

**RÈGLEMENT (UE) 2017/644 DE LA COMMISSION****du 5 avril 2017****portant fixation des méthodes de prélèvement et d'analyse d'échantillons à utiliser pour le contrôle 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 (UE) n° 589/2014****(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) n° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 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 <sup>(1)</sup>, et notamment son article 11, paragraphe 4,

considérant ce qui suit:

- (1) Le règlement (CE) n° 1831/2003 de la Commission <sup>(2)</sup> établit des teneurs maximales applicables aux polychlorobiphényles (PCB) autres que ceux de type dioxine, aux dioxines et aux furanes, ainsi qu'à la somme des dioxines, furanes et PCB de type dioxine dans certaines denrées alimentaires.
- (2) La recommandation 2013/711/UE de la Commission <sup>(3)</sup> établit des seuils d'intervention pour encourager une démarche anticipatrice de réduction de la présence de polychlorodibenzo-para-dioxines (PCDD), de polychlorodibenzofuranes (PCDF) et de PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires. Ces niveaux d'intervention sont un instrument utilisé par les autorités compétentes et les exploitants pour déterminer s'il y a lieu d'identifier une source de contamination et de prendre les mesures nécessaires pour la réduire ou l'éliminer.
- (3) Le règlement (UE) n° 589/2014 de la Commission <sup>(4)</sup> établit des dispositions spécifiques concernant la procédure de prélèvement d'échantillons et les méthodes d'analyse à appliquer pour le contrôle officiel des teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et des PCB autres que ceux de type dioxine.
- (4) 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) n° 1831/2003 et de la recommandation 2013/711/UE. 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 <sup>(5)</sup>. Elles ne modifient pas les critères de ciblage des prélèvements d'échantillons définis dans la décision 98/179/CE de la Commission <sup>(6)</sup>.
- (5) Il convient de veiller à ce que les exploitants du secteur alimentaire qui effectuent des contrôles dans le cadre de l'article 4 du règlement (CE) n° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil <sup>(7)</sup> appliquent des procédures d'échantillonnage équivalentes aux procédures d'échantillonnage prévues par le présent règlement afin d'assurer la représentativité des échantillons prélevés pour ces contrôles. En outre, le laboratoire de référence de l'Union européenne pour les dioxines et les PCB a apporté la preuve que les résultats d'analyse ne sont pas toujours fiables lorsque les critères de performance prévus dans le présent règlement ne sont pas respectés par les laboratoires effectuant l'analyse des échantillons prélevés par les exploitants du secteur alimentaire dans le cadre de l'article 4 du règlement (CE) n° 852/2004. Il convient par conséquent de rendre l'application des critères de performance également obligatoire pour l'analyse de ces échantillons.

<sup>(1)</sup> JO L 165 du 30.4.2004, p. 1.

<sup>(2)</sup> Règlement (CE) n° 1831/2003 de la Commission du 19 décembre 2003 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires (JO L 364 du 20.12.2006, p. 5).

<sup>(3)</sup> Recommandation 2013/711/UE de la Commission du 3 décembre 2013 sur la réduction de la présence de dioxines, de furanes et de PCB dans les aliments pour animaux et les denrées alimentaires (JO L 323 du 4.12.2013, p. 37).

<sup>(4)</sup> Règlement (UE) n° 589/2014 de la Commission du 2 juin 2014 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) n° 252/2012 (JO L 164 du 3.6.2014, p. 18).

<sup>(5)</sup> 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 (JO L 125 du 23.5.1996, p. 10).

<sup>(6)</sup> 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 (JO L 65 du 5.3.1998, p. 31).

<sup>(7)</sup> Règlement (CE) n° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires (JO L 139 du 30.4.2004, p. 1).

- (6) Étant donné que la méthode consistant à utiliser une limite de décision pour vérifier avec une certaine certitude si un résultat d'analyse dépasse la teneur maximale, telle que prévue par la décision 2002/657/CE de la Commission <sup>(1)</sup>, n'est plus appliquée pour l'analyse des dioxines et des PCB dans les denrées alimentaires, il y a lieu de supprimer cette méthode et de ne conserver que la méthode de l'incertitude élargie en utilisant le facteur d'élargissement de 2, ce qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %.
- (7) Conformément aux exigences d'inscription applicables aux méthodes bioanalytiques de dépistage, il convient également de prévoir les méthodes physico-chimiques à utiliser pour le dépistage dans le contexte des exigences spécifiques en matière d'inscription.
- (8) Étant donné que les teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine sont dans la plupart des cas déterminées ensemble, il convient d'aligner les critères de performance à respecter pour les PCB autres que ceux de type dioxine sur les critères de performance applicables pour les dioxines et les PCB de type dioxine. Il s'agit d'une simplification, sans modifications substantielles dans la pratique, étant donné que, dans le cas des PCB autres que ceux de type dioxine, l'intensité relative des ions qualificateurs par rapport aux ions cibles est > 50 %.
- (9) En outre, il convient d'apporter plusieurs autres modifications mineures aux dispositions actuelles, ce qui nécessite d'abroger le règlement (UE) n° 589/2014 et de le remplacer par un nouveau règlement pour de raisons de lisibilité du texte.
- (10) Les mesures prévues au présent règlement sont conformes à l'avis du comité permanent des végétaux, des animaux, des denrées alimentaires et des aliments pour animaux,

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 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 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 (UE) n° 589/2014 est abrogé.

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

<sup>(1)</sup> 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 (JO L 221 du 17.8.2002, p. 8).

*Article 6*

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

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

Fait à Bruxelles, le 5 avril 2017.

*Par la Commission*  
*Le président*  
Jean-Claude JUNCKER

---

## 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 s'appliquent.

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

- 1.1. «Seuil d'intervention»: teneur en une substance donnée, fixée dans l'annexe de la recommandation 2013/711/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 dépistage»: méthodes servant à sélectionner les échantillons dont les teneurs en PCDD, PCDF et PCB de type dioxine dépassent les teneurs maximales ou les seuils d'intervention. Elles offrent une grande capacité de traitement d'échantillons à la fois efficace et économique, et augmentent la probabilité de découvrir de nouveaux cas d'exposition élevée susceptibles de mettre la santé des consommateurs en péril. Les méthodes de dépistage sont fondées sur des méthodes de bioanalyse ou sur des méthodes CG-SM. Les résultats des échantillons dépassant la valeur seuil fixée aux fins du contrôle du respect de la teneur maximale, sont vérifiés; à cette fin, l'échantillon initial est soumis à une nouvelle analyse complète, réalisée au moyen d'une méthode de confirmation.
- 1.3. «Méthodes de confirmation»: méthodes qui fournissent des informations complètes ou complémentaires permettant l'identification et la quantification univoque des PCDD, PCDF et des PCB de type dioxine à la teneur maximale ou, en cas de besoin, au seuil d'intervention. Ces méthodes recourent à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (CG-SMHR) ou à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CG-SM/SM).
- 1.4. «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 <sup>(1)</sup> de la valeur TEQ, exprimée en équivalents de bioanalyse (BEQ) compte tenu du fait qu'il est possible que tous les composés présents dans un extrait d'échantillon qui produisent une réponse lors de l'essai ne remplissent l'ensemble des conditions du principe du TEQ.
- 1.5. «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 la méthode de confirmation. Il vise à corriger des facteurs tels que la perte de PCDD/PCDF et de composés de type dioxine pendant 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 de la teneur maximale ou du seuil d'intervention. Le taux de récupération apparent du bioessai est calculé à partir d'échantillons de référence appropriés avec des profils de congénères représentatifs proches de la teneur maximale ou du seuil d'intervention.
- 1.6. «double analyse»: analyse séparée des analytes visés au moyen d'une deuxième partie aliquote du même échantillon homogénéisé.
- 1.7. «Limite de quantification spécifique acceptée <sup>(2)</sup> d'un congénère dans un échantillon»: teneur minimale en analyte mesurable avec une certitude statistique raisonnable, satisfaisant aux critères d'identification décrits dans des normes internationalement reconnues, telles que la norme EN 16215:2012 (Aliments des animaux — Dosage des dioxines et des PCB de type dioxine par CG-SMHR et des PCB indicateurs par CG-SMHR) et/ou les méthodes EPA 1613 et 1668 révisées.

La limite de quantification d'un congénère peut être:

- a) la 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 de données brut le moins intense;

<sup>(1)</sup> 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 d'une bioanalyse ne sauraient-ils être une estimation et constituent plutôt une indication de la valeur TEQ dans l'échantillon.

<sup>(2)</sup> Les principes décrits dans le document "Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food" [lien vers le site] doivent être suivis lorsqu'ils sont applicables.

ou, si, pour des raisons techniques, le calcul du rapport signal/bruit ne donne pas des résultats fiables,

- b) le point de concentration minimal sur une courbe d'étalonnage qui donne un écart acceptable ( $\leq 30\%$ ) et cohérent (mesuré au moins au début et à la fin d'une série analytique d'échantillons) par rapport au facteur de réponse relatif moyen calculé pour tous les points de la courbe d'étalonnage de chaque série d'échantillons <sup>(1)</sup>.
- 1.8. «Estimation supérieure»: valeur calculée sur la base d'une contribution de chaque congénère non quantifié égale à la limite de quantification.
- 1.9. «Estimation inférieure»: valeur calculée sur la base d'une contribution de chaque congénère non quantifié égale à zéro.
- 1.10. «Estimation intermédiaire»: valeur calculée sur la base d'une contribution de chaque congénère non quantifié égale à la moitié de la limite de quantification.
- 1.11. «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'emballer, 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.
- 1.12. «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.
- 1.13. «Échantillon élémentaire»: quantité de matière prélevée en un seul point du lot ou du sous-lot.
- 1.14. «Échantillon global»: agrégation de tous les échantillons élémentaires prélevés sur le lot ou le sous-lot.
- 1.15. «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
SMHR	Spectrométrie de masse haute résolution
SMBR	Spectrométrie de masse basse résolution
SM/SM	Spectrométrie de masse en tandem
PCB	Polychlorobiphényles
PCB autres que ceux de type dioxine	PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 et PCB 180
PCDD	Dibenzo-p-dioxines polychlorées
PCDF	Dibenzofuranes polychlorés
CQ	Contrôle qualité
REP	Potentiel relatif
TEF	Facteur d'équivalence toxique
TEQ	Équivalents toxiques
TCDD	2,3,7,8-Tétrachlorodibenzo-p-dioxine
U	Incertitude de mesure élargie

<sup>(1)</sup> La limite de quantification est calculée à partir du point de concentration le plus bas, compte tenu du taux de récupération des étalons internes et du prélèvement d'échantillons.

## 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 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 est établi sur la base des teneurs déterminées dans les échantillons de laboratoire.

Pour garantir la conformité avec les dispositions de l'article 4 du règlement (CE) n° 852/2004, l'exploitant du secteur alimentaire doit, lorsque des échantillons sont prélevés aux fins du contrôle des teneurs en dioxines (PCDD/PCDF), en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine, prélever les échantillons selon les méthodes décrites au chapitre III de la présente annexe ou appliquer une procédure d'échantillonnage équivalente dont il est démontré qu'elle garantit une représentativité égale à la procédure d'échantillonnage décrite au chapitre III de la présente annexe.

## II. DISPOSITIONS GÉNÉRALES

**1. Personnel**

Le prélèvement officiel 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.

**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 d'un État membre relatives aux droits des exploitants du secteur alimentaire. La taille des échantillons pour 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 (les huiles végétales, par exemple). 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 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
$\geq 1\ 500$	500 tonnes
$> 300$ et $< 1\ 500$	3 sous-lots
$\geq 50$ et $\leq 300$	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
$\geq 15$	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).

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, on peut supposer une distribution homogène des contaminants à l'intérieur d'un lot ou d'un sous-lot donné. Il suffit dès lors de prélever trois échantillons élémentaires par lot ou par sous-lot pour constituer 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 <sup>(1)</sup>, la taille de l'échantillon global, pour les œufs de poule, est d'au moins 12 œufs (pour des lots en vrac comme pour des lots constitués d'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 kilos ou en litres)	Nombre minimal d'échantillons élémentaires à prélever
< 50	3
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.

Tableau 4

**Nombre d'emballages ou d'unités (échantillons élémentaires) à prélever pour former 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
1 à 25	Au moins 1 emballage ou 1 unité
26 à 100	Environ 5 %, au moins 2 emballages ou unités
> 100	Environ 5 %, au maximum 10 emballages ou unités

**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.

<sup>(1)</sup> 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 (JO L 303 du 6.11.1997, p. 12).

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 tailles 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 représentatif de l'ensemble du lot.
- Si aucune classe/catégorie particulière de tailles 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» contient des lignes directrices spécifiques relatives à ce genre de situation <sup>(2)</sup>.

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

Le prélèvement d'échantillons de denrées alimentaires au stade du commerce de détail est effectué, dans la mesure du possible, conformément aux dispositions en la matière figurant au point III.2.

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.

### IV. CONFORMITÉ DU LOT AVEC LES SPÉCIFICATIONS

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

Le lot est conforme si le résultat de l'analyse pour la somme des PCB autres que ceux de type dioxine ne dépasse pas la teneur maximale correspondante fixée dans le règlement (CE) n° 1881/2006, compte tenu de l'incertitude de mesure élargie <sup>(3)</sup>.

Le lot est non conforme à la teneur maximale fixée dans le règlement (CE) n° 1881/2006 si la moyenne des deux résultats d'analyse supérieurs obtenus lors d'une double analyse <sup>(4)</sup>, dépasse la teneur maximale avec une quasi-certitude, compte tenu de l'incertitude de mesure élargie.

L'incertitude de mesure élargie est calculée au moyen d'un facteur d'élargissement de 2, qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %. Un lot est non conforme si la moyenne des valeurs mesurées, diminuée de l'incertitude élargie de la moyenne, est supérieure à la teneur maximale fixée.

Les règles énoncées aux alinéas précédents du présent point 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 conforme 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 respectives fixées pour les PCDD/PCDF et la somme des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine dans le règlement (CE) n° 1881/2006,

<sup>(2)</sup> [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs\\_contaminants\\_catalogue\\_dioxins\\_guidance-sampling\\_exemples-dec2006\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_dioxins_guidance-sampling_exemples-dec2006_en.pdf)

<sup>(3)</sup> Les principes énoncés dans le document «Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/PCDF and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry» [lien vers le site] doivent être suivis lorsqu'ils sont applicables.

<sup>(4)</sup> La double analyse est nécessaire si le résultat du premier dosage est non conforme. La double analyse est nécessaire pour exclure la possibilité d'une contamination croisée interne ou un mélange accidentel des échantillons. Si l'analyse est effectuée lors d'une 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 et lorsque la teneur constatée est considérablement supérieure à la teneur maximale.

— effectuée selon une méthode de confirmation ne dépasse pas les teneurs maximales respectives fixées pour les PCDD/PCDF et la somme des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine dans le règlement (CE) n° 1881/2006, compte tenu de l'incertitude de mesure élargie <sup>(5)</sup>.

Pour les analyses de dépistage, une valeur seuil est établie pour déterminer la conformité aux teneurs maximales respectives fixées pour les PCDD/PCDF ou pour la somme des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine.

Le lot est non conforme à la teneur maximale fixée dans le règlement (CE) n° 1881/2006 si la moyenne des deux résultats d'analyse supérieurs (double analyse <sup>(6)</sup>) obtenus par une méthode de confirmation, dépasse la teneur maximale avec une quasi-certitude, compte tenu de l'incertitude de mesure élargie.

L'incertitude de mesure élargie est calculée au moyen d'un facteur d'élargissement de 2, qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %. Un lot est non conforme si la moyenne des valeurs mesurées, diminuée de l'incertitude élargie de la moyenne, est supérieure à la teneur maximale fixée.

La somme des estimations des incertitudes élargies des résultats d'analyse distincts concernant les PCDD/PCDF et les PCB de type dioxine doit être utilisée pour l'estimation de l'incertitude élargie de la somme des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine.

Les règles énoncées aux alinéas précédents du présent point 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.

#### 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. S'il est nécessaire d'accomplir des efforts considérables pour déterminer une source et pour réduire ou éliminer la contamination, il peut être approprié de confirmer le dépassement du seuil d'intervention en réalisant une double analyse au moyen d'une méthode de confirmation et en tenant compte de l'incertitude de mesure élargie <sup>(7)</sup>.

---

<sup>(5)</sup> «Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry» [lien vers le site web], «Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food» [lien vers le site web].

<sup>(6)</sup> La double analyse est nécessaire si le résultat du premier dosage recourant à des méthodes de confirmation qui prévoient des étalons internes marqués au <sup>13</sup>C pour les analytes considérés n'est pas conforme. La double analyse est nécessaire pour exclure la possibilité d'une contamination croisée interne ou un mélange accidentel des échantillons. Si l'analyse est effectuée lors d'une 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 et lorsque la teneur constatée est considérablement supérieure à la teneur maximale.

<sup>(7)</sup> Les explications et les prescriptions concernant la double analyse applicable aux teneurs maximales figurant à la note de bas de page 6 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 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/PCDF) substitués en 2,3,7,8 et en polychlorobiphényles de type dioxine (PCB de type dioxine), ainsi qu'à d'autres fins réglementaires, y compris les contrôles effectués par les exploitants du secteur alimentaire pour veiller au respect des dispositions de l'article 4 du règlement (CE) n° 852/2004.

La présence de PCDD/PCDF et de PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires peut être contrôlée au moyen des deux types de méthodes d'analyse décrites ci-après.

a) *Méthodes de dépistage*

Les méthodes de dépistage servent à sélectionner les échantillons dont les teneurs en PCDD/PCDF et en PCB de type dioxine dépassent les teneurs maximales ou les seuils d'intervention. Elles doivent offrir une grande capacité de traitement d'échantillons à la fois efficace et économique, et augmenter la probabilité de découvrir de nouveaux cas d'exposition élevée susceptibles de mettre la santé des consommateurs en péril. Leur application doit permettre d'éviter les faux conformes. Elles peuvent comprendre des méthodes de bioanalyse et des méthodes de CG-SM.

Elles permettent de comparer le résultat d'une analyse avec une valeur seuil et de confirmer ou d'infirmer (réponse positive ou négative) l'éventuel dépassement de la teneur maximale ou du seuil d'intervention. La concentration de PCDD/PCDF et la somme des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine dans les échantillons suspectés de non-conformité à la teneur maximale doivent être déterminées ou confirmées au moyen d'une méthode de confirmation.

En outre, les méthodes de dépistage peuvent donner une indication des teneurs en PCDD/PCDF et en PCB de type dioxine des échantillons. En cas d'application de méthodes bioanalytiques de dépistage, le résultat est exprimé en équivalents de bioanalyse (BEQ), alors qu'en cas d'application de méthodes CG-SM physico-chimiques, il est exprimé en équivalents toxiques (TEQ). Les résultats numériques obtenus au moyen de méthodes de dépistage permettent de démontrer la conformité, la suspicion de non-conformité ou le dépassement des seuils d'intervention et donnent une indication sur la plage des teneurs en cas de suivi au moyen de méthodes de confirmation. Ils ne permettent pas, par exemple, d'évaluer les niveaux de bruit de fond, d'estimer l'ingestion, de suivre l'évolution chronologique ou de réévaluer les seuils d'intervention et les teneurs maximales.

b) *Méthodes de confirmation*

Les méthodes de confirmation permettent l'identification et la quantification univoques des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine présents dans un échantillon et de fournir des informations complètes sur la base des congénères. Par conséquent, ces méthodes permettent de contrôler les teneurs maximales et les seuils d'intervention et de confirmer les résultats obtenus au moyen des méthodes de dépistage. En outre, les résultats peuvent servir à d'autres fins, telles que la détermination des faibles niveaux de bruit de fond dans le contrôle des denrées alimentaires, le suivi de l'évolution chronologique, l'évaluation de l'exposition de la population et la création d'une base de données en vue de la réévaluation éventuelle des seuils d'intervention et des teneurs maximales. Ils sont aussi importants pour établir les profils de congénères aux fins de la détermination de la source d'une contamination éventuelle. Ces méthodes reposent sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (CG-SMHR). La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CG-SM/SM) peut également être utilisée pour confirmer la conformité ou la non-conformité à la teneur maximale.

## 2. CONTEXTE

Pour le calcul des concentrations d'équivalents toxiques (TEQ), les concentrations des différentes substances 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 dans l'appendice de la présente annexe, puis elles sont additionnées de façon à donner la concentration totale de 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 de la teneur maximale ou du seuil d'intervention.

### 3. PRESCRIPTIONS D'ASSURANCE QUALITÉ

- Des mesures doivent être prises pour que soit évitée 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/PCDF et en PCB de type dioxine dans les échantillons de la moindre influence. Toute trace de poussière de papier doit être enlevée du récipient contenant 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/PCDF, 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 des teneurs maximales ou des seuils d'intervention.
- Les procédures spécifiques de préparation des échantillons utilisées pour les produits considérés doivent être conformes aux lignes directrices internationalement acceptées.
- Dans le cas des poissons, la peau doit être enlevée, car la teneur maximale s'applique à la chair musculaire dépouillée. Néanmoins, 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.

### 4. PRESCRIPTIONS APPLICABLES AUX LABORATOIRES

- Conformément aux dispositions du règlement (CE) n° 882/2004, les laboratoires doivent être accrédités 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 doivent être accrédités selon la norme EN ISO/CEI 17025. Les principes énoncés dans les directives techniques pour l'estimation de l'incertitude de mesure et les limites de quantification pour l'analyse des PCDD/PCDF et des PCB doivent être suivis lorsqu'ils sont applicables <sup>(1)</sup>.
- L'aptitude des laboratoires doit être prouvée par la participation continue et réussie à des études interlaboratoires sur le dosage des PCDD/PCDF 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.

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

#### 5.1. Sensibilité élevée et limite de quantification basse

- En ce qui concerne les PCDD/PCDF, 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).

<sup>(1)</sup> «Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry» [lien vers le site web], «Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food» [lien vers le site]

## 5.2. Grande sélectivité (spécificité)

- Il est nécessaire de distinguer les PCDD/PCDF 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/PCDF 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/PCDF 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.

## 5.3. Grande exactitude (justesse et fidélité, taux de récupération apparent du bioessai)

- Pour les méthodes de CG-SM, le dosage doit fournir 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 (différence entre la valeur moyenne mesurée pour un analyte dans un matériau certifié et sa valeur certifiée, exprimée en pourcentage de cette valeur) et de la fidélité ( $RSD_R$ , 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.

## 5.4. Validation dans la plage de la teneur maximale et mesures générales de contrôle qualité

- Les laboratoires doivent démontrer la validité de la méthode dans une certaine plage proche de la teneur maximale, par exemple à des niveaux égaux à 0,5 fois, 1 fois et 2 fois la teneur maximale, 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 témoins (si possible, des matériaux de référence certifiés) sont effectués régulièrement dans le cadre des mesures internes de contrôle qualité. Il est nécessaire de réaliser et de vérifier des cartes de contrôle qualité pour les essais à blanc, les expériences avec enrichissement ou l'analyse des échantillons témoins afin de garantir que les performances analytiques sont conformes aux prescriptions.

## 5.5. Limite de quantification

- Pour une méthode bioanalytique de dépistage, l'établissement de la limite de quantification n'est pas indispensable, mais il doit être démontré que la méthode permet de distinguer la valeur de blanc de la valeur seuil. En cas de transmission d'une valeur BEQ, il est nécessaire d'établir un seuil d'inscription permettant de savoir que faire des échantillons produisant une réponse au-dessous de ce seuil. Le seuil d'inscription doit présenter 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 de la teneur maximale.

## 5.6. Critères d'analyse

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

	Dépistage au moyen de méthodes de bioanalyse ou de méthodes physico-chimiques	Méthodes de confirmation
Taux de faux conformes (*)	< 5 %	
Justesse		De - 20 % à + 20 %

	Dépistage au moyen de méthodes de bioanalyse ou de méthodes physico-chimiques	Méthodes de confirmation
Répétabilité (RSD <sub>r</sub> )	< 20 %	
Fidélité intermédiaire (RSD <sub>R</sub> )	< 25 %	< 15 %

(\*) Au regard des teneurs maximales.

### 5.7. Prescriptions spécifiques applicables aux méthodes de dépistage

- Le dépistage peut être effectué au moyen de méthodes de CG-SM et de méthodes de bioanalyse. Pour les méthodes de CG-SM, les prescriptions établies au point 6 doivent être appliquées. Pour les méthodes de bioanalyse cellulaire, des prescriptions spécifiques sont établies au point 7.
- 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 TCDD à la teneur maximale ou au seuil d'intervention, pour vérifier si la réponse est éventuellement atténuée par des substances interférentes présentes dans l'extrait d'échantillon. La concentration mesurée de 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. Les résultats sont contrôlés à l'aide de cartes de contrôle de la qualité.

- Contrôle de la qualité sur des échantillons conformes.

Environ 2 à 10 % des échantillons conformes, en fonction de la matrice et de l'expérience du laboratoire, doivent être confirmés.

- 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 doit être 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 deux 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 différentes 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 élargie de la méthode de confirmation.

- Les résultats du dépistage potentiellement non conformes sont toujours vérifiés; à cette fin, l'échantillon initial est soumis à une nouvelle analyse complète, réalisée au moyen d'une méthode de confirmation. 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, 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 bas 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 appliquées dans des conditions de répétabilité, la  $RSD_r$  intralaboratoire sera généralement inférieure à la  $RSD_R$  (reproductibilité).

## 6. PRESCRIPTIONS SPÉCIFIQUES APPLICABLES AUX MÉTHODES DE CG-SM À RESPECTER À DES FINS DE DÉPISTAGE OU DE CONFIRMATION

### 6.1. Écarts acceptables entre l'estimation supérieure et l'estimation inférieure des OMS-TEQ

- L'écart entre l'estimation supérieure et l'estimation inférieure ne peut dépasser 20 % pour la confirmation du dépassement des teneurs maximales ou, en cas de besoin, des seuils d'intervention.

### 6.2. Mesure des taux de récupération

- Des étalons internes de PCDD/PCDF substitués en 2,3,7,8 marqués au  $^{13}\text{C}$  et des étalons internes de PCB de type dioxine marqués au  $^{13}\text{C}$  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 tétrachlorés à octachlorés des PCDD/PCDF 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/PCDF 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/PCDF substitués en 2,3,7,8 marqués au  $^{13}\text{C}$  ainsi que la totalité des douze étalons internes de PCB de type dioxine marqués au  $^{13}\text{C}$ .
- Des facteurs de réponse relatifs doivent également être déterminés dans le cas des congénères pour lesquels aucun analogue marqué au  $^{13}\text{C}$  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. L'efficacité de l'extraction doit faire l'objet d'une validation appropriée, eu égard à la phase au cours de laquelle les étalons internes sont introduits et à la façon dont les résultats sont consignés (sur la base du produit ou des graisses).
- Avant l'analyse CG-SM, un ou deux étalons de récupération (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 doivent se situer 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/PCDF et des PCB de type dioxine). Dans le cas des méthodes de dépistage par CG-SM, les taux de récupération doivent se situer dans une plage comprise entre 30 et 140 %.

### 6.3. Élimination des substances interférentes

- Les PCDD/PCDF 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).

### 6.4. Étalonnage avec courbe étalon

- La plage de la courbe d'étalonnage couvre la plage correspondante des teneurs maximales ou des seuils d'intervention.

### 6.5. Critères spécifiques applicables aux méthodes de confirmation

- CG-SMHR:

En SMHR, la résolution caractéristique doit être égale ou supérieure à 10 000 pour toute la plage de masse avec une vallée de 10 %.

Les autres critères d'identification et de confirmation sont remplis conformément à des normes internationalement reconnues, telles que la norme EN 16215:2012 (Aliments des animaux — Dosage des dioxines, des PCB de type dioxine et des PCB indicateurs par GC/HRMS) et/ou les méthodes EPA 1613 et 1668 révisées.

— CG-SM/SM:

Il s'agit de suivre au moins deux ions précurseurs spécifiques et, pour chacun d'eux, un ion de fragmentation spécifique produit pour tous les analytes marqués et non marqués dans le champ d'application de l'analyse.

La tolérance autorisée maximale des intensités relatives des ions est de  $\pm 15\%$  pour les ions de fragmentation sélectionnés par rapport aux valeurs calculées ou mesurées (moyenne des étalons), dans des conditions SM/SM identiques (notamment en ce qui concerne l'énergie de collision et la pression du gaz de collision), pour chaque transition d'un analyte.

La résolution de chaque quadrupôle doit être égale ou supérieure à la résolution massique unitaire (résolution massique unitaire: résolution suffisante pour séparer deux pics d'une unité massique) de manière à minimiser les éventuelles interférences avec les analytes considérés.

Les autres critères sont remplis conformément à des normes internationalement reconnues, telles que la norme EN 16215:2012 (Aliments des animaux — Dosage des dioxines, des PCB de type dioxine et des PCB indicateurs par GC/HRMS) et/ou les méthodes EPA 1613 et 1668 révisées, sauf pour ce qui concerne l'obligation de recourir à la CG-SMHR.

## 7. 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 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 7.3). 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 peut servir de valeur seuil, à condition qu'un taux de faux conformes inférieur à 5 % et un taux acceptable de faux non conformes soient garantis. Avec des teneurs maximales distinctes pour les PCDD/PCDF et pour la somme des PCDD/PCDF 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/PCDF. Pour la vérification des échantillons dépassant les seuils d'intervention, la valeur seuil pourrait être un pourcentage approprié des seuils d'intervention respectifs.

Si une valeur indicative est exprimée en BEQ, les résultats doivent être donnés pour les échantillons situés dans la plage de travail et dépassant le seuil d'inscription (voir points 7.1.1 et 7.1.6).

### 7.1. Évaluation de la réponse à l'essai

#### 7.1.1. 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 à l'extrémité 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 pendant la validation. Les valeurs seuil (point 7.3) doivent se situer dans la plage de travail.

— Les solutions étalon et les extraits d'échantillon doivent être analysés en triple ou 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 %.

### 7.1.2. *Étalonnage*

#### 7.1.2.1. *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 étalon de PCDD/PCDF/PCB de type dioxine) aux fins du calcul de la valeur BEQ dans l'extrait et, ultérieurement, dans l'échantillon.
- Les courbes d'étalonnage doivent contenir de 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 doit être 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 ou 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 de la teneur maximale ou du seuil d'intervention). 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 7.1.4). Les échantillons de référence utilisés pour corriger du taux de récupération doivent respecter les prescriptions énoncées au point 7.2.

#### 7.1.2.2. *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 7.2): une matrice blanche et trois échantillons de référence à 0,5 fois, 1,0 fois et 2,0 fois la teneur maximale ou le seuil d'intervention, ce qui permet de se passer de la correction par le blanc et le taux de récupération si les propriétés de la matrice des échantillons de référence correspondent à celles des échantillons inconnus. Dans ce cas, la réponse à l'essai correspondant aux deux tiers de la teneur maximale (voir point 7.3) 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.

#### 7.1.3. *Dosage distinct des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine*

Les extraits peuvent être séparés en fractions contenant des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine, permettant une indication distincte des teneurs en PCDD/PCDF 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.

#### 7.1.4. *Taux de récupération 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 de la teneur maximale ou du seuil d'intervention et est exprimé en pourcentage de la valeur BEQ par rapport à la valeur TEQ. En fonction du type de bioessai et des TEF <sup>(1)</sup> 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/PCDF. Par conséquent, en cas de dosage distinct des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine, les taux de récupération apparents du bioessai doivent être de 20 à 60 % pour les PCB de type dioxine et de 50 à 130 % pour les PCDD/PCDF (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/PCDF 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 %.

#### 7.1.5. *Contrôle des taux de récupération de la purification*

La perte de composés durant la purification doit être vérifiée pendant la validation. Un échantillon blanc enrichi d'un mélange des différents congénères doit faire l'objet d'une purification (n = 3 au moins) et la récupération et la variabilité doivent être vérifiées au moyen d'une méthode de confirmation. 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.

<sup>(1)</sup> 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).

### 7.1.6. 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).

### 7.2. 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/PCDF et des PCB de type dioxine proches de la teneur maximale ou du seuil d'intervention.
- Chaque série d'essais doit comporter un blanc de procédure, ou de préférence une matrice blanche, et un échantillon de référence à la teneur maximale ou au seuil d'intervention. 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 la teneur maximale ou le seuil d'intervention, par exemple, peuvent être inclus pour démontrer l'efficacité de l'essai dans la plage pertinente pour le contrôle de la teneur maximale ou du seuil d'intervention. Agrégés, ces échantillons peuvent servir au calcul des valeurs BEQ dans les échantillons d'essai (voir point 7.1.2.2).

### 7.3. Détermination de valeurs seuil

Le lien entre les résultats de bioanalyse en BEQ et les résultats des méthodes de confirmation 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 (voir point 7.2).

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 teneurs maximales ou seuils d'intervention respectifs établis pour les PCDD/PCDF et pour les PCB de type dioxine pris isolément, ou pour la somme des PCDD/PCDF 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 méthode de confirmation 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 méthode de confirmation est la teneur maximale, compte tenu de l'incertitude de mesure élargie.

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

#### 7.3.1. Utilisation de la plage inférieure de l'intervalle de prédiction de 95 % à la limite de décision de la méthode de confirmation.

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

où

$\text{BEQ}_{\text{DL}}$  BEQ correspondant à la limite de décision de la méthode de confirmation, soit la teneur maximale compte tenu de l'incertitude de mesure élargie

$s_{y,x}$  écart type résiduel

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

$m$  nombre total de points d'étalonnage (indice  $j$ )

$n$  nombre de répétitions à chaque niveau

- $x_i$  concentration dans l'échantillon (en TEQ) du point d'étalonnage  $i$ , déterminée par une méthode de confirmation
- $\bar{x}$  concentration moyenne (en TEQ) de tous les échantillons d'étalonnage

$$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2 \text{ paramètre de la somme des carrés}$$

$i$  = indice pour le point d'étalonnage  $i$

- 7.3.2. Calcul à partir des résultats de bioanalyse (corrigés du blanc et du taux de récupération) de multiples analyses d'échantillons ( $n \geq 6$ ) contaminés à hauteur de la limite de décision de la méthode de confirmation, en tant qu'extrémité *inférieure* de la répartition des données à la valeur BEQ moyenne correspondante:

$$\text{Valeur seuil} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1,64 \times \text{SD}_R$$

où

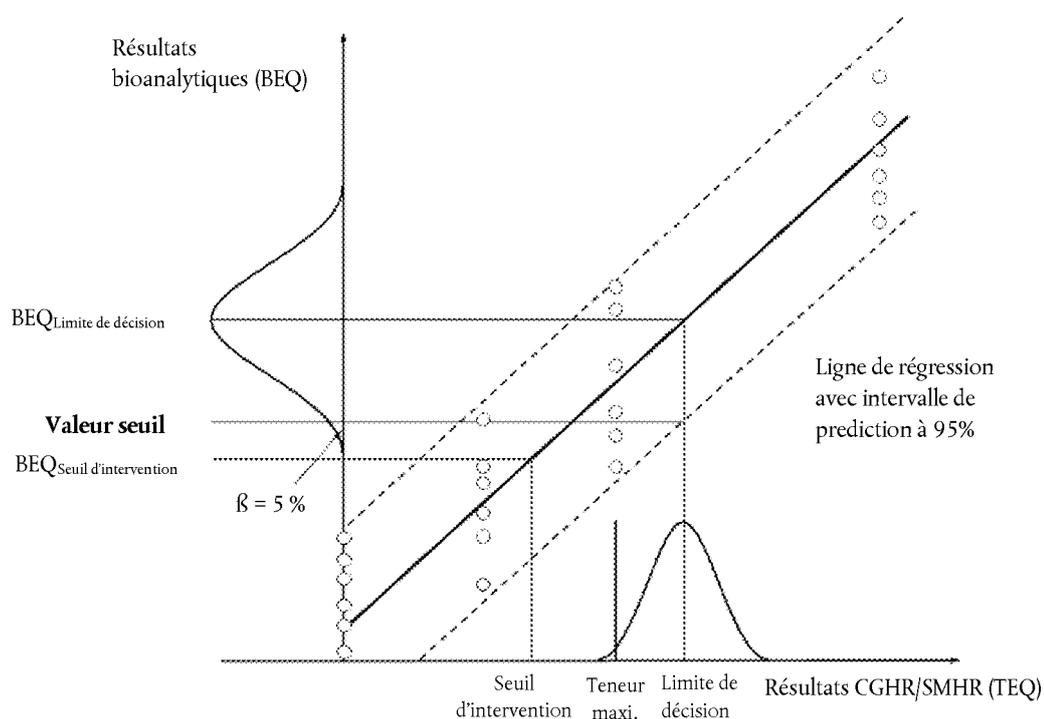
$\text{SD}_R$  Écart type des résultats de bioanalyse à la  $\text{BEQ}_{\text{DL}}$ , mesuré dans des conditions de reproductibilité intralabore

- 7.3.3. 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 ( $n \geq 6$ ) contaminés aux deux tiers de la teneur maximale ou du seuil d'intervention, sachant que ce niveau sera proche de la valeur seuil déterminée conformément au point 7.3.1 ou 7.3.2.

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  $\text{RSD}_R$  inférieur à 25 %:

- à partir de la plage *inférieure* de l'intervalle de prédiction de 95 % à la limite de décision de la méthode de confirmation;
- à partir de l'analyse multiple d'échantillons ( $n \geq 6$ ) contaminés à hauteur de la limite de décision de la méthode de confirmation 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.

**Graphique 1**



#### 7.3.4. 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 à la teneur maximale ou au seuil d'intervention fondés sur la valeur TEQ en raison d'une plus grande fiabilité 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 de la teneur maximale ou du seuil d'intervention.

#### 7.4. Caractéristiques de performance

- 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 7.1.2).
- Les composés cibles, les interférences potentielles et les valeurs maximales tolérées pour le blanc doivent être 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 du ou des échantillons de référence exprimés en BEQ (blanc et teneur maximale ou seuil d'intervention) 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, obtenus au moyen des méthodes de confirmation, des échantillons suspects et de 2 à 10 % des échantillons conformes (au minimum 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 circulaires. Les résultats des échantillons analysés dans des essais circulaires, 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 différentes 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.

#### 8. INSCRIPTION DES RÉSULTATS DANS UN RAPPORT

##### *Méthodes de confirmation*

- Les résultats d'analyse comprennent les teneurs en congénères individuels des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine et les valeurs TEQ sont indiquées 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/PCDF, 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 matrices de denrées alimentaires présentant des teneurs maximales exprimées 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 6.2 lorsque la teneur maximale est dépassée (dans ce cas, les taux de récupération doivent être fournis pour l'une des deux analyses faites en double). Dans tous les autres cas, ils doivent être fournis sur demande.
- L'incertitude de mesure élargie doit également être inscrite dans le rapport, car ce paramètre doit être 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  $x \pm U$ , 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/PCDF et des PCB de type dioxine, la somme des estimations de l'incertitude élargie des résultats d'analyse distincts concernant les PCDD/PCDF et les PCB de type dioxine doit être utilisée pour la somme des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine.
- Les résultats sont exprimés dans les mêmes unités et avec le même nombre de chiffres significatifs que les teneurs maximales figurant au règlement (CE) n° 1881/2006.

#### *Méthodes bioanalytiques de dépistage*

- Le dépistage donne un résultat qui doit être énoncé comme étant «conforme» ou «suspecté d'être non conforme» («suspect») dans le rapport.
- Il peut aussi donner un résultat indicatif exprimé en BEQ (et non en TEQ) pour les PCDD/PCDF et/ou les PCB de type dioxine (voir point 1). Les échantillons dont la réponse est au-dessous du seuil d'inscription sont indiqués comme étant sous le seuil d'inscription. Les échantillons dont la réponse est au-dessus de la plage de travail doivent être déclarés comme dépassant la plage de travail et le niveau correspondant à l'extrémité supérieure de la plage de travail doit être indiqué en BEQ.
- Pour chaque type de matrice de prélèvement, le rapport mentionne la teneur maximale ou le seuil d'intervention sur lequel repose l'évaluation.
- Le rapport mentionne le type d'essai effectué, le principe de base de l'essai et le type d'étalonnage.
- Le rapport mentionne également la méthode utilisée pour extraire les PCDD/PCDF, 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 matrices de denrées alimentaires présentant des teneurs maximales exprimées 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.
- Dans le cas d'échantillons suspectés d'être non conformes, le rapport doit comprendre une note sur les mesures à prendre. La concentration de PCDD/PCDF et la somme des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine dans ces échantillons présentant des teneurs élevées doivent être déterminées/confirmées au moyen d'une méthode de confirmation.
- Les résultats non conformes ne sont mentionnés dans le rapport que sur la base de l'analyse de confirmation.

#### *Méthodes physico-chimiques de dépistage*

- Le dépistage donne un résultat qui doit être énoncé comme étant «conforme» ou «suspecté d'être non conforme» («suspect») dans le rapport.
- Pour chaque type de matrice de prélèvement, le rapport mentionne la teneur maximale ou le seuil d'intervention sur lequel repose l'évaluation.
- En outre, les teneurs en congénères individuels des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine et les valeurs TEQ indiquées en estimation inférieure, estimation supérieure et estimation intermédiaire peuvent être données. 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.
- Les taux de récupération des étalons internes individuels doivent être fournis s'ils se situent en dehors de la plage mentionnée au point 6,2; dans tous les autres cas, ils doivent être fournis sur demande.
- Le rapport doit mentionner la méthode CG-SM appliquée.
- Le rapport mentionne également la méthode utilisée pour extraire les PCDD/PCDF, 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 matrices de denrées alimentaires présentant des teneurs maximales exprimées 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.

- 
- Dans le cas d'échantillons suspectés d'être non conformes, le rapport doit comprendre une note sur les mesures à prendre. La concentration de PCDD/PCDF et la somme des PCDD/PCDF et des PCB de type dioxine dans ces échantillons présentant des teneurs élevées doivent être déterminées/confirmées au moyen d'une méthode de confirmation.
  - La non-conformité ne peut être décidée qu'après une analyse de confirmation.
-

## Appendice

TEF-OMS pour l'évaluation des risques pour l'homme, 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 à Genève en juin 2005 <sup>(1)</sup>

Congénère	Valeur TEF	Congénère	Valeur TEF
<b>Dibenzo-p-dioxines («PCDD»)</b>		<b>PCB «de type dioxine»</b>	
		<b>PCB non-ortho + PCB mono-ortho</b>	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	<b>PCB non ortho</b>	
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		
<b>Dibenzofuranes («PCDF»)</b>		<b>PCB mono ortho</b>	
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.			

<sup>(1)</sup> 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), 223–241 (2006).

## ANNEXE IV

## PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET PRESCRIPTIONS APPLICABLES AUX MÉTHODES D'ANALYSE À UTILISER POUR LE CONTRÔLE DES TENEURS EN PCB AUTRES QUE CEUX DE TYPE DIOXINE DE CERTAINES DENRÉES ALIMENTAIRES

Les prescriptions de la présente annexe s'appliquent aux analyses de denrées alimentaires effectuées aux fins du contrôle officiel des teneurs en PCB autres que ceux de type dioxine, ainsi qu'à d'autres fins réglementaires, y compris les contrôles effectués par les exploitants du secteur alimentaire pour veiller au respect des dispositions de l'article 4 du règlement (CE) n° 852/2004.

Les dispositions relatives à la préparation des échantillons prévues à l'annexe III, point 3, du présent règlement sont également applicables au contrôle des teneurs en PCB autres que ceux de type dioxine des 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  $\pm 0,25$  %).
- Séparation par chromatographie en phase gazeuse des PCB autres que ceux de type dioxine (des substances interférentes, surtout les PCB coélués, notamment si les teneurs des échantillons sont dans les limites légales et si la non-conformité doit être confirmée <sup>(1)</sup>).
- Pour les techniques de CG-SM:
  - Il s'agit de suivre au moins le nombre suivant d'ions moléculaires ou d'ions caractéristiques du cluster moléculaire:
    - deux ions spécifiques pour la SMHR,
    - deux ions spécifiques pour la SMBR,
    - deux ions précurseurs spécifiques et, pour chacun d'eux, un ion de fragmentation spécifique produit 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 du ou des ions qualificateurs et le rapport théorique de ces ions ou celui déterminé grâce à un standard d'étalonnage:  $\pm 15$  %.
- Pour la CG-DCE:  
Confirmation des résultats dépassant la teneur maximale avec deux colonnes de CG présentant des phases stationnaires de polarité différente.

### 3. Démonstration des performances de la méthode

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

### 4. Limite de quantification (LOQ)

La somme des limites de quantification <sup>(2)</sup> des PCB autres que ceux de type dioxine ne peut être supérieure à un tiers de la teneur maximale <sup>(3)</sup>.

### 5. Contrôle qualité

Essais à blanc, analyse d'échantillons enrichis, échantillons servant au contrôle qualité, participation à des études interlaboratoires sur les matrices pertinentes à intervalles réguliers.

<sup>(1)</sup> 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.

<sup>(2)</sup> Les principes décrits dans le document «Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food» [lien vers le site] doivent être suivis lorsqu'ils sont applicables.

<sup>(3)</sup> 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 applicables aux méthodes recourant aux six congénères des PCB autres que ceux de type dioxine 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 60 et 120 %,
  - les taux de récupération inférieurs ou supérieurs pour les congénères individuels avec une contribution à la somme des PCB autres que ceux de type dioxine inférieure à 10 % sont acceptables.
- Prescriptions applicables 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 doivent être vérifiés à l'aide d'échantillons enrichis ou d'échantillons de contrôle qualité présentant des concentrations de l'ordre de la teneur maximale. Les taux de récupération acceptables pour ces congénères se situent entre 60 et 120 %.

## 7. Prescriptions applicables aux laboratoires

Conformément aux dispositions du règlement (CE) n° 882/2004, les laboratoires doivent être accrédités 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 doivent être accrédités selon la norme EN ISO/CEI 17025. En outre, les principes énoncés dans les directives techniques pour l'estimation de l'incertitude de mesure et les limites de quantification pour l'analyse des PCDD/PCDF et des PCB doivent être suivis lorsqu'ils sont applicables <sup>(1)</sup>.

## 8. Caractéristiques des performances: critères afférents à la somme des PCB autres que ceux de type dioxine à la teneur maximale

	Spectrométrie de masse par dilution isotopique (*)	Autres techniques
Justesse	De - 20 % à + 20 %	De - 30 % à + 30 %
Fidélité intermédiaire (RSD <sub>R</sub> )	≤ 15 %	≤ 20 %
Différence entre l'estimation supérieure et l'estimation inférieure	≤ 20 %	≤ 20 %

(\*) Les six analogues marqués au <sup>13</sup>C doivent être utilisés comme étalons internes.

## 9. Inscription des résultats dans un rapport

- Les résultats d'analyse comprennent les teneurs en congénères individuels des PCB autres que ceux de type dioxine et la somme des PCB autres que ceux de type dioxine, indiquées 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.

<sup>(1)</sup> «Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry» [lien vers site web], «Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food» [lien vers le site]

- 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 matrices de denrées alimentaires présentant des teneurs maximales exprimées 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 lorsque la teneur maximale est dépassée. Dans tous les autres cas, ils doivent être fournis sur demande.
  - L'incertitude de mesure élargie doit également être inscrite dans le rapport, car ce paramètre doit être 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  $x \pm U$ , 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 %.
  - Les résultats sont exprimés dans les mêmes unités et avec le même nombre de chiffres significatifs que les teneurs maximales figurant au règlement (CE) n° 1881/2006.
-