

DIRECTIVA 2002/70/CE DA COMISSÃO
de 26 de Julho de 2002
que estabelece os requisitos para a determinação dos níveis de dioxinas e de PCB sob a forma de
dioxina nos alimentos para animais
(Texto relevante para efeitos do EEE)

A COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Europeia,

Tendo em conta a Directiva 70/373/CEE do Conselho, de 20 de Julho de 1970, relativa à introdução de modos de colheita de amostras e de métodos de análise comunitários para o controlo oficial dos alimentos para animais ⁽¹⁾, com a última redacção que lhe foi dada pelo Acto de Adesão da Áustria, da Finlândia e da Suécia, e, nomeadamente, o seu artigo 2.º,

Considerando o seguinte:

- (1) A Directiva 1999/29/CE do Conselho, de 22 de Abril de 1999, relativa às substâncias e produtos indesejáveis nos alimentos para animais ⁽²⁾, com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 2001/102/CE ⁽³⁾, estabelece limites máximos para as dioxinas e os furanos em diversos alimentos para animais e matérias-primas para a alimentação animal.
- (2) É necessário estabelecer os requisitos que o método de análise deverá respeitar, por forma a garantir que os laboratórios utilizam métodos de análise com níveis de desempenho comparáveis.
- (3) As disposições relativas à amostragem e aos métodos de análise foram elaboradas com base nos conhecimentos actuais e podem ser adaptadas para ter em conta a evolução dos conhecimentos científicos e tecnológicos.
- (4) As disposições definidas na presente directiva referem-se exclusivamente à análise de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina com vista à aplicação da Directiva 2001/102/CE, que altera a Directiva 1999/29/CE relativa às substâncias e produtos indesejáveis nos alimentos para animais.
- (5) Dever-se-ia proceder a uma abordagem activa, a fim de se obterem dados fiáveis e completos sobre a presença de PCB sob a forma de dioxina em alimentos para animais e matérias-primas para a alimentação animal. Deviam, portanto, estabelecer-se requisitos respeitantes aos métodos de análise a utilizar na determinação de PCB sob a forma de dioxina em alimentos para animais e matérias-primas para a alimentação animal.
- (6) Para seleccionar as amostras com níveis significativos de dioxinas, poder-se-ia utilizar um método de análise de pré-selecção com validação provada e amplamente

aceitável e com rendimento elevado. Os níveis de dioxinas nestas amostras necessitam, depois, de ser determinados por um método de análise de confirmação. Considera-se, assim, adequado estabelecer requisitos para os métodos de análise de confirmação e para o método de pré-selecção.

- (7) As medidas previstas na presente directiva estão em conformidade com o parecer do Comité Permanente da Cadeia Alimentar e da Saúde Animal,

ADOPTOU A PRESENTE DIRECTIVA:

Artigo 1.º

Os Estados-Membros garantirão que a amostragem destinada ao controlo oficial dos níveis de dioxinas e furanos e à determinação dos níveis de PCB sob a forma de dioxina presentes nos alimentos para animais será realizada em conformidade com os métodos descritos no anexo I.

Artigo 2.º

Os Estados-Membros garantirão que a preparação das amostras e os métodos de análise utilizados no controlo oficial dos níveis de dioxinas e furanos e na determinação dos níveis de PCB sob a forma de dioxina presentes nos alimentos para animais respeitarão os critérios descritos no anexo II.

Artigo 3.º

Os Estados-Membros porão em vigor as disposições legislativas, regulamentares e administrativas necessárias para dar cumprimento à presente directiva, o mais tardar, até 28 de Fevereiro de 2003. Do facto informarão imediatamente a Comissão.

Sempre que os Estados-Membros adoptarem tais disposições, estas deverão incluir uma referência à presente directiva ou ser acompanhadas dessa referência aquando da sua publicação oficial. Os Estados-Membros deverão adoptar as modalidades dessa referência.

Artigo 4.º

A presente directiva entra em vigor no vigésimo dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*.

⁽¹⁾ JO L 170 de 3.8.1970, p. 2.

⁽²⁾ JO L 115 de 4.5.1999, p. 32.

⁽³⁾ JO L 6 de 10.1.2002, p. 45.

Artigo 5.º

Os Estados-Membros são os destinatários da presente directiva.

Feito em Bruxelas, em 26 de Julho de 2002.

Pela Comissão
David BYRNE
Membro da Comissão

ANEXO I

MÉTODOS DE AMOSTRAGEM DESTINADOS AO CONTROLO OFICIAL DOS NÍVEIS DE DIOXINAS (PCDD/PCDF) E À DETERMINAÇÃO DE PCB SOB A FORMA DE DIOXINA EM DETERMINADOS ALIMENTOS PARA ANIMAIS

1. Objectivo e âmbito de aplicação

As amostras destinadas ao controlo oficial dos níveis do teor em dioxinas (PCDD/PCDF), bem como para a determinação do teor em PCB sob a forma de dioxina ⁽¹⁾ em alimentos para animais serão colhidas em conformidade com o disposto na Directiva 76/371/CEE da Comissão, de 1 de Março de 1976, que fixa as formas de recolha comunitárias de amostras para o controlo oficial dos alimentos para animais ⁽²⁾. As amostras globais assim obtidas serão consideradas representativas dos lotes ou sublotes dos quais foram colhidas. A observância dos níveis máximos estabelecidos na Directiva 1999/29/CE será estabelecida em função dos níveis determinados nas amostras de laboratório.

2. Conformidade do lote ou do sublote com a especificação

O laboratório de controlo deve analisar em duplicado a amostra de laboratório para efeitos de medidas executórias, caso o resultado obtido na primeira análise seja inferior ou superior em menos de 20 % ao nível máximo, calculando a média dos resultados. O lote será aceite se o resultado da primeira análise for inferior em mais de 20 % ao nível máximo ou, quando a análise em duplicado for necessária, se a média estiver conforme ao nível máximo respectivo, tal como fixado na Directiva 1999/29/CE.

⁽¹⁾ Factores de equivalência de toxicidade da OMS para avaliação do risco para o ser humano nas conclusões da reunião da Organização Mundial de Saúde realizada em Estocolmo, Suécia, de 15 a 18 de Junho de 1997 (Van den Berg et e outros 1998). Factores de equivalência de toxicidade (FET) para PCB, PCDD e PCDF em seres humanos e fauna selvagem. *Environmental Health Perspectives*, 106(12), 775.

Congéneres	Valor FET	Congéneres	Valor FET
Dibenzo-p-dioxinas («PCDD»)		PCB «sob a forma de dioxina» PCB não-orto + PCB mono-orto	
2,3,7,8-TCDD	1	PCB não-orto	
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB 77	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 169	0,01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01		
OCDD	0,0001	PCB mono-orto	
Dibenzofuranos («PCDF»)		PCB 105	0,0001
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 114	0,0005
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 118	0,0001
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 123	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 189	0,0001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Abreviaturas utilizadas: T = tetra; Pe = penta; Hx = hexa; Hp = hepta; O = octo; CDD = Dibenzo-p-dioxinas cloradas; CDF = clorodibenzofurano; CB = clorobifenilo.

⁽²⁾ JO L 102 de 15.4.1976, p. 1.

ANEXO II

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA E REQUISITOS RESPEITANTES AOS MÉTODOS DE ANÁLISE UTILIZADOS NO CONTROLO OFICIAL DOS NÍVEIS DE DIOXINAS (PCDD/PCDF) E NA DETERMINAÇÃO DE PCB SOB A FORMA DE DIOXINA EM DETERMINADOS ALIMENTOS PARA ANIMAIS**1. Objectivo e âmbito de aplicação**

Estes requisitos devem ser aplicados quando se analisam alimentos para animais e matérias-primas destinadas à alimentação animal, tendo em vista a determinação das dioxinas [dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDD) e dibenzofuranos policlorados (PCDF)] e dos bifenilos policlorados (PCB) sob a forma de dioxina.

A monitorização da presença de dioxinas em alimentos para animais pode ser realizada mediante uma estratégia que engloba um método de pré-selecção, a fim de escolher as amostras com níveis de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina que sejam 30 a 40 % inferiores ao nível requerido ou o excedam. É necessário que a concentração de dioxinas nas amostras com níveis significativos seja determinada/confirmada por um método de confirmação.

Os métodos de pré-selecção são métodos utilizados na detecção da presença de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina no nível requerido. Estes métodos têm capacidade para processar um elevado número de amostras e são utilizados para seleccionar grandes números de amostras potencialmente positivas. São concebidos especificamente para evitar a obtenção de falsos negativos.

Os métodos de confirmação são métodos que fornecem informação completa ou complementar que permitem a identificação e quantificação inequívocas ao nível requerido de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina.

2. Antecedentes

Uma vez que as amostras ambientais e biológicas (incluindo as amostras de alimentos para animais/matérias-primas para a alimentação animal) contêm, regra geral, misturas complexas de diferentes congéneres de dioxinas, introduziu-se o conceito de factores de equivalência de toxicidade (FET) para facilitar a avaliação dos riscos. Estes FET foram estabelecidos para exprimir concentrações de misturas de PCDD e PCDF substituídos nas posições 2,3,7 e 8 e, mais recentemente, alguns PCB não-orto e mono-orto com substituição de cloro que possui uma actividade sob a forma de dioxina em equivalentes tóxicos (TEQ) de 2,3,7,8-TCDD (veja-se a nota 1 do anexo I).

As concentrações de cada substância numa determinada amostra são multiplicadas pelo respectivo FET e, subsequentemente, somadas para darem a concentração total de compostos sob a forma de dioxina expressa em TEQ.

O conceito de «limites máximos» exige a utilização do limite de quantificação para o contributo de cada congénere não quantificado para o TEQ.

O conceito de «limites mínimos» exige a utilização de zero para o contributo de cada congénere não quantificado para o TEQ.

O conceito de «limites médios» exige a utilização de metade do limite de quantificação para calcular o contributo de cada congénere não quantificado para o TEQ.

3. Requisitos de garantia da qualidade a cumprir na preparação da amostra

Aplicam-se as disposições gerais relativas à preparação de amostras para análise, tal como estabelecidas no anexo da Directiva 81/680/CEE da Comissão, de 30 de Julho de 1981, que altera as Directivas 71/250/CEE, 71/393/CEE, 72/199/CEE, 73/46/CEE, 74/203/CEE, 75/84/CEE, 76/372/CEE e 78/633/CEE que fixam os métodos de análise comunitários para o controlo oficial dos alimentos para animais⁽¹⁾.

Devem ainda ser cumpridos os seguintes requisitos:

- as amostras devem ser conservadas e transportadas em contentores de vidro, alumínio, polipropileno ou polietileno. Devem ser removidos do recipiente da amostra os vestígios de poeiras de papel. O material de vidro deve ser enxaguado com solventes previamente submetidos a um controlo destinado a detectar a presença de dioxinas,
- efectuar uma análise em branco através da realização de todo o procedimento analítico, omitindo apenas a amostra,
- o peso da amostra utilizado para extracção deve ser suficiente para respeitar os requisitos no tocante à sensibilidade.

4. Requisitos destinados aos laboratórios

- Os laboratórios deverão demonstrar o desempenho de um método na gama do nível requerido, por exemplo, 0,5x, 1x e 2x do nível requerido com um coeficiente de variação aceitável para análises repetidas. No que se refere aos critérios de aceitação, ver o ponto 5.
- O limite de quantificação de um método de confirmação deve situar-se na gama de cerca de um quinto do nível requerido, para garantir que são respeitados coeficientes de variações aceitáveis na gama do nível requerido.

⁽¹⁾ JO L 246 de 29.8.1981, p. 32.

- Os controlos regulares com ensaios em branco, com amostras enriquecidas ou análises de amostras de controlo (de preferência, se disponível, material de referência certificado) devem ser realizados como medidas internas de controlo de qualidade.
- O êxito da participação em estudos interlaboratoriais que avaliam a competência do laboratório é a melhor forma de provar competência em análises específicas. No entanto, o êxito da participação em estudos interlaboratoriais relativos, por exemplo, a amostras de solo ou de águas residuais não prova necessariamente que se seja competente no domínio das amostras de alimentos para o ser humano ou de alimentos para animais, que apresentam níveis de contaminação inferiores. Consequentemente, é obrigatória a participação constante em estudos interlaboratoriais respeitantes à determinação de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina nas matrizes relevantes de alimentos para animais/alimentos para o ser humano.
- Os laboratórios devem ser acreditados por um organismo reconhecido que opere em conformidade com o guia ISO 58, a fim de assegurar que aplicam a garantia de qualidade analítica. Os laboratórios devem ser acreditados através da norma ISO/IEC/17025:1999.

5. Requisitos para os procedimentos analíticos para determinação de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina

Requisitos básicos de aceitação dos procedimentos analíticos:

- *Sensibilidade elevada e limites de detecção baixos.* Para os PCDD e PCDF, as quantidades detectáveis devem ser da ordem dos picogramas TEQ (10^{-12} g) devido à extrema toxicidade de alguns destes compostos. Sabe-se que os PCB ocorrem a níveis mais elevados do que os PCDD e PCDF. Para bastantes congéneres de PCB, uma sensibilidade na gama dos nanogramas (10^{-9} g) já é suficiente. No entanto, para a medição dos congéneres de PCB sob a forma de dioxina mais tóxicos (designadamente, os congéneres não-orto substituídos), deve ser conseguida a mesma sensibilidade que para os PCDD e PCDF.
- *Selectividade elevada (especificidade).* É necessário estabelecer uma distinção entre PCDD, PCDF e PCB sob a forma de dioxina de inúmeros compostos co-extraídos e eventualmente interferentes, que estão presentes em concentrações que podem atingir várias ordens de grandeza superiores às dos analitos requeridos. Relativamente aos métodos de cromatografia gasosa/espectroscopia de massa (CG/EM), é necessária uma diferenciação entre vários congéneres, tal como entre isómeros tóxicos (por exemplo, os 17 PCDD e PCDF substituídos nas posições 2,3,7 e 8 e os PCB sob a forma de dioxina) e outros congéneres. Os bioensaios deviam ser capazes de determinar valores TEQ de forma selectiva como a soma de PCDD, PCDF e PCB sob a forma de dioxina.
- *Exactidão elevada (veracidade e precisão).* A determinação devia fornecer uma estimativa válida e fiável da verdadeira concentração numa amostra. É necessária uma exactidão elevada (exactidão da medição: a aproximação da concordância entre o resultado de uma medição e o valor verídico ou atribuído da medição) por forma a evitar a rejeição do resultado da análise de uma amostra com base na reduzida fiabilidade da estimativa de TEQ. A exactidão é expressa como rigor (diferença entre o valor médio medido para um analito num material certificado e o respectivo valor certificado, expresso em percentagem deste valor) e precisão (a precisão é normalmente calculada como um desvio-padrão, incluindo a repetibilidade e a reprodutibilidade, e indica a aproximação do acordo entre os resultados obtidos através da aplicação do procedimento experimental várias vezes sob condições prescritas).

Os métodos de pré-selecção podem comprometer os bioensaios e os métodos CG/EM; os métodos de confirmação são métodos de cromatografia gasosa de elevada resolução/espectroscopia de massa de elevada resolução (CGER/EMER). Têm de ser cumpridos os seguintes critérios no valor TEQ total:

	Métodos de pré-selecção	Métodos de confirmação
Taxa de falsos negativos	< 1 %	
Rigor		- 20 % a + 20 %
CV (coeficiente de variação)	< 30 %	< 15 %

6. Requisitos específicos dos métodos CG/EM a cumprir para fins de pré-selecção ou de confirmação

- Deve ser efectuada logo no início do método analítico, por exemplo antes da extracção, a adição de padrões internos de PCDD/F marcados com ^{13}C e substituídos com cloro nas posições 2,3,7 e 8 (e de padrão interno de PCB sob a forma de dioxina marcado com ^{13}C , caso seja necessário determinar PCB sob a forma de dioxina), a fim de validar o procedimento analítico. Deverá ser adicionado, pelo menos, um congénere para cada grupo homólogo de PCDD/F tetra a octo-clorados (e, pelo menos, um congénere para cada grupo homólogo de PCB sob a forma de dioxina, caso seja necessário determinar PCB sob a forma de dioxina) (alternativamente, deverá ser utilizado para o controlo de PCDD/F e de PCB sob a forma de dioxina, pelo menos, um congénere para cada função de registo de iões seleccionados pela espectrometria de massa). Verifica-se uma nítida preferência, no caso dos métodos de confirmação, pela utilização dos padrões internos dos 17 PCDD/F substituídos nas posições 2,3,7 e 8 e marcados com ^{13}C e dos padrões internos dos 12 PCB sob a forma de dioxina marcados com ^{13}C (caso seja necessário determinar PCB sob a forma de dioxina).

Também devem ser determinados factores de resposta relativos para os congéneres aos quais não se adiciona um composto análogo marcado com ^{13}C , através da utilização de soluções de calibração adequadas.

- Em relação aos alimentos para animais de origem vegetal e aos alimentos para animais de origem animal que contenham menos de 10 % de gorduras, a adição de padrões internos é obrigatória antes da extracção. Em relação aos alimentos para animais de origem animal que contenham mais de 10 % de gorduras, os padrões internos podem ser adicionados antes ou após a extracção de gorduras. Deve ser efectuada uma validação adequada da eficácia da extracção, dependendo da fase em que são introduzidos os padrões internos e de os resultados serem notificados com base no produto ou na gordura.
- Antes da análise por CG/EM, devem ser adicionados um ou dois padrões de recuperação (substitutos).
- É necessário um controlo de recuperação. Para os métodos de confirmação, as recuperações de cada padrão interno deverão situar-se na gama de 60 a 120 %. Seriam aceitáveis recuperações inferiores ou superiores para congéneres individuais, nomeadamente para algumas dibenzodioxinas e dibenzofuranos hepta- e octo-clorados, desde que a sua contribuição para o valor TEQ não excedesse 10 % do valor total de TEQ (com base apenas em PCDD/F). Para os métodos de pré-selecção, as recuperações deverão situar-se na gama de 30 a 140 %.
- Devia proceder-se à separação entre dioxinas e compostos clorados interferentes, tais como PCB e éteres difenólicos clorados através de técnicas de cromatografia adequadas (de preferência com uma coluna de florissil, alumina e/ou carbono).
- Devia ser suficiente a separação de isómeros por cromatografia gasosa (< 25 % de pico a pico entre 1,2,3,4,7,8-HxCDF e 1,2,3,6,7,8-HxCDF).
- A determinação devia ser realizada de acordo com o método EPA 1613, revisão B: dioxinas e furanos tetra- a octo-clorados por diluição de isótopos com CGER/EMER ou outro método com critérios de desempenho equivalentes.
- A diferença entre o nível superior e o nível inferior não deve exceder 20 % no caso de alimentos para animais com uma contaminação por dioxinas na gama ou acima do limite máximo. No tocante aos alimentos para animais com níveis de contaminação bastante inferiores ao limite máximo, a diferença pode situar-se na gama de 25 a 40 %.

7. Métodos de análise de pré-selecção

7.1. Introdução

Num método de pré-selecção podem utilizar-se diferentes abordagens analíticas: uma abordagem puramente de pré-selecção e uma abordagem quantitativa.

Abordagem de pré-selecção

A resposta das amostras é comparada com a de uma amostra de referência no nível requerido. As amostras com uma resposta inferior à da referência são declaradas negativas, as amostras com uma resposta superior são suspeitas de serem positivas. Requisitos:

- Em cada série de testes terão de se incluir uma amostra em branco e uma de referência, que são extraídas e testadas ao mesmo tempo e em condições idênticas. A amostra de referência deve apresentar uma resposta claramente elevada em comparação com a amostra em branco.
- Deviam incluir-se outras amostras de referência 0,5x e 2x o nível requerido para demonstrar o desempenho correcto do teste dentro da gama requerida para o controlo do nível requerido.
- Quando se testam outras matrizes, tem de se demonstrar a adequação das amostras de referência, preferencialmente incluindo amostras cuja CGER/EMER revelou conterem um nível TEQ próximo do da amostra de referência ou de uma amostra em branco enriquecida a este nível.
- Uma vez que não se podem utilizar padrões internos nos bioensaio, são muito importantes os testes de repetibilidade para se obter informações sobre o desvio-padrão numa série de testes. O coeficiente de variação deve ser inferior a 30 %.
- Para os bioensaio deverão ser definidos os compostos-alvos, as possíveis interferências e os níveis em branco máximos toleráveis.

Abordagem quantitativa

A abordagem quantitativa exige várias séries de diluições do padrão, purificação e medições em duplicado ou triplicado, bem como controlos em branco e de recuperação. O resultado pode ser expresso em TEQ, partindo-se assim do princípio de que os compostos responsáveis pelo sinal correspondiam ao princípio de TEQ. Para o obter, pode usar-se TCDD (ou uma mistura-padrão de dioxina/furano) para produzir uma curva de calibração a fim de calcular o nível de TEQ no extracto e, conseqüentemente, na amostra. Posteriormente, este resultado é corrigido com o nível de TEQ calculado para uma amostra em branco (para ter em conta as impurezas provenientes de solventes e produtos químicos utilizados) e para uma recuperação (calculada a partir do nível de TEQ numa amostra de controlo de qualidade próximo do limite requerido). É essencial referir que parte da perda de recuperação aparente pode dever-se a efeitos de matriz e/ou a diferenças entre os valores de TEF nos bioensaio e os valores oficiais de TEF fixados pela OMS.

7.2. Requisitos destinados a métodos de análise utilizados para a pré-selecção

- Na pré-selecção podem usar-se os métodos de análise e de bioensaio CG/EM. Para os métodos CG/EM deverão ser utilizados os requisitos descritos no ponto 6. Relativamente aos bioensaio com células, os requisitos específicos estão fixados no ponto 7.3 e, relativamente aos bioensaio com kits, no ponto 7.4

- É necessária informação sobre o número de falsos positivos e falsos negativos de um conjunto grande de amostras abaixo e acima do nível máximo ou do nível de acção, em comparação com o teor de TEQ conforme determinado por um método de análise de confirmação. As taxas efectivas de falsos negativos deverão ser inferiores a 1 %. A taxa de amostras com falsos positivos deve ser suficientemente baixa para se poder recorrer vantajosamente ao instrumento de pré-selecção.
- Os resultados positivos têm sempre de ser confirmados por um método de análise de confirmação (CGER/EMER). Além disso, deviam confirmar-se por CGER/EMER as amostras de uma ampla gama de TEQ (aproximadamente 2 a 10 % das amostras negativas). Deverá ser disponibilizada informação sobre a correspondência entre os resultados do bioensaio e os de CGER/EMER.

7.3. Requisitos específicos destinados a bioensaios com células

- Quando se procede a um bioensaio, cada teste exige uma série de concentrações de referência de TCDD ou de uma mistura de dioxina/furano (curva de dose-resposta completa com um $R^2 > 0,95$). No entanto, para efeitos de pré-selecção, pode usar-se uma curva expandida de baixo nível para analisar as amostras de baixo nível.
- Devia usar-se uma concentração de referência de TCDD (cerca de 3x o limite de quantificação) relativa a uma ficha de controlo de qualidade para o resultado do bioensaio durante um período de tempo constante. Como alternativa, podia utilizar-se a resposta relativa de uma amostra de referência por comparação com a recta de calibração de TCDD, uma vez que a resposta das células pode depender de muitos factores.
- Devem registar-se e verificar-se os gráficos de controlo de qualidade (CQ) para cada tipo de material de referência, a fim de garantir que o resultado está conforme com as directrizes definidas.
- Em especial para os cálculos quantitativos, a indução da diluição da amostra utilizada deve encontrar-se dentro da porção linear da curva de resposta. As amostras acima da porção linear da curva de resposta devem ser diluídas e testadas de novo. Assim, recomenda-se a realização simultânea de testes com, pelo menos, três ou mais diluições.
- O desvio-padrão percentual não deve ser superior a 15 % numa determinação em triplicado para cada diluição da amostra e não superior a 30 % entre três experiências independentes.
- O limite de detecção pode ser fixado como 3x o desvio-padrão da solução em branco de solvente ou da resposta de base. Outra abordagem consiste em aplicar uma resposta que seja superior à base (factor de indução 5x superior ao da solução em branco de solvente) calculada a partir da curva de calibração do dia. O limite de quantificação pode ser fixado como 5 a 6x o desvio-padrão da solução em branco de solvente ou da resposta de base ou aplicar uma resposta que seja nitidamente superior à base (factor de indução 10x superior ao da solução em branco de solvente) calculada a partir da curva de calibração do dia.

7.4. Requisitos específicos destinados a bioensaios com kits ⁽¹⁾

- Devem ser respeitadas as instruções do fabricante no que se refere à preparação da amostra e às análises.
- Não devem ser utilizados os kits depois do prazo de validade.
- Não devem ser utilizados materiais ou componentes concebidos para serem usados com outros kits.
- Os kits devem ser mantidos dentro da gama especificada para a temperatura de armazenamento e ser usados à temperatura de utilização especificada.
- O limite de detecção para os imunoensaios é determinado como a soma da média e de 3x o desvio-padrão, com base numa análise de replicação da solução em branco, a dividir pelo valor do declive da equação de regressão linear.
- Devem ser utilizados padrões de referência para testes no laboratório a fim de se garantir que a capacidade de resposta ao padrão se encontra numa gama aceitável.

8. Notificação do resultado

Na medida em que o procedimento analítico utilizado o permita, os resultados analíticos devem conter os níveis de PCDD/F individual e de congéneres PCB e serem indicados como limites mínimos, limites máximos e limites médios, a fim de incluir o máximo de informações possível na notificação dos resultados e, deste modo, permitir a interpretação dos resultados de acordo com requisitos específicos.

O relatório deverá também incluir o teor de lípidos da amostra bem como o método utilizado para a respectiva extracção.

As recuperações de cada padrão interno devem ser disponibilizadas no caso de as recuperações estarem fora da gama mencionada no ponto 6, no caso de o limite máximo ser excedido e noutros casos mediante pedido.

⁽¹⁾ Não foram ainda apresentadas quaisquer provas de kits comercialmente disponíveis com base em bioensaios suficientemente sensíveis e fidedignos para serem utilizados na pré-selecção da presença de dioxinas aos níveis exigidos em amostras de géneros alimentícios e de alimentos para animais.