei concentrație se apropie de nivelul studiat). Este esențial să se țină seama de faptul că o parte din aparenta pierdere la recuperare se poate datora efectelor de structură și/sau diferențelor dintre valorile TEF corespunzătoare testelor biologice și valorile TEF oficiale stabilite de OMS.

▼B

7.2. *Cerințe privind metodele analitice de depistare*

— Depistarea se poate face prin metode analitice CG/SM sau prin teste biologice. Pentru metodele CG/SM, trebuie utilizate cerințele prevăzute la punctul 6. Pentru testele biologice celulare se stabilesc cerințe specifice la punctul 7.3, iar pentru testele biologice realizate cu ajutorul truselor de testare se stabilesc cerințe specifice la punctul 7.4.

— Sunt necesare informații privind numărul de rezultate fals pozitive și fals negative obținute dintr-un număr mare de probe peste sau sub nivelul maxim sau nivelul de intervenție, prin comparație cu conținutul TEQ determinat printr-o metodă analitică de confirmare. Ratele reale de rezultate fals negative trebuie să se situeze sub 1 %. Rata de rezultate fals pozitive trebuie să fie suficient de scăzută pentru a face ca utilizarea instrumentului de depistare să rămână avantajoasă.

— Rezultatele pozitive trebuie confirmate întotdeauna printr-o metodă analitică de confirmare (CGIR/SMIR). De asemenea, probele dintr-un interval TEQ larg trebuie confirmate prin metode CGIR/SMIR (aproximativ 2 %-10 % din probele negative). Trebuie furnizate informații privind corespondența dintre rezultatele testelor biologice și ale metodelor CGIR/SMIR.

7.3. *Cerințe specifice pentru testele biologice celulare*

— La testarea biologică, cu ocazia fiecărui test este necesară o serie de concentrații de referință de TCDD sau dintr-un amestec de dioxine/furani (curbă de reacție cu $R^2 > 0,95$ pentru o doză completă). Cu toate acestea, în scopuri de depistare se poate utiliza o curbă de conținut scăzut mai detaliată, pentru analiza probelor cu conținut scăzut.

— Pentru rezultatele testării biologice într-un interval constant de timp, trebuie utilizată o concentrație de TCDD de referință (aproximativ de trei ori limita de cuantificare) pe un formular de control al calității. Ca alternativă, se poate utiliza drept referință reacția relativă a unei probe de referință comparată cu o curbă de etalonare TCDD, deoarece reacția celulelor poate depinde de mulți factori.

— Trebuie realizate și verificate grafice de control al calității pentru fiecare tip de material de referință, pentru a garanta că rezultatul este conform cu liniile directoare furnizate.

— În special pentru calculele cantitative, inducerea diluției utilizate pentru probă trebuie să se situeze în porțiunea liniară a curbei de reacție. Probele situate deasupra porțiunii liniare a curbei de reacție trebuie diluate și testate din nou. Prin urmare, se recomandă testarea a cel puțin trei diluții odată.

— Abaterea standard nu trebuie să depășească 15 % într-o determinare triplă pentru fiecare diluție a probei, nici 30 % pentru trei experimente independente.

— Se poate alege ca limită de detecție o valoare egală cu de trei ori abaterea standard a martorului de solvent sau a reacției de fond. O altă metodă constă în aplicarea unei reacții situate deasupra reacției de fond (factor de inducere de 5 ori mai mare decât pentru martorul de solvent), calculată pe baza curbei de etalonare a zilei. Se poate stabili pentru limita de cuantificare o valoare de cinci sau șase ori mai mare decât abaterea standard a martorului de solvent sau se poate aplica o reacție cu mult peste reacția de fond (factor de inducere de 10 ori mai mare decât martorul de solvent), calculată pe baza curbei de etalonare a zilei.

7.4. *Cerințe specifice pentru testele biologice realizate cu ajutorul truselor de testare* **([1])**

— Trebuie respectate instrucțiunile producătorului privind pregătirea probei și analizele.

— Trusele de testare nu trebuie utilizate dacă data lor de valabilitate a expirat.

([1]) Până în prezent nu s-a demonstrat, pentru nici unul dintre testele biologice realizate cu truse de testare disponibile în comerț, că ar fi suficient de sensibil și de fiabil încât să poată fi utilizat pentru a depista prezența dioxinelor la nivelurile studiate în probe de furaje și de materii prime furajere.

▼B

— Nu trebuie utilizate materiale sau componente destinate utilizării cu alte truse.

— Trusele de testare trebuie păstrate la temperaturile indicate și utilizate la temperatura de funcționare indicată.

— Limita de detecție pentru teste biologice se determină însumând media cu o valoare egală cu de trei ori abaterea standard, pentru o serie de 10 analize asupra martorului, urmând ca suma să fie împărțită la valoarea pantei din ecuația de regresie liniară.

— La testele realizate în laborator trebuie utilizate etaloane de referință, pentru a garanta că reacția la etalon se situează într-un interval acceptabil.

8. **Raportarea rezultatelor**

În măsura în care procedura de analiză utilizată permite acest lucru, rezultatele analizei trebuie să includă conținuturile de congeneri individuali ai PCDD/F și ai PCB și să indice estimarea cea mai joasă, cea mai ridicată și cea intermediară, pentru a se putea consemna o cantitate cât mai mare de informații în raportarea rezultatelor, permițând astfel interpretarea rezultatelor în conformitate cu cerințele specifice.

Raportul trebuie să includă, de asemenea, conținutul de lipide al probei, precum și metoda utilizată pentru extracția lipidelor.

Trebuie indicate ratele de recuperare a etaloanelor interne individuale, dacă recuperările se situează în afara intervalului menționat la punctul 6, dacă depășesc nivelul maxim, iar în celelalte cazuri, la cerere.