II

(Actes non législatifs)

RÈGLEMENTS

RÈGLEMENT (UE) Nº 252/2012 DE LA COMMISSION

du 21 mars 2012

portant fixation des méthodes de prélèvement et d'analyse d'échantillons à utiliser pour le contrôle officiel des teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine de certaines denrées alimentaires et abrogeant le règlement (CE) nº 1883/2006

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

LA COMMISSION EUROPÉENNE,

vu le traité sur le fonctionnement de l'Union européenne,

vu le règlement (CE) nº 882/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif aux contrôles officiels effectués pour s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux [1], et notamment son article 11, paragraphe 4,

considérant ce qui suit:

(1) Le règlement (CE) nº 1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales en certains contaminants des denrées alimentaires [2] établit des teneurs maximales applicables aux PCB autres que ceux de type dioxine, aux dioxines et furanes, ainsi qu'à la somme des dioxines, furanes et PCB de type dioxine dans certaines denrées alimentaires.

(2) La recommandation 2011/516/UE de la Commission du 23 août 2011 sur la réduction de la présence de dioxines, de furannes et de PCB dans les aliments pour animaux et les denrées alimentaires [3] énonce des seuils d'intervention en vue d'inciter à une démarche volontaire de réduction de la présence de dibenzo-para-dioxines polychlorées et dibenzofuranes polychlorés (PCDD/F) et de PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires. Ces seuils d'intervention sont un moyen pour les autorités compétentes et les exploitants de mettre en évidence les cas où il convient de déterminer une source de contamination et de prendre des mesures de réduction ou d'élimination de celle-ci.

(3) Le règlement (CE) nº 1883/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation des méthodes de prélèvement et d'analyse d'échantillons utilisées pour le contrôle officiel des teneurs en dioxines et en PCB de type dioxine de certaines denrées alimentaires [4] établit des dispositions spécifiques concernant les modes de prélèvement d'échantillons et les méthodes d'analyse à appliquer pour les contrôles officiels.

(4) D'importantes modifications doivent y être apportées du fait de l'application de nouvelles teneurs maximales pour les PCB autres que ceux de type dioxine, établies à la suite d'un avis scientifique de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) sur les PCB autres que ceux de type dioxine, de l'harmonisation souhaitée à l'échelle de l'Union et de la mise à jour des critères applicables aux méthodes de dépistage. En conséquence, il convient, pour des raisons de clarté, de remplacer le règlement (CE) nº 1883/2006 par le présent règlement.

(5) Les dispositions du présent règlement concernent uniquement le prélèvement et l'analyse d'échantillons concernant les dioxines, les PCB de type dioxine et les PCB autres que ceux de type dioxine aux fins de l'application du règlement (CE) nº 1881/2006. Elles ne modifient ni la stratégie d'échantillonnage ni les niveaux et fréquences d'échantillonnage définis aux annexes III et IV de la directive 96/23/CE du Conseil du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les directives 85/358/CEE et 86/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE [5]. Ces dispositions ne modifient pas davantage les critères de ciblage des échantillons définis dans la décision 98/179/CE de la Commission du 23 février 1998 fixant les modalités de prise d'échantillons officiels pour la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits [6].

[1] JO L 165 du 30.4.2004, p. 1.
[2] JO L 364 du 20.12.2006, p. 5.
[3] JO L 218 du 24.8.2011, p. 23.
[4] JO L 364 du 20.12.2006, p. 32.
[5] JO L 125 du 23.5.1996, p. 10.
[6] JO L 65 du 5.3.1998, p. 31.

(6) Une méthode analytique de dépistage dont la validité est largement reconnue et qui est dotée d'une grande capacité peut être utilisée pour déterminer les échantillons présentant des teneurs significatives en PCDD/F et en PCB de type dioxine (qui sélectionne de préférence les échantillons dépassant les seuils d'intervention et garantit la sélection d'échantillons dépassant les teneurs maximales). Les teneurs en PCDD/F et en PCB de type dioxine de ces échantillons doivent être déterminées au moyen d'une méthode analytique de confirmation. Il convient dès lors de prévoir des prescriptions appropriées applicables à la méthode de dépistage pour s'assurer que le taux de faux conformes par rapport aux teneurs maximales est inférieur à 5 %, ainsi que des prescriptions strictes applicables aux méthodes analytiques de confirmation. En outre, les méthodes de confirmation permettent la détermination des teneurs au niveau du bruit de fond également, ce qui est important pour le suivi de l'évolution chronologique, pour l'évaluation de l'exposition et pour la réévaluation des teneurs maximales et des seuils d'intervention.

(7) En ce qui concerne l'échantillonnage de très grands poissons, il est nécessaire de préciser le mode de prélèvement afin de garantir une démarche harmonisée dans l'ensemble de l'Union.

(8) Les teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine de poissons appartenant à la même espèce et provenant de la même région peuvent varier en fonction de la taille et/ou de l'âge des poissons. En outre, les teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine ne sont pas nécessairement homogènes dans toutes les parties des poissons. Par conséquent, il est nécessaire de préciser la méthode de prélèvement et de préparation des échantillons afin de garantir une démarche harmonisée dans l'ensemble de l'Union.

(9) Il importe que les résultats d'analyse soient consignés et interprétés de manière uniforme pour garantir une démarche harmonisée au stade des mesures exécutoires dans l'ensemble de l'Union.

(10) Les mesures prévues au présent règlement sont conformes à l'avis du comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale et n'ont soulevé l'opposition ni du Parlement européen, ni du Conseil,

A ADOPTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

Article premier

Aux fins du présent règlement, les définitions et abréviations figurant à l'annexe I s'appliquent.

Article 2

Le prélèvement d'échantillons aux fins du contrôle officiel des teneurs en dioxines, en furanes, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine des denrées alimentaires énumérées à la section 5 de l'annexe du règlement (CE) n° 1881/2006 est réalisé conformément aux méthodes décrites à l'annexe II du présent règlement.

Article 3

La préparation et l'analyse d'échantillons aux fins du contrôle officiel des teneurs en dioxines, en furanes et en PCB de type dioxine des denrées alimentaires énumérées à la section 5 de l'annexe du règlement (CE) n° 1881/2006 sont réalisées conformément aux méthodes décrites à l'annexe III du présent règlement.

Article 4

Les analyses aux fins du contrôle officiel des teneurs en PCB autres que ceux de type dioxine des denrées alimentaires énumérées à la section 5 de l'annexe du règlement (CE) n° 1881/2006 sont réalisées conformément aux prescriptions applicables aux procédés d'analyse énoncées à l'annexe IV du présent règlement.

Article 5

Le règlement (CE) n° 1883/2006 est abrogé.

Les références faites au règlement abrogé s'entendent comme faites au présent règlement.

Article 6

Le présent règlement entre en vigueur le vingtième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne*.

Il s'applique à partir de la date d'entrée en vigueur.

Le présent règlement est obligatoire dans tous ses éléments et directement applicable dans tout État membre.

Fait à Bruxelles, le 21 mars 2012.

Par la Commission
Le président
José Manuel BARROSO

ANNEXE I

Définitions et abréviations

I. DÉFINITIONS

Aux fins du présent règlement, les définitions figurant à l'annexe I de la décision 2002/657/CE de la Commission du 14 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats [1] s'appliquent.

En plus de ces définitions, les définitions ci-après s'appliquent aux fins du présent règlement.

1.1. *Seuil d'intervention:* teneur en une substance donnée, fixée à l'annexe de la recommandation 2011/516/UE, au-delà de laquelle des enquêtes sont effectuées pour déterminer la source de ladite substance du fait de teneurs élevées.

1.2. *Méthodes de bioanalyse:* méthodes fondées sur le recours aux principes biologiques tels que les bioessais cellulaires, les tests d'interaction récepteurs ou les immuno-essais. Elles ne donnent pas de résultats à l'échelle du congénère mais une simple indication [2] de la valeur TEQ, exprimée en équivalents de bioanalyse (BEQ) compte tenu du fait que les composés présents dans un extrait d'échantillon qui produit une réponse lors de l'essai peuvent ne pas tous remplir l'ensemble des conditions du principe du TEQ.

1.3. *Taux de récupération apparent du bioessai:* valeur BEQ calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la TCDD ou du PCB 126 corrigée du blanc, puis divisée par la valeur TEQ déterminée par CG/SMHR. Elle vise à corriger des facteurs tels que la perte de PCDD/PCDF et de composés de type dioxine durant les phases d'extraction et de purification, la coextraction de composés qui augmentent ou atténuent la réponse (effets agonistes et antagonistes), la qualité de l'ajustement de la courbe ou les différences entre les valeurs TEF et REP. Le taux de récupération apparent du bioessai est calculé à partir d'échantillons de référence appropriés avec des profils de congénères représentatifs proches du niveau considéré.

1.4. *Méthodes semi-quantitatives:* méthodes qui donnent une indication approximative de la concentration de l'analyte supposé lorsque les résultats numériques ne remplissent pas les prescriptions concernant les méthodes quantitatives.

1.5. *Limite de quantification spécifique acceptée d'un congénère individuel:* concentration d'un analyte dans l'extrait d'un échantillon qui produit une réponse instrumentale à deux ions suivis avec un rapport S/B (signal/bruit) de 3:1 pour le signal le moins intense et remplit les critères d'identification décrits, par exemple, dans la norme prEN 16215 (Aliments des animaux – Dosage des dioxines, des PCB de type dioxine et des PCB indicateurs par GC/HRMS) et/ou dans la méthode EPA 1613, révision B.

1.6. *Estimation supérieure:* valeur calculée sur la base d'une contribution de chaque congénère non quantifié égale à la limite de quantification.

1.7. *Estimation inférieure:* valeur calculée sur la base d'une contribution de chaque congénère non quantifié égale à zéro.

1.8. *Estimation intermédiaire:* valeur calculée sur la base d'une contribution de chaque congénère non quantifié égale à la moitié de la limite de quantification.

1.9. *Lot:* quantité identifiable d'une denrée alimentaire, livrée en une fois, pour laquelle il est établi par l'agent responsable qu'elle présente des caractéristiques communes, telles que l'origine, la variété, le type d'emballage, l'emballeur, l'expéditeur ou le marquage. Dans le cas des poissons et des produits de la pêche, la taille des poissons doit également être comparable. Si la taille ou le poids des poissons n'est pas comparable dans un lot, celui-ci peut néanmoins être considéré comme un lot, mais une procédure de prélèvement d'échantillons spécifique doit lui être appliquée.

1.10. *Sous-lot:* partie d'un grand lot à laquelle doit s'appliquer la méthode de prélèvement d'échantillons et désignée à cet effet. Chaque sous-lot doit être physiquement séparé et identifiable.

1.11. *Échantillon élémentaire:* quantité de matière prélevée en un seul point du lot ou du sous-lot.

1.12. *Échantillon global:* agrégation de tous les échantillons élémentaires prélevés sur le lot ou le sous-lot.

1.13. *Échantillon de laboratoire:* partie ou quantité représentative de l'échantillon global destinée au laboratoire.

II. ABRÉVIATIONS UTILISÉES

BEQ Équivalents de bioanalyse

CG Chromatographie en phase gazeuse

[1] JO L 221 du 17.8.2002, p. 8.

[2] Les méthodes de bioanalyse ne sont pas spécifiques aux congénères inclus dans le système des TEF. D'autres composés structurellement proches activant le récepteur aryl hydrocarbone (AhR) et susceptibles d'être présents dans l'extrait d'échantillon contribuent à la réponse générale. Aussi les résultats de bioanalyse ne sauraient-ils être une estimation et constituent plutôt une indication de la valeur TEQ dans l'échantillon.

CQ	Contrôle qualité
PCB	Polychlorobiphényles
PCDD	Dibenzo-p-dioxines polychlorées
PCDF	Dibenzofuranes polychlorés
REP	Potentiel relatif
SMBR	Spectrométrie de masse basse résolution
SMHR	Spectrométrie de masse haute résolution
TCDD	Tétrachlorodibenzodioxine
TEF	Facteur d'équivalence toxique
TEQ	Équivalents toxiques
U	Incertitude de mesure élargie

ANNEXE II

Méthodes de prélèvement d'échantillons pour le contrôle officiel des teneurs en dioxines (PCDD/PCDF), en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine de certaines denrées alimentaires

I. CHAMP D'APPLICATION

Les échantillons destinés au contrôle officiel des teneurs en dioxines (PCDD/PCDF), en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine (ci-après appelés dioxines et PCB) des denrées alimentaires sont prélevés conformément aux méthodes décrites dans la présente annexe. 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 le règlement (CE) n° 1881/2006 de la Commission portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires est établi sur la base des teneurs déterminées dans les échantillons de laboratoire.

II. DISPOSITIONS GÉNÉRALES

1. **Personnel**

Le prélèvement est effectué par une personne mandatée à cet effet, qui est désignée par l'État membre.

2. **Produit à échantillonner**

Tout lot ou sous-lot à analyser fait l'objet d'un échantillonnage séparé.

3. **Précautions à prendre**

Au cours du prélèvement et de la préparation des échantillons, des précautions sont prises afin d'éviter toute altération susceptible de modifier la teneur en dioxines et en PCB, de perturber les analyses ou de compromettre la représentativité des échantillons globaux.

4. **Échantillons élémentaires**

Dans la mesure du possible, les échantillons élémentaires sont prélevés en divers points répartis sur l'ensemble du lot ou du sous-lot. Toute dérogation à cette règle est signalée dans le procès-verbal prévu au point II.8 de la présente annexe.

5. **Préparation de l'échantillon global**

On obtient l'échantillon global en réunissant les échantillons élémentaires. L'échantillon global pèse au moins 1 kg, à moins que ce ne soit pas possible, par exemple lorsqu'un seul emballage a fait l'objet d'un prélèvement ou lorsque le produit a une valeur commerciale élevée.

6. **Échantillons identiques**

Les échantillons identiques destinés à des fins de contrôle, de recours et d'arbitrage sont prélevés sur l'échantillon global homogénéisé, sauf si cette procédure est contraire aux dispositions réglementaires des États membres relatives aux droits des exploitants du secteur alimentaire. La taille des échantillons de laboratoire destinés aux mesures de contrôle doit être suffisante pour permettre au moins une double analyse.

7. **Emballage et envoi des échantillons**

Chaque échantillon est placé dans un récipient en matériau inerte propre qui le protège convenablement contre toute contamination, toute perte d'analyte par adsorption sur la paroi interne du récipient et tout dommage pouvant résulter du transport. Toutes les précautions nécessaires sont prises pour éviter une altération de l'échantillon lors du transport ou du stockage.

8. **Fermeture et étiquetage des échantillons**

Tout échantillon prélevé en vue d'un usage officiel est scellé sur le lieu du prélèvement et identifié dans le respect des règles en vigueur dans l'État membre.

Un procès-verbal est établi pour chaque prélèvement d'échantillons; ce procès-verbal doit permettre d'identifier sans ambiguïté le lot échantillonné et mentionner la date et le lieu du prélèvement ainsi que toute information supplémentaire pouvant être utile à l'analyste.

III. PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE

La méthode de prélèvement appliquée garantit que l'échantillon global est représentatif du (sous-)lot à contrôler.

1. **Division des lots en sous-lots**

Les grands lots sont subdivisés en sous-lots, à condition que le sous-lot puisse être physiquement séparé. Le tableau 1 s'applique aux grands lots de produits commercialisés en vrac (par exemple les huiles végétales). Le tableau 2 s'applique aux autres produits. Étant donné que le poids des lots n'est pas toujours un multiple exact du poids des sous-lots, le poids des sous-lots peut dépasser le poids indiqué jusqu'à concurrence de 20 %.

Tableau 1

Subdivision en sous-lots des lots de produits commercialisés en vrac

Poids du lot (en tonnes)	Poids ou nombre des sous-lots
≥ 1 500	500 tonnes
> 300 et < 1 500	3 sous-lots
≥ 50 et ≤ 300	100 tonnes
< 50	—

Tableau 2

Subdivision en sous-lots des lots d'autres produits

Poids du lot (en tonnes)	Poids ou nombre des sous-lots
≥ 15	15-30 tonnes
< 15	—

2. **Nombre d'échantillons élémentaires**

L'échantillon global réunissant tous les échantillons élémentaires pèse au moins 1 kg (voir point II.5 de la présente annexe).

Le nombre minimal d'échantillons élémentaires à prélever sur le lot ou le sous-lot est indiqué dans les tableaux 3 et 4.

Dans le cas de produits liquides en vrac, le lot ou le sous-lot est soigneusement mélangé, dans la mesure du possible et pour autant que cela n'altère pas la qualité du produit, de manière manuelle ou mécanique immédiatement avant le prélèvement. Dans ce cas, la répartition des contaminants à l'intérieur d'un lot ou d'un sous-lot donné est censée être homogène. Le prélèvement de trois échantillons élémentaires sur le lot ou le sous-lot suffit dès lors en vue de la constitution de l'échantillon global.

Les échantillons élémentaires ont un poids semblable. Chaque échantillon élémentaire pèse au moins 100 grammes.

Toute dérogation à cette règle doit être signalée dans le procès-verbal prévu au point II.8 de la présente annexe. Conformément aux dispositions de la décision 97/747/CE de la Commission du 27 octobre 1997 fixant les niveaux et fréquences de prélèvement d'échantillons prévus par la directive 96/23/CE du Conseil en vue de la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans certains produits animaux [1], la taille de l'échantillon global, pour les œufs de poule, est au moins de douze œufs (pour des lots en vrac comme pour des lots se présentant en emballages distincts, les tableaux 3 et 4 s'appliquent).

Tableau 3

Nombre minimal d'échantillons élémentaires à prélever sur le lot ou sous-lot

Poids ou volume du lot/sous-lot (en kg ou en litre)	Nombre minimal d'échantillons élémentaires à prélever
< 50	3
De 50 à 500	5
> 500	10

Si le lot ou sous-lot se compose d'unités ou d'emballages distincts, le nombre d'unités ou d'emballages à prélever pour former l'échantillon global est indiqué dans le tableau 4.

[1] JO L 303 du 6.11.1997, p. 12.

Tableau 4

Nombre d'emballages ou d'unités (échantillons élémentaires) à prélever en vue de la constitution de l'échantillon global si le lot ou sous-lot se compose d'emballages ou d'unités distincts

Nombre d'emballages ou d'unités dans le lot/sous-lot	Nombre d'emballages ou d'unités à prélever
De 1 à 25	Au moins 1 emballage ou unité
De 26 à 100	5 % environ, au moins 2 emballages ou unités
> 100	5 % environ, 10 emballages ou unités au maximum

3. **Dispositions spécifiques pour l'échantillonnage de lots contenant des poissons entiers de taille et de poids comparables**

Les poissons sont réputés avoir une taille et un poids comparables lorsque les différences de taille et de poids ne dépassent pas environ 50 %.

Le nombre d'échantillons élémentaires à prélever sur le lot est indiqué dans le tableau 3. L'échantillon global réunissant tous les échantillons élémentaires pèse au moins 1 kg (voir point II.5).

— Si le lot à échantillonner contient des poissons de petite taille (d'un poids individuel inférieur à 1 kg environ), le poisson entier est pris comme échantillon élémentaire en vue de la constitution de l'échantillon global. Si l'échantillon global qui en résulte pèse plus de 3 kg, les échantillons élémentaires peuvent être constitués de la partie médiane, d'un poids individuel d'au moins 100 grammes, des poissons composant l'échantillon global. La partie entière à laquelle s'applique la teneur maximale est utilisée pour l'homogénéisation de l'échantillon.

La partie médiane du poisson est celle où se trouve le centre de gravité. Celui-ci se situe dans la plupart des cas au niveau de la nageoire dorsale (lorsque le poisson en a une) ou à mi-distance entre l'ouverture branchiale et l'anus.

— Si le lot à échantillonner contient des poissons plus grands (d'un poids individuel supérieur à environ 1 kg), l'échantillon élémentaire est constitué par la partie médiane du poisson. Chaque échantillon élémentaire pèse au moins 100 grammes.

Dans le cas des poissons de taille intermédiaire (environ de 1 à 6 kg), l'échantillon élémentaire consiste en une tranche de poisson prélevée entre la grande arête et le ventre, dans la partie médiane du poisson.

Dans le cas des poissons de très grande taille (par exemple > environ 6 kg), l'échantillon élémentaire est constitué de chair prélevée sur le muscle dorsolatéral droit (vue de face) dans la partie médiane du poisson. Dans le cas où le prélèvement d'un tel morceau de la partie médiane du poisson entraînerait une perte économique significative, ou bien le prélèvement de trois échantillons élémentaires d'au moins 350 grammes chacun peut être considéré comme suffisant, quelle que soit la taille du lot, ou bien deux parties égales de chair peuvent être prélevées, l'une sur le muscle à proximité de la queue et l'autre sur le muscle à proximité de la tête, pour constituer l'échantillon élémentaire représentatif de la teneur en dioxines de l'ensemble du poisson.

4. **Échantillonnage de lots de poissons contenant des poissons entiers de taille et/ou de poids différents**

— Les dispositions du point III.3 concernant la constitution de l'échantillon s'appliquent.

— Si une classe/catégorie de grandeur ou de poids est prédominante (environ 80 % du lot ou plus), l'échantillon est prélevé sur les poissons appartenant à cette classe/catégorie prédominante. Cet échantillon doit être considéré comme étant représentatif de l'ensemble du lot.

— Si aucune classe/catégorie particulière de grandeur ou de poids ne prédomine, il convient de veiller à ce que les poissons sélectionnés en vue de la constitution de l'échantillon soient représentatifs du lot. Le document intitulé «*Guidance document on sampling of whole fishes of different size and/or weight*» [2] contient des lignes directrices spécifiques relatives à ce genre de situation.

5. **Échantillonnage au stade du commerce de détail**

Le prélèvement d'échantillons de denrées alimentaires au stade du commerce de détail est, dans la mesure du possible, effectué conformément aux dispositions y afférentes contenues au point III.2 de la présente annexe.

Si ce n'est pas possible, une autre méthode de prélèvement d'échantillons peut être employée à ce stade, à condition qu'elle garantisse que ces échantillons sont suffisamment représentatifs du lot ou du sous-lot échantillonné.

[2] http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/cadmium_en.htm

IV. CONFORMITÉ DU LOT OU SOUS-LOT AVEC LES SPÉCIFICATIONS

1. **Spécifications relatives aux PCB autres que ceux de type dioxine**

Le lot est accepté si le résultat d'analyse ne dépasse pas la teneur maximale en PCB autres que ceux de type dioxine fixée dans le règlement (CE) n° 1881/2006, compte tenu de l'incertitude de mesure.

Le lot est non conforme à la teneur maximale fixée dans le règlement (CE) n° 1881/2006 si le résultat d'analyse supérieur, confirmé par une double analyse ([3]), dépasse la teneur maximale avec une quasi-certitude, compte tenu de l'incertitude de mesure.

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

— en calculant l'incertitude élargie à l'aide d'un facteur d'élargissement de 2 qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %. Un lot ou sous-lot est non conforme si la valeur mesurée moins U dépasse la limite autorisée fixée,

— en établissant la limite de décision (CCα) conformément aux dispositions de la décision 2002/657/CE (point 3.1.2.5 de l'annexe I de ladite décision – cas de substances pour lesquelles une limite autorisée est fixée). Un lot ou sous-lot est non conforme si la valeur mesurée est égale ou supérieure à la CCα.

Les règles susmentionnées s'appliquent aux résultats d'analyse des échantillons destinés au contrôle officiel. En cas d'analyse à des fins de recours ou d'arbitrage, les règles nationales s'appliquent.

2. **Spécifications relatives aux dioxines (PCDD/PCDF) et aux PCB de type dioxine**

Le lot est accepté si le résultat d'une seule analyse

— effectuée selon une méthode de dépistage avec un taux de faux conformes inférieur à 5 % indique que la teneur ne dépasse pas les limites maximales correspondantes fixées pour les PCDD/F et la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine dans le règlement (CE) n° 1881/2006,

— effectuée selon une méthode de confirmation ne dépasse pas les limites maximales correspondantes fixées pour les PCDD/F et la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine dans le règlement (CE) n° 1881/2006, compte tenu de l'incertitude de mesure.

Pour les analyses de dépistage, une valeur seuil est établie pour déterminer la conformité avec les niveaux considérés correspondants établis pour les PCDD/F ou pour la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine.

Le lot est non conforme au regard de la teneur maximale fixée dans le règlement (CE) n° 1881/2006 si le résultat d'analyse supérieur, obtenu à l'aide d'une méthode de confirmation et confirmé par une double analyse ([3]), dépasse la teneur maximale avec une quasi-certitude, compte tenu de l'incertitude de mesure.

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

— en calculant l'incertitude élargie à l'aide d'un facteur d'élargissement de 2 qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %. Un lot ou sous-lot est non conforme si la valeur mesurée moins U dépasse la limite autorisée fixée. En cas de dosage distinct des PCDD/F et des PCB de type dioxine, la somme des estimations de l'incertitude élargie des résultats d'analyse distincts concernant les PCDD/F et les PCB de type dioxine doit être utilisée pour l'estimation de l'incertitude élargie de la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine,

— en établissant la limite de décision (CCα) conformément aux dispositions de la décision 2002/657/CE (point 3.1.2.5 de l'annexe I de ladite décision – cas de substances pour lesquelles une limite autorisée est fixée). Un lot ou sous-lot est non conforme si la valeur mesurée est égale ou supérieure à la CCα.

Les règles susmentionnées s'appliquent aux résultats d'analyse des échantillons destinés au contrôle officiel. En cas d'analyse à des fins de recours ou d'arbitrage, les règles nationales s'appliquent.

([3]) La double analyse est nécessaire pour exclure la possibilité d'une contamination croisée interne ou un mélange accidentel des échantillons. La première analyse, compte tenu de l'incertitude de mesure, sert à vérifier la conformité. Si l'analyse est effectuée dans le contexte d'un cas de contamination, la confirmation par double analyse peut être omise lorsque la traçabilité permet d'établir le lien entre les échantillons prélevés en vue de l'analyse et le cas de contamination.

V. DÉPASSEMENT DES SEUILS D'INTERVENTION

Les seuils d'intervention sont utilisés aux fins de la sélection d'échantillons dans les cas où il convient de déterminer une source de contamination et de prendre des mesures de réduction ou d'élimination de celle-ci. Les méthodes de dépistage établissent des valeurs seuil appropriées aux fins de la sélection de ces échantillons. Il n'y a lieu de prendre les mesures nécessaires à la détermination d'une source et à la réduction ou à l'élimination de la contamination que si le dépassement du seuil d'intervention est confirmé par une double analyse à l'aide d'une méthode de confirmation, compte tenu de l'incertitude de mesure ([4]).

([4]) Les explications et les prescriptions concernant la double analyse applicable aux teneurs maximales figurant à la note 3 de bas de page valent également pour la mesure des seuils d'intervention.

ANNEXE III

Préparation des échantillons et prescriptions applicables aux méthodes d'analyse à utiliser pour le contrôle officiel des teneurs en dioxines (PCDD/PCDF) et en PCB de type dioxine de certaines denrées alimentaires

1. CHAMP D'APPLICATION

Les prescriptions de la présente annexe s'appliquent aux analyses de denrées alimentaires effectuées aux fins du contrôle officiel des teneurs en dibenzo-p-dioxines polychlorées et dibenzofuranes polychlorés (PCDD/F) substitués en 2,3,7,8 et en polychlorobiphényles de type dioxine (PCB de type dioxine), ainsi qu'à d'autres fins réglementaires.

Le contrôle de la présence de PCDD/F et de PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires peut avoir deux objectifs:

a) la sélection des échantillons dont les teneurs en PCDD/F et en PCB de type dioxine dépassent les teneurs maximales, ou les seuils d'intervention. Cette démarche peut reposer sur une méthode de dépistage offrant une grande capacité de traitement d'échantillons à la fois efficace et économique et augmentant les chances de découvrir de nouveaux cas d'exposition élevée des consommateurs et de risques pour leur santé. Les méthodes de dépistage peuvent comprendre des méthodes de bioanalyse et des méthodes de CG/SM. Leur application est destinée à éviter les faux conformes. La concentration en PCDD/F et la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine dans les échantillons présentant des teneurs significatives doivent être déterminées/confirmées par une méthode de confirmation;

b) la détermination des teneurs en PCDD/F et en PCB de type dioxine des échantillons de denrées alimentaires au niveau du bruit de fond. Cette démarche est importante pour suivre l'évolution chronologique, pour évaluer l'exposition de la population et pour constituer une base de données aux fins de la réévaluation éventuelle des seuils d'intervention et des teneurs maximales. Cet objectif est atteint à l'aide de méthodes de confirmation permettant l'identification et la quantification univoque des PCDD/F et des PCB de type dioxine au niveau considéré. Ces méthodes peuvent servir à la confirmation des résultats obtenus par les méthodes de dépistage et à la détermination des niveaux de bruit de fond dans le contrôle des denrées alimentaires. Elles sont aussi importantes pour établir les profils de congénères afin de déterminer la source d'une contamination éventuelle. À l'heure actuelle, ces méthodes reposent sur la chromatographie en phase gazeuse haute résolution couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (CGHR/SMHR).

2. CLASSEMENT DES MÉTHODES SELON LEUR DEGRÉ DE QUANTIFICATION [1]

Les méthodes qualitatives donnent une réponse de type présence/absence des analytes considérés, sans indication quantitative de la concentration de l'analyte supposé. Ces méthodes pourraient fournir des résultats semi-quantitatifs mais elles sont utilisées exclusivement pour donner une réponse de type présence/absence des analytes et donner une indication des niveaux supérieurs ou inférieurs à certaines plages, par exemple la limite de détection, la limite de quantification ou les valeurs seuil.

Le contrôle des teneurs maximales et des seuils d'intervention concernant les PCDD/F et les composés de type dioxine dans les denrées alimentaires peut se faire à l'aide de méthodes de dépistage, qui sont fondées sur la comparaison du résultat d'analyse à une valeur seuil et donnent une réponse de type présence/absence des analytes indiquant la possibilité d'un dépassement du niveau considéré. À cette fin, des méthodes de bioanalyse ont été introduites. En principe, des méthodes physico-chimiques pourraient être élaborées; toutefois, compte tenu du fait que les teneurs maximales et les seuils d'intervention sont exprimés en TEQ et que le dosage des congénères individuels considérés nécessite une analyse complexe, il n'existe pas d'exemples concrets.

Les méthodes semi-quantitatives donnent une indication approximative de la concentration, qui peut être utile comme information sur la plage de concentration de l'analyte et aider l'analyste à décider de la plage d'étalonnage pour l'essai de confirmation à effectuer ultérieurement et à des fins de contrôle qualité. Exemples:

— méthodes de bioanalyse qui sont capables de déceler les analytes considérés, qui reposent sur une courbe d'étalonnage, donnent une réponse de type présence/absence des analytes considérés indiquant la possibilité d'un dépassement du niveau considéré et qui permettent de consigner le résultat en équivalents de bioanalyse (BEQ), lesquels donnent une indication de la valeur TEQ dans l'échantillon,

— essai physico-chimique (CG-SM/SM ou CG/SMBR, par exemple), pour lequel les caractéristiques de la précision de la méthode établies ne remplissent pas les prescriptions applicables aux essais quantitatifs.

[1] Adapté aux PCDD/F et aux composés de type dioxine sur la base du document intitulé «*Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines*», laboratoires de référence de l'Union européenne pour les résidus de médicaments vétérinaires et de contaminants dans les denrées alimentaires d'origine animale de Fougères, de Berlin et de Bilthoven, 20 janvier 2010, http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm

Les méthodes quantitatives remplissent les mêmes conditions en matière d'exactitude, de gamme dynamique et de précision que les essais de confirmation. Lorsque la quantification est nécessaire, ces méthodes sont validées en tant que méthodes de confirmation, telles qu'elles sont détaillées dans le présent document pour les PCDD/F et les PCB de type dioxine.

3. CONTEXTE

Pour le calcul des concentrations en équivalents toxiques (TEQ), les concentrations de chaque substance dans un échantillon donné sont multipliées par leurs facteurs d'équivalence toxique (TEF) respectifs, tels qu'ils sont fixés par l'Organisation mondiale de la santé et mentionnés à l'appendice de la présente annexe, puis elles sont additionnées de façon à donner la concentration totale en composés de type dioxine, exprimée en TEQ.

Les méthodes de dépistage et de confirmation ne peuvent être appliquées aux fins du contrôle d'une matrice donnée que si les méthodes sont suffisamment sensibles pour déceler les teneurs de manière fiable au niveau considéré (seuil d'intervention ou teneur maximale).

4. PRESCRIPTIONS D'ASSURANCE QUALITÉ

— Des mesures doivent être prises en vue d'éviter toute contamination croisée à chaque étape de la procédure d'échantillonnage et d'analyse.

— Les échantillons doivent être conservés et transportés dans des récipients en verre, en aluminium, en polypropylène ou en polyéthylène adaptés à la conservation, préservant les teneurs en PCDD/F et en PCB de type dioxine dans les échantillons de la moindre influence. Toute trace de poussière de papier doit être enlevée du contenant de l'échantillon.

— La conservation et le transport de l'échantillon doivent être effectués d'une façon telle que l'intégrité de l'échantillon de denrée alimentaire est préservée.

— Si nécessaire, chaque échantillon de laboratoire doit être broyé finement et soigneusement mélangé, selon une méthode garantissant une homogénéisation complète (par exemple de façon à pouvoir passer au travers d'un tamis à mailles de 1 mm); les échantillons doivent être séchés avant le broyage si leur teneur en humidité est trop élevée.

— Il importe d'une manière générale de contrôler les réactifs, la verrerie et l'équipement en vue de déceler toute influence des résultats exprimés en TEQ ou en BEQ.

— Un essai à blanc est réalisé, en suivant tout le procédé d'analyse, mais sans l'échantillon.

— Pour les méthodes de bioanalyse, il est très important que l'ensemble de la verrerie et des solvants utilisés dans l'analyse fassent l'objet d'un dépistage de composés interférant avec la détection des composés cibles dans la plage de travail. La verrerie est rincée à l'aide de solvants ou/et chauffée à des températures permettant d'éliminer de sa surface les traces de PCDD/F, de composés de type dioxine et de composés interférents.

— La quantité de l'extrait doit être suffisamment élevée, de façon à répondre aux prescriptions en ce qui concerne une plage de travail suffisamment basse comprenant les concentrations considérées.

— Les procédures spécifiques de préparation des échantillons utilisées pour les produits considérés doivent respecter des directives reconnues sur le plan international.

— Dans le cas des poissons, la peau doit être enlevée, car la teneur maximale s'applique à la chair musculaire dépouillée. Toutefois, il est nécessaire que tous les restes de chair musculaire et de tissu adipeux se trouvant sur la face interne de la peau soient soigneusement et entièrement retirés de celle-ci et soient ajoutés à l'échantillon à analyser.

5. PRESCRIPTIONS APPLICABLES AUX LABORATOIRES

— Conformément aux dispositions du règlement (CE) n° 882/2004, les laboratoires sont agréés par un organisme habilité qui se conforme au guide ISO 58, de manière à garantir qu'ils appliquent les procédures d'assurance qualité à leurs analyses. Les laboratoires sont agréés selon la norme EN ISO/CEI 17025.

— La compétence des laboratoires est prouvée par la participation continue et réussie à des études interlaboratoire sur le dosage des PCDD/F et des PCB de type dioxine dans les matrices de denrées alimentaires et les plages de concentration correspondantes.

— Les laboratoires appliquant les méthodes de dépistage pour les contrôles de routine des échantillons coopèrent étroitement avec les laboratoires appliquant la méthode de confirmation, tant pour le contrôle qualité que pour la confirmation du résultat de l'analyse des échantillons suspects.

6. PRESCRIPTIONS FONDAMENTALES APPLICABLES AUX PROCÉDÉS D'ANALYSE RELATIFS AUX DIOXINES (PCDD/F) ET AUX PCB DE TYPE DIOXINE

6.1. **Sensibilité élevée et limite de quantification basse**

— En ce qui concerne les PCDD/F, étant donné la toxicité extrêmement élevée de certains de ces composés, les seuils de détection doivent être de l'ordre de quelques femtogrammes (10^{-15} g). Pour la plupart des congénères PCB, une limite de quantification de l'ordre du nanogramme (10^{-9} g) est déjà suffisante. Cependant, pour la mesure des congénères PCB de type dioxine plus toxiques (en particulier les congénères non ortho substitués), la limite inférieure de la plage de travail doit être sous le picogramme (10^{-12} g).

6.2. **Grande sélectivité (spécificité)**

— Il est nécessaire de distinguer les PCDD/F et les PCB de type dioxine d'une multitude d'autres composés extraits simultanément de l'échantillon qui sont susceptibles d'interférer et peuvent être présents à des concentrations supérieures, jusqu'à plusieurs ordres de grandeur, à celles des analytes à doser. Pour les méthodes de chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM), il est nécessaire d'établir une distinction entre les congénères, notamment entre les congénères toxiques (par exemple, les dix-sept PCDD/F substitués en 2,3,7,8 et les douze PCB de type dioxine) et les autres congénères.

— Les méthodes de bioanalyse doivent permettre la détection des composés cibles en tant que somme des PCDD/F et/ou des PCB de type dioxine. La purification des échantillons est destinée à éliminer les composés à l'origine de faux non conformes ou les composés susceptibles d'atténuer la réponse et de donner des faux conformes.

6.3. **Grande exactitude (justesse et précision, taux de récupération apparent du bioessai)**

— Pour les méthodes de CG/SM, le dosage fournit une estimation juste de la concentration réelle dans 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 que le résultat d'une analyse d'échantillon ne soit écarté en raison du manque de fiabilité de la valeur TEQ déterminée. 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 *précision* (RSD_R est l'écart type relatif calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de reproductibilité).

— Pour les méthodes de bioanalyse, le taux de récupération apparent du bioessai doit être déterminé.

6.4. **Validation dans la plage du niveau considéré et mesures générales de contrôle qualité**

— Les laboratoires démontrent la validité de la méthode dans une certaine plage proche du niveau considéré, 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, durant la procédure de validation et/ou l'analyse de routine.

— Des essais à blanc et des expériences avec enrichissement ou des analyses sur des échantillons de contrôle (si possible, des matériaux de référence certifiés) sont effectués régulièrement dans le cadre des mesures internes de contrôle qualité. Il convient de réaliser et de vérifier des cartes de contrôle qualité (CQ) pour les essais à blanc, les expériences avec enrichissement ou l'analyse des échantillons de contrôle afin de garantir que les performances analytiques sont conformes aux prescriptions.

6.5. **Limite de quantification**

— Pour une méthode bioanalytique de dépistage, l'établissement de la limite de quantification n'est pas indispensable, mais la méthode doit démontrer qu'elle permet de distinguer la valeur de blanc de la valeur seuil. La transmission d'une valeur BEQ nécessite l'établissement d'un seuil d'inscription pour décider du sort des échantillons produisant une réponse au-dessous de ce seuil. Le seuil d'inscription présente une différence avérée d'un facteur de trois au moins par rapport aux échantillons du blanc de procédure produisant une réponse au-dessous de la plage de travail. Il est donc calculé à partir d'échantillons contenant les composés cibles proches de la teneur minimale requise et non à partir d'un rapport S/B ou d'un blanc d'essai.

— La limite de quantification pour une méthode de confirmation est de l'ordre d'un cinquième du niveau considéré.

6.6. **Critères d'analyse**

— La fiabilité des résultats des méthodes de confirmation ou de dépistage impose le respect des critères ci-après pour la valeur TEQ ou la valeur BEQ, qu'elle soit exprimée en TEQ totaux (somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine) ou séparément pour les PCDD/F et les PCB de type dioxine.

	Dépistage à l'aide de méthodes de bioanalyse ou physico-chimiques	Méthodes de confirmation
Taux de faux conformes (*)	< 5 %	
Justesse		De – 20 % à + 20 %
Répétabilité (RSD_r)	< 20 %	
Reproductibilité intralaboratoire (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) Au regard des teneurs maximales.

6.7. **Prescriptions spécifiques applicables aux méthodes de dépistage**

— Le dépistage peut être effectué à l'aide de méthodes de CG/SM ou de méthodes de bioanalyse. Pour les méthodes de CG/SM, les prescriptions établies au point 7 de la présente annexe doivent être appliquées. Pour les méthodes de bioanalyse cellulaire, des prescriptions spécifiques sont établies au point 8 de la présente annexe.

— Les laboratoires appliquant les méthodes de dépistage pour les contrôles de routine d'échantillons coopèrent étroitement avec les laboratoires appliquant la méthode de confirmation.

— Les performances de la méthode de dépistage doivent être vérifiées durant l'analyse de routine par un contrôle qualité des analyses et par la validation continue de la méthode. Il doit exister un programme continu de contrôle des résultats conformes.

— *Contrôle de l'atténuation éventuelle de la réponse cellulaire et cytotoxicité*

Vingt pour cent des extraits d'échantillons sont mesurés par dépistage de routine sans et avec ajout de la 2,3,7,8-TCDD en fonction du niveau considéré, pour vérifier si la réponse est éventuellement atténuée par des substances interférentes présentes dans l'extrait d'échantillon. La concentration mesurée dans l'échantillon enrichi est comparée à la somme de la concentration de l'extrait non enrichi et de la concentration de l'enrichissement. Si cette concentration mesurée est inférieure de plus de 25 % à la concentration (somme) calculée, cela indique la possibilité d'atténuation du signal et l'échantillon en question doit faire l'objet d'une analyse de confirmation par CG/SMHR. Les résultats sont contrôlés à l'aide de cartes de contrôle qualité.

— *Contrôle qualité sur des échantillons conformes*

Environ 2 à 10 % des échantillons conformes, en fonction de la matrice et de l'expérience du laboratoire, sont confirmés par CG/SMHR.

— *Détermination des taux de faux conformes à partir des données du CQ*

Le taux de faux conformes résultant du dépistage des échantillons au-dessous et au-dessus de la teneur maximale ou du seuil d'intervention est déterminé. Les taux réels de faux conformes doivent être inférieurs à 5 %.

Dès lors que le contrôle qualité des échantillons conformes fait apparaître au moins vingt résultats confirmés par matrice/groupe de matrices, des conclusions sur le taux de faux conformes doivent être tirées à partir de cette base de données. Les résultats des échantillons analysés au moyen d'essais circulaires ou durant des cas de contamination, jusqu'à concurrence d'une concentration de 2 fois la teneur maximale, par exemple, peuvent figurer parmi les vingt résultats à atteindre pour déterminer le taux de faux conformes. Les échantillons couvrent les profils de congénères les plus fréquents, représentant différences sources.

Bien que les bioanalyses de dépistage servent avant tout à révéler les échantillons dépassant le seuil d'intervention, le critère appliqué pour la détermination des taux de faux conformes est la teneur maximale, compte tenu de l'incertitude de mesure de la méthode de confirmation.

— Les résultats du dépistage potentiellement non conformes sont toujours vérifiés au moyen d'une méthode analytique de confirmation (CG/SMHR). Ces échantillons peuvent également servir à l'évaluation du taux de faux non conformes. Pour les méthodes de dépistage, le taux de «faux non conformes» est la fraction des résultats dont la conformité est confirmée par une analyse de confirmation par CG/SMHR, alors que lors du dépistage précédent, l'échantillon avait été déclaré suspecté d'être non conforme. Toutefois, l'évaluation du caractère avantageux de la méthode de dépistage se fonde sur la comparaison du nombre d'échantillons faussement non conformes et du nombre total d'échantillons contrôlés. Ce taux doit être suffisamment faible pour rendre l'utilisation de la méthode de dépistage avantageuse.

— Les méthodes de bioanalyse doivent fournir une indication juste de la valeur TEQ, calculée et exprimée en BEQ, au moins dans des conditions de validation.

— De plus, pour les méthodes de bioanalyse suivies dans des conditions de répétabilité, le RSD_r intralaboratoire sera généralement inférieur au RSD_R (reproductibilité).

7. PRESCRIPTIONS SPÉCIFIQUES APPLICABLES AUX MÉTHODES DE CG/SMHR À RESPECTER À DES FINS DE DÉPISTAGE OU DE CONFIRMATION

7.1. **Prescriptions générales**

— L'écart entre l'estimation supérieure et l'estimation inférieure ne peut dépasser 20 % pour les denrées alimentaires dont la contamination est d'environ 1 pg OMS-TEQ/g de graisse (sur la base de la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine). Les mêmes prescriptions s'appliquent aux denrées alimentaires à faible teneur en graisse dont la contamination est de l'ordre de 1 pg OMS-TEQ/g de produit. Pour des niveaux de contamination inférieurs, par exemple 0,5 pg OMS-TEQ/g de produit, la différence entre l'estimation supérieure et l'estimation inférieure peut se situer dans une plage comprise entre 25 et 40 %.

7.2. **Mesure des taux de récupération**

— 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 doivent être ajoutés au tout début de la méthode d'analyse, par exemple avant la phase d'extraction, afin de valider le procédé d'analyse. Il est nécessaire d'ajouter au moins un congénère pour chacun des groupes d'isomères tétra à octachlorés des PCDD/F et au moins un congénère pour chaque groupe d'isomères des PCB de type dioxine (une autre méthode consiste à ajouter au moins un congénère pour chaque fenêtre d'acquisition spectrométrique utilisée pour le contrôle des PCDD/F et des PCB de type dioxine). Pour les méthodes de confirmation, il y a lieu 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.

— 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 denrées alimentaires d'origine végétale et les denrées alimentaires d'origine animale contenant moins de 10 % de graisses, il est obligatoire d'ajouter les étalons internes avant la phase d'extraction. Pour les denrées alimentaires d'origine animale contenant plus de 10 % de graisses, les étalons internes peuvent être ajoutés soit avant soit après l'extraction des graisses. Une validation adéquate de l'efficacité de l'extraction est conduite, en fonction de la phase au cours de laquelle les étalons internes sont introduits et de la façon dont les résultats sont consignés (sur la base du produit ou des graisses).

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

— Le taux de récupération doit être mesuré. Dans le cas des méthodes de confirmation, les taux de récupération des étalons internes se situent dans une plage comprise entre 60 et 120 %. Pour des congénères individuels, en particulier pour certains dibenzo-p-dioxines et dibenzofuranes heptachlorés 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 TEQ totale (sur la base de la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine). Dans le cas des méthodes de dépistage par CG/SM, les taux de récupération se situent dans une plage comprise entre 30 et 140 %.

7.3. **Élimination des substances interférentes**

— Les PCDD/F sont séparés des composés chlorés interférents, tels que les PCB autres que ceux de type dioxine et les diphényléthers chlorés, au moyen de 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 est suffisante (< 25 % de pic à pic entre 1,2,3,4,7,8-HxCDF et 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

7.4. **Étalonnage avec courbe étalon**

— La plage de la courbe d'étalonnage couvre la plage correspondante des niveaux considérés.

8. PRESCRIPTIONS SPÉCIFIQUES APPLICABLES AUX MÉTHODES DE BIOANALYSE

Les méthodes de bioanalyse sont des méthodes fondées sur le recours aux principes biologiques tels que les bioessais cellulaires, les tests d'interaction récepteurs ou les immuno-essais. Le présent point 8 énonce les prescriptions applicables aux méthodes de bioanalyse en général.

Dans une méthode de dépistage, l'échantillon est en principe déclaré conforme ou est déclaré suspecté d'être non conforme. À cette fin, la valeur BEQ calculée est comparée à la valeur seuil (voir point 8.3). Les échantillons au-dessous de la valeur seuil sont déclarés conformes, et ceux à la valeur seuil ou au-dessus de celle-ci sont déclarés suspectés d'être non conformes et nécessitent une analyse au moyen d'une méthode de confirmation. Dans la pratique, une valeur BEQ équivalant aux deux tiers de la teneur maximale est la valeur seuil la plus indiquée garantissant un taux de faux conformes inférieur à 5 % et un taux acceptable de faux non conformes. Avec des teneurs maximales distinctes pour les PCDD/F et pour la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine, le contrôle de la conformité des échantillons sans fractionnement requiert des valeurs seuil de bioessai appropriées pour les PCDD/F. Pour la vérification des échantillons dépassant les seuils d'intervention, la valeur seuil pourrait être un pourcentage approprié du niveau considéré.

Par ailleurs, dans le cas de certaines méthodes de bioanalyse, une valeur indicative exprimée en BEQ peut être donnée pour les échantillons dans la plage de travail et dépassant le seuil d'inscription (voir points 8.1.1 et 8.1.6).

8.1. **Évaluation de la réponse à l'essai**

8.1.1. *Prescriptions générales*

— Le calcul des concentrations à partir d'une courbe d'étalonnage de la TCDD fera apparaître une variation importante (coefficient de variation élevé – CV) des valeurs aux extrémités inférieure et supérieure de la courbe. La plage de travail est la zone où ce CV est inférieur à 15 %. L'extrémité inférieure de la plage de travail (seuil d'inscription) doit par ailleurs être établie à un niveau significativement supérieur (d'un facteur de trois au moins) aux blancs de procédure. L'extrémité supérieure de la plage de travail est habituellement représentée par la valeur EC_{70} (70 % de la concentration effective maximale), mais elle se situe à un niveau inférieur si le CV est supérieur à 15 % dans cette plage. La plage de travail est établie durant la validation. Les valeurs seuil (point 8.3) doivent se situer dans la plage de travail.

— Les solutions étalon et les extraits d'échantillon sont analysés au moins en double. En cas d'utilisation de doubles, une solution étalon ou un extrait témoin analysé dans quatre à six puits répartis sur la plaque produisent une réponse ou une concentration (possible uniquement dans la plage de travail) sur la base d'un CV inférieur à 15 %.

8.1.2. *Étalonnage*

8.1.2.1. Étalonnage avec courbe étalon

— Les teneurs dans les échantillons peuvent être estimées par comparaison de la réponse à l'essai avec une courbe d'étalonnage de la TCDD (ou du PCB 126 ou d'un mélange type de PCDD/F/PCB de type dioxine) pour calculer la valeur BEQ dans l'extrait et, par la suite, dans l'échantillon.

— Les courbes d'étalonnage contiennent huit à douze concentrations (au moins en double), la concentration dans la partie inférieure de la courbe (plage de travail) devant être suffisante. Une attention particulière est accordée à la qualité de l'ajustement de la courbe dans la plage de travail. La valeur R^2 a peu ou n'a pas de valeur en tant que telle pour l'appréciation de la justesse de l'ajustement en régression non linéaire. La réduction de l'écart entre les valeurs calculées et les valeurs observées dans la plage de travail de la courbe améliorera l'ajustement (la réduction de la somme des résidus au carré, par exemple).

— Le niveau estimatif dans l'extrait d'échantillon est ensuite corrigé de la valeur BEQ calculée pour un échantillon blanc de matrice/de solvant (pour tenir compte des impuretés provenant des solvants et substances chimiques utilisés) et du taux de récupération apparent (calculé à partir de la valeur BEQ d'échantillons de référence adéquats avec des profils de congénères représentatifs proches du niveau considéré). Pour la correction par le taux de récupération, le taux de récupération apparent doit toujours se situer dans les limites de la plage requise (voir point 8.1.4). Les échantillons de référence utilisés pour corriger du taux de récupération doivent respecter les prescriptions énoncées au point 8.2.

8.1.2.2. Étalonnage avec des échantillons de référence

Une autre solution consiste à utiliser une courbe d'étalonnage élaborée à partir d'au moins quatre échantillons de référence (voir point 8.2: une matrice blanche et trois échantillons de référence à 0,5 fois, 1,0 fois et 2,0 fois le niveau considéré) proches du niveau considéré, ce qui permet de se passer de la correction par le blanc et le taux de récupération. Dans ce cas, la réponse à l'essai correspondant aux deux tiers de la teneur maximale (voir point 8.3) peut être calculée directement à partir de ces échantillons et servir de valeur seuil. Pour la vérification des échantillons dépassant les seuils d'intervention, la valeur seuil pourrait être un pourcentage approprié de ces seuils d'intervention.

8.1.3. *Dosage distinct des PCDD/F et des PCB de type dioxine*

Les extraits peuvent être séparés en fractions contenant des PCDD/F et des PCB de type dioxine, permettant une indication distincte des teneurs en PCDD/F et en PCB de type dioxine (en BEQ). Il convient d'utiliser de préférence une courbe d'étalonnage du PCB 126 pour évaluer les résultats de la fraction contenant les PCB de type dioxine.

8.1.4. *Taux de récupérations apparents du bioessai*

Le «taux de récupération apparent du bioessai» est calculé à partir d'échantillons de référence appropriés avec des profils de congénères représentatifs qui sont proches du niveau considéré et est exprimé en pourcentage de la valeur BEQ par rapport à la valeur TEQ. En fonction du type de bioessai et des TEF [1] utilisés, les écarts entre les facteurs TEF et REP pour les PCB de type dioxine peuvent entraîner des taux de récupération apparents faibles pour les PCB de type dioxine par rapport aux PCDD/F. Par conséquent, en cas de dosage distinct des PCDD/F et des PCB de type dioxine, les taux de récupération apparents du bioessai doivent être de 25 à 60 % pour les PCB de type dioxine et de 50 à 130 % pour les PCDD/F (les plages s'appliquent pour la courbe d'étalonnage de la TCDD). Comme la contribution des PCB de type dioxine à la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine peut varier en fonction des matrices et des échantillons, les taux de récupération apparents du bioessai pour le paramètre de la somme reflètent ces plages et doivent se situer entre 30 et 130 %.

8.1.5. *Contrôle des taux de récupération de la purification*

— La perte de composés durant la purification est vérifiée durant la validation. Un échantillon blanc enrichi d'un mélange des différents congénères fait l'objet d'une purification (n = 3 au moins) et la récupération et la variabilité doivent être vérifiées à l'aide d'une analyse par CG/SMHR. Le taux de récupération doit se situer entre 60 et 120 %, notamment pour les congénères contribuant à hauteur de plus de 10 % à la valeur TEQ dans différents mélanges.

8.1.6. *Seuil d'inscription*

— S'agissant de l'inscription des valeurs BEQ dans un rapport, un seuil d'inscription est déterminé à partir des échantillons de matrice considérés associant des profils de congénères types, mais pas à partir de la courbe d'étalonnage des étalons, la précision de la plage inférieure de la courbe n'étant pas suffisante. Les effets de l'extraction et de la purification doivent être pris en compte. Le seuil d'inscription doit être établi à un niveau significativement supérieur aux blancs de procédure (d'un facteur de trois au moins).

8.2. **Utilisation d'échantillons de référence**

— Les échantillons de référence représentent la matrice de prélèvement, les profils de congénères et les plages de concentration des PCDD/F et des PCB de type dioxine proches du niveau considéré (teneurs maximales ou seuils d'intervention).

— Chaque série d'essais doit comporter un blanc de procédure, ou de préférence une matrice blanche, et un échantillon de référence au niveau considéré. Ces échantillons doivent être extraits et analysés au même moment et dans les mêmes conditions. La réponse de l'échantillon de référence doit être nettement plus élevée que celle de l'échantillon blanc, garantissant ainsi la validité de l'essai. Ces échantillons peuvent être utilisés pour corriger du blanc et du taux de récupération.

— Les échantillons de référence choisis pour corriger du taux de récupération sont représentatifs des échantillons de l'essai, ce qui signifie que les profils de congénères ne peuvent pas conduire à une surestimation des teneurs.

— Des échantillons de référence supplémentaires, d'une concentration égale à 0,5 fois et 2 fois le niveau considéré, par exemple, peuvent être inclus pour démontrer l'efficacité de l'essai dans la plage pertinente pour le contrôle du niveau considéré. Agrégés, ces échantillons peuvent servir au calcul des valeurs BEQ dans les échantillons d'essai (point 8.1.2.2).

8.3. **Détermination de valeurs seuil**

Le lien entre les résultats de bioanalyse en BEQ et les résultats de la CG/SMHR en TEQ doit être établi [par exemple par des expériences d'étalonnage avec adaptation matricielle, à l'aide d'échantillons de référence enrichis pour atteindre 0, 0,5 fois, 1 fois et 2 fois la teneur maximale, avec six répétitions sur chaque teneur (n = 24)]. Les facteurs de correction (blanc et taux de récupération) peuvent être estimés à partir de ce lien mais doivent être contrôlés dans chaque série d'essais par l'inclusion de blancs de procédure/matrices blanches et d'échantillons de récupération (point 8.2).

Des valeurs seuil sont établies pour déterminer la conformité de l'échantillon avec les teneurs maximales ou pour vérifier que les seuils d'intervention, s'ils sont considérés, sont conformes aux niveaux considérés respectifs établis pour les PCDD/F ou pour les PCB de type dioxine pris isolément, ou pour la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine. Elles sont représentées par l'extrémité *inférieure* de la répartition des résultats de bioanalyse (corrigés du blanc et du taux de récupération) correspondant à la limite de décision de la CG/SMHR fondée sur un niveau de confiance de 95 %, soit un taux de faux conformes inférieur à 5 %, et sur un RSD_R inférieur à 25 %. La limite de décision de la CG/SMHR est la teneur maximale, compte tenu de l'incertitude de mesure.

Dans la pratique, la valeur seuil (en BEQ) peut être calculée à l'aide des formules ci-après (voir graphique 1).

[1] Les prescriptions actuelles sont fondées sur les TEF publiés dans *Toxicol. Sci.* 93(2), M. Van den Berg et al, p. 223 à 241 (2006).

8.3.1. Utilisation de la plage *inférieure* de l'intervalle de prédiction de 95 % à la limite de décision de la CG/SMHR

$$\text{Valeur seuil} = BEQ_{DL} - s_{y,x} * t_{\alpha,f=m-2}\sqrt{1/n + 1/m + (x_i - \bar{x})^2/Q_{xx}}$$

BEQ_{DL} BEQ correspondant à la limite de décision de la CG/SMHR, soit la TM compte tenu de l'incertitude de mesure

$s_{y,x}$ Écart type résiduel

$t_{\alpha,f=m-2}$ Facteur de Student (α = 5 %, f = degrés de liberté, unilatéral)

m Nombre total de points d'étalonnage (indice j)

n Nombre de répétitions à chaque niveau

x_i Concentration dans l'échantillon de la CG/SMHR (en TEQ) du point d'étalonnage i

$\bar{x}$ Concentration moyenne (en TEQ) de tous les échantillons d'étalonnage

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^{m}(x_i - \bar{x})^2$ Paramètre de la somme des carrés, i = indice pour le point d'étalonnage i

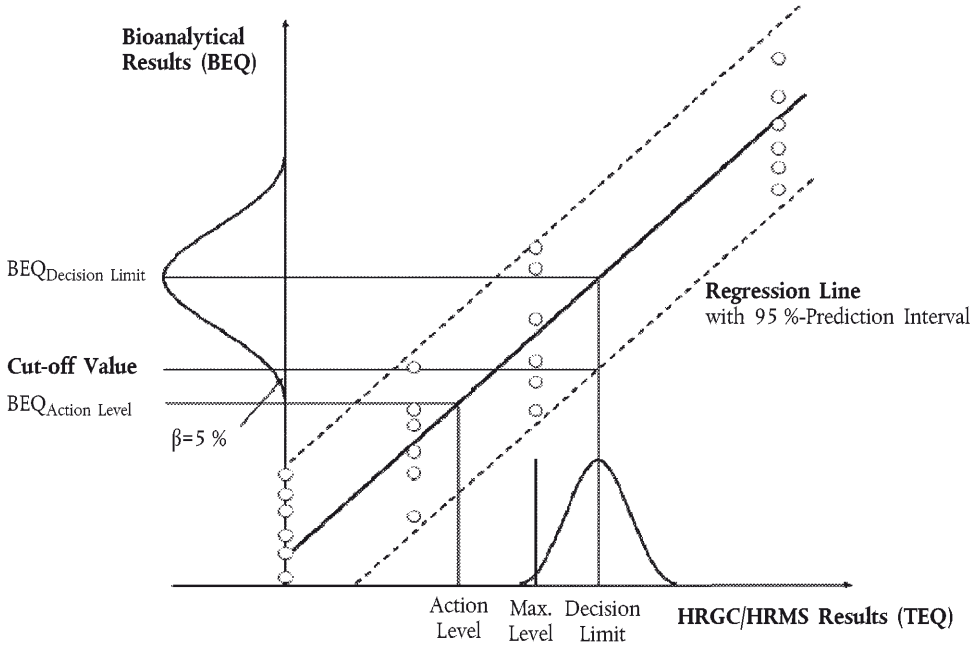
8.3.2. Calcul à partir des résultats de bioanalyse (corrigés du blanc et du taux de récupération) de multiples analyses d'échantillons (n ≥ 6) contaminés à hauteur de la limite de décision de la CG/SMHR, en tant qu'extrémité *inférieure* de la répartition des données à la valeur BEQ moyenne correspondante:

$$\text{Valeur seuil} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R$$

SD_R Écart type des résultats de bioanalyse à la BEQ_{DL}, mesuré dans des conditions de reproductibilité intralaboratoire

8.3.3. Mesure en tant que valeur moyenne des résultats de bioanalyse (en BEQ, corrigée du blanc et du taux de récupération) à partir de l'analyse multiple d'échantillons (n ≥ 6) contaminés aux deux tiers du niveau considéré, sachant que ce niveau sera proche de la valeur seuil déterminée conformément au point 8.3.1 ou 8.3.2.

Graphique 1



Calcul des valeurs seuil sur la base d'un niveau de confiance de 95 %, soit un taux de faux conformes inférieur à 5 %, et d'un RSD_R inférieur à 25 %: 1) à partir de la plage *inférieure* de l'intervalle de prédiction de 95 % à la limite de décision de la CGHR/SMHR, 2) à partir de l'analyse multiple d'échantillons ($n \geq 6$) contaminés à hauteur de la limite de décision de la CGHR/SMHR en tant qu'extrémité *inférieure* de la répartition des données (représentée dans le graphique par une courbe en cloche) à la valeur BEQ moyenne correspondante.

8.3.4. *Restriction aux valeurs seuil*

Les valeurs seuil fondées sur la valeur BEQ calculées à partir du RSD_R atteint durant la validation à l'aide d'un nombre limité d'échantillons de matrices/profils de congénères différents peuvent être supérieures aux niveaux considérés fondés sur la valeur TEQ en raison d'une plus grande précision que celle qu'il est possible d'atteindre dans les analyses de routine lorsqu'un spectre inconnu de profils de congénères possibles doit être contrôlé. Dans de tels cas, les valeurs seuil sont calculées à partir d'un RSD_R égal à 25 %, ou, de préférence, aux deux tiers du niveau considéré.

8.4. **Caractéristiques de performances**

— Étant donné qu'aucun étalon interne ne peut être utilisé dans les méthodes de bioanalyse, des tests de répétabilité sont effectués pour obtenir des données sur l'écart type au sein des séries d'essais et entre elles. La répétabilité doit être inférieure à 20 % et la reproductibilité intralaboratoire inférieure à 25 %. Ce calcul doit être fondé sur les valeurs calculées en BEQ après correction par le blanc et le taux de récupération.

— Dans le cadre de la procédure de validation, l'essai doit permettre de distinguer un échantillon blanc d'une teneur à la valeur seuil, permettant ainsi l'identification des échantillons au-dessus de la valeur seuil correspondante (voir point 8.1.2).

— Les composés cibles, les interférences potentielles et les valeurs maximales tolérées pour le blanc sont définis.

— L'écart type relatif de la concentration calculée à partir des réponses (possible uniquement dans la plage de travail) d'un triple dosage d'un extrait d'échantillon ne peut être supérieur à 15 %.

— Les résultats non corrigés de l'échantillon ou des échantillons de référence exprimés en BEQ (blanc et niveau considéré) sont utilisés pour évaluer les performances de la méthode de bioanalyse dans un intervalle de temps constant.

— Il convient de réaliser et de vérifier des cartes de contrôle qualité (CQ) pour les blancs de procédure et chaque type d'échantillon de référence afin de s'assurer que la performance analytique est conforme aux prescriptions, notamment pour les blancs de procédure en ce qui concerne la différence minimale requise par rapport à l'extrémité inférieure de la plage de travail et pour les échantillons de référence en ce qui concerne la reproductibilité intralaboratoire. Les blancs de procédure doivent être bien contrôlés en vue d'éviter les faux conformes lorsqu'ils sont retranchés.

— Les résultats des analyses par CG/SMHR d'échantillons suspects et de 2 à 10 % des échantillons conformes (minimum de vingt échantillons par matrice) sont collectés et utilisés pour l'évaluation des performances de la méthode de dépistage et du lien entre les valeurs BEQ et TEQ. Cette base de données peut être utilisée aux fins de la réévaluation des valeurs seuil applicables aux échantillons de routine pour les matrices validées.

— Les bonnes performances des méthodes peuvent également être démontrées à l'aide d'essais interlaboratoire. Les résultats des échantillons analysés dans des essais interlaboratoire, couvrant une concentration jusqu'à 2 fois la teneur maximale, par exemple, peuvent également faire partie de l'évaluation du taux de faux conformes, si un laboratoire est en mesure de démontrer ses bonnes performances. Les échantillons couvrent les profils de congénères les plus fréquents, représentant différences sources.

— Durant les cas de crise, les valeurs seuil peuvent être réévaluées, reflétant mieux la matrice et les profils de congénères particuliers de ce cas précis.

9. INSCRIPTION DES RÉSULTATS DANS UN RAPPORT

Méthodes de confirmation

— Dans la mesure où le procédé d'analyse utilisé le permet, les résultats d'analyse comprennent les teneurs en congénères individuels des PCDD/F et des PCB de type dioxine et sont indiqués en estimation inférieure, estimation supérieure et estimation intermédiaire, afin que soit consigné un maximum de données, ce qui permet une interprétation des résultats en fonction de prescriptions spécifiques.

— Le rapport mentionne également la méthode utilisée pour extraire les PCDD/F, les PCB de type dioxine et les graisses. La teneur en graisses de l'échantillon est déterminée et est indiquée dans le rapport pour les échantillons de denrées alimentaires présentant des teneurs maximales ou des seuils d'intervention exprimés par rapport à la matière grasse et pour ceux ayant une concentration de graisses attendue de l'ordre de 0 à 2 % (en accord avec la législation en vigueur); la détermination de la teneur en graisses est facultative pour les autres échantillons.

— Les taux de récupération des étalons internes individuels doivent être fournis s'ils se situent en dehors de la plage mentionnée au point 7.2 ou si la teneur maximale est dépassée. Dans tous les autres cas, ils doivent être fournis sur demande.

— L'incertitude de mesure doit également être mentionnée, car ce paramètre est pris en compte lorsqu'il s'agit de déterminer la conformité d'un échantillon. Par conséquent, les résultats de l'analyse sont consignés sous la forme x +/- U, où x est le résultat de l'analyse et U l'incertitude de mesure élargie calculée au moyen d'un facteur d'élargissement de 2 qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %. En cas de dosage distinct des PCDD/F et des PCB de type dioxine, la somme des estimations de l'incertitude élargie des résultats d'analyse distincts concernant les PCDD/F et les PCB de type dioxine doit être utilisée pour la somme des PCDD/F et des PCB de type dioxine.

— Si l'incertitude de mesure est prise en considération au moyen de la CCα (conformément à l'annexe II, point IV.2), ce paramètre est inscrit dans le rapport.

— Les résultats sont exprimés dans les mêmes unités et par (au moins) le même nombre de chiffres significatifs que les teneurs maximales établies dans le règlement (CE) n° 1881/2006.

Méthodes bioanalytiques de dépistage

— Le dépistage livre un résultat exprimé en tant que conforme ou suspecté d'être non conforme («suspect»).

— Il peut aussi livrer un résultat pour les PCDD/F et/ou les PCB de type dioxine exprimé en équivalents de bioanalyse (BEQ) (et non en TEQ) (voir annexe III, point 2).

— Si l'incertitude de mesure de la valeur BEQ calculée est donnée, en tant qu'écart type par exemple, elle doit être fondée sur une triple analyse au moins de l'échantillon (incluant l'extraction, la purification et la détermination de la réponse à l'essai).

— Les échantillons dont la réponse est au-dessous du seuil d'inscription sont indiqués comme étant sous le seuil d'inscription.

— Pour chaque type de matrice de prélèvement, le rapport mentionne le niveau considéré (teneur maximale, seuil d'intervention) sur lequel repose l'évaluation.

— Le rapport mentionne le type d'essai appliqué, le principe de base de l'essai et le type d'étalonnage.

— Le rapport mentionne également la méthode utilisée pour extraire les PCDD/F, les PCB de type dioxine et les graisses. La teneur en graisses de l'échantillon est déterminée et est indiquée dans le rapport pour les échantillons de denrées alimentaires présentant des teneurs maximales ou des seuils d'intervention exprimés par rapport à la matière grasse et ceux ayant une concentration de graisses attendue de l'ordre de 0 à 2 % (en accord avec la législation en vigueur); la détermination de la teneur en graisses est facultative pour les autres échantillons.

Appendice de l'ANNEXE III

TEF de l'OMS pour l'évaluation des risques pour les êtres humains, fondés sur les conclusions de la réunion des experts du programme international sur la sécurité des substances chimiques (PISSC) de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) qui s'est tenue en juin 2005 à Genève [Martin van den Berg et al., «*The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds*», *Toxicological Sciences* 93(2), p. 223 à 241 (2006)]

Congénère	Valeur TEF	Congénère	Valeur TEF
Dibenzo-p-dioxines (PCDD)		**PCB «de type dioxine», PCB non ortho et PCB mono ortho**	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	*PCB non ortho*	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
Dibenzofuranes (PCDF)		*PCB mono ortho*	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

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

ANNEXE IV

Préparation des échantillons et prescriptions applicables aux méthodes d'analyse à utiliser pour le contrôle officiel des teneurs en PCB autres que ceux de type dioxine (PCB # 28, 52, 101, 138, 153 et 180) de certaines denrées alimentaires

1. **Méthodes de détection applicables**

Chromatographie en phase gazeuse/détection à capture d'électrons (CG/DCE), CG/SMBR, CG/SM-SM, CG/SMHR ou méthodes équivalentes.

2. **Identification et confirmation des analytes considérés**

— Temps de rétention relatif par rapport aux étalons internes ou aux étalons de référence (écart admissible de +/– 0,25 %).

— Séparation par chromatographie en phase gazeuse des six PCB indicateurs (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 et PCB 180) des substances interférentes, surtout les PCB coélués, notamment si les teneurs des échantillons sont dans les limites légales et la non-conformité doit être confirmée.

[Les congénères qui coéluent souvent sont, par exemple, les PCB 28/31, les PCB 52/69 et les PCB 138/163/164. Pour la CG/SM, il convient de tenir compte aussi des interférences possibles de fragments de congénères plus fortement chlorés.]

— Pour les techniques de CG/SM:

— Mesure d'au moins:

— deux ions spécifiques pour la SMHR,

— deux ions spécifiques d'un m/z > 200 ou trois ions spécifiques d'un m/z > 100 pour la SMBR,

— d'un précurseur et de deux ions produits pour la SM-SM.

— Tolérances maximales admises applicables aux rapports isotopiques des fragments de masse sélectionnés:

Écart relatif entre le rapport de l'ion cible (l'ion recherché le plus abondant) et l'ion qualificateur (2^{e} ion recherché), et le rapport théorique de ces ions ou celui déterminé grâce à un standard d'étalonnage:

Intensité relative du ou des ions qualificateurs par rapport à l'ion cible	CG-IE-SM (écart relatif)	CG-IC-SM, CG-SM^{n} (écart relatif)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
De > 20 % à 50 %	± 15 %	± 25 %
De > 10 % à 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Le nombre de fragments de masse dont l'intensité relative est supérieure à 10 % étant suffisant, il est préférable de ne pas utiliser d'ion(s) qualificateur(s) d'une intensité relative inférieure à 10 % par rapport à l'ion cible.

— Pour la CG/DCE:

Confirmation des résultats dépassant la tolérance avec deux colonnes de CG présentant des phases stationnaires de polarité différente.

3. **Démonstration des performances de la méthode**

Validation dans la plage autour du niveau considéré (0,5 à 2 fois le niveau considéré) avec un coefficient de variation acceptable pour les analyses répétées (voir prescriptions relatives à la précision intermédiaire au point 8).

4. **Limite de quantification**

Les valeurs de blanc ne peuvent être supérieures à 30 % du niveau de contamination correspondant à la teneur maximale ([1]).

5. **Contrôle qualité**

Essais à blanc, analyse d'échantillons enrichis, échantillons servant de contrôle, participation à des essais interlaboratoire sur les matrices pertinentes à intervalles réguliers.

([1]) Il est fortement recommandé d'avoir une contribution de la valeur de blanc de réactif inférieure à la teneur en un contaminant d'un échantillon. Il incombe au laboratoire de contrôler la variation des valeurs de blanc, notamment si ces valeurs sont soustraites.

6. **Mesure des taux de récupération**

— Utilisation d'étalons internes appropriés avec des propriétés physico-chimiques comparables à celles des analytes considérés.

— Ajout d'étalons internes:

  — ajouts dans les échantillons (avant l'extraction et la purification),

  — ajout également possible dans la graisse extraite (avant purification), si teneur maximale exprimée par rapport à la matière grasse.

— Prescriptions relatives aux méthodes recourant aux six congénères indicateurs des PCB marqués d'un isotope:

  — résultats corrigés des taux de récupération des étalons internes,

  — taux de récupération généralement acceptables des étalons internes marqués d'un isotope entre 50 et 120 %,

  — les taux de récupération inférieurs ou supérieurs pour les congénères individuels avec une contribution à la somme des six PCB indicateurs inférieure à 10 % sont acceptables.

— Prescriptions relatives aux méthodes ne recourant pas à l'ensemble des six étalons internes marqués d'un isotope ou recourant à d'autres étalons internes:

  — mesure du taux de récupération du ou des étalons internes pour chaque échantillon,

  — taux de récupération acceptables du ou des étalons internes entre 60 et 120 %,

  — résultats corrigés des taux de récupération des étalons internes.

— Les taux de récupération des congénères non marqués sont vérifiés à l'aide d'échantillons enrichis ou d'échantillons de contrôle qualité présentant des concentrations de l'ordre du niveau considéré. Les taux de récupération acceptables pour ces congénères se situent entre 70 et 120 %.

7. **Prescriptions applicables aux laboratoires**

Conformément aux dispositions du règlement (CE) n° 882/2004, les laboratoires sont agréés par un organisme habilité qui se conforme au guide ISO 58, de manière à garantir qu'ils appliquent les procédures d'assurance qualité à leurs analyses. Les laboratoires sont agréés selon la norme EN ISO/CEI 17025.

8. **Caractéristiques de performances: Critères pour la somme des six PCB indicateurs au niveau considéré**

Justesse	De – 30 % à + 30 %
Précision intermédiaire (RSD %)	≤ 20 %
Différence entre l'estimation supérieure et l'estimation inférieure	≤ 20 %

9. **Inscription des résultats dans un rapport**

— Dans la mesure où le procédé d'analyse utilisé le permet, les résultats d'analyse comprennent les teneurs en congénères individuels des PCB et sont indiqués en estimation inférieure, estimation supérieure et estimation intermédiaire, afin que soit consigné un maximum de données, ce qui permet une interprétation des résultats en fonction de prescriptions spécifiques.

— Le rapport mentionne également la méthode utilisée pour extraire les PCB et les graisses. La teneur en graisses de l'échantillon est déterminée et est indiquée dans le rapport pour les échantillons de denrées alimentaires présentant des teneurs maximales ou des seuils d'intervention exprimés par rapport à la matière grasse et ceux ayant une concentration de graisses attendue de l'ordre de 0 à 2 % (en accord avec la législation en vigueur); la détermination de la teneur en graisses est facultative pour les autres échantillons.

— Les taux de récupération des étalons internes individuels doivent être fournis s'ils se situent en dehors de la plage mentionnée au point 6 ou si la teneur maximale est dépassée. Dans tous les autres cas, ils doivent être fournis sur demande.

— L'incertitude de mesure doit également être inscrite dans le rapport, car ce paramètre est pris en compte lorsqu'il s'agit de déterminer la conformité d'un échantillon. Par conséquent, les résultats de l'analyse sont consignés sous la forme x +/– U, où x est le résultat de l'analyse et U l'incertitude de mesure élargie calculée au moyen d'un facteur d'élargissement de 2 qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %.

— Si l'incertitude de mesure est prise en considération au moyen de la CCα (conformément à l'annexe II, point IV.1), ce paramètre est inscrit dans le rapport.

— Les résultats sont exprimés dans les mêmes unités et par (au moins) le même nombre de chiffres significatifs que les teneurs maximales établies dans le règlement (CE) n° 1881/2006.