

REGULAMENTUL (UE) NR. 589/2014 AL COMISIEI**din 2 iunie 2014****de stabilire a metodelor de prelevare de probe și a metodelor de analiză pentru controlul nivelurilor de dioxine, de PCB-uri de tipul dioxinelor și de PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor în anumite produse alimentare și de abrogare a Regulamentului (UE) nr. 252/2012****(Text cu relevanță pentru SEE)**

COMISIA EUROPEANĂ,

având în vedere Tratatul privind funcționarea Uniunii Europene,

având în vedere Regulamentul (CE) nr. 882/2004 al Parlamentului European și al Consiliului din 29 aprilie 2004 privind controalele oficiale efectuate pentru a asigura verificarea conformității cu legislația privind hrana pentru animale și produsele alimentare și cu normele de sănătate animală și de bunăstare a animalelor ⁽¹⁾, în special articolul 11 alineatul (4),

întrucât:

- (1) Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 ⁽²⁾ al Comisiei stabilește nivelurile maxime admisibile pentru PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor, dioxine și furani, precum și pentru cantitatea însumată de dioxine, furani și PCB-uri de tipul dioxinelor din anumite produse alimentare;
- (2) Recomandarea 2013/711/UE a Comisiei ⁽³⁾ stabilește niveluri de acțiune pentru a stimula o abordare proactivă în privința reducerii prezenței dibenzo-para-dioxinelor policlorurate și a dibenzofuranilor policlorurați (PCDD-uri, PCDF-uri) și a PCB-urilor de tipul dioxinelor în produsele alimentare. Respectivele niveluri de acțiune reprezintă un instrument aflat la dispoziția autorităților competente și a operatorilor economici pentru a evidenția acele cazuri în care este necesar să se identifice o sursă de contaminare și să se ia măsuri pentru reducerea sau eliminarea ei;
- (3) Regulamentul (UE) nr. 252/2012 al Comisiei din 21 martie 2012 ⁽⁴⁾ stabilește dispoziții specifice privind procedeele de prelevare de probe și metodele de analiză care trebuie aplicate în cadrul controlului oficial.
- (4) Dispozițiile din prezentul regulament se referă numai la prelevarea de probe și analizarea dioxinelor, a PCB-urilor de tipul dioxinelor și a PCB-urilor care nu sunt de tipul dioxinelor, în vederea punerii în aplicare a Regulamentului (CE) nr. 1881/2006 și a Recomandării 2013/711/UE. Aceste dispoziții nu privesc strategia de prelevare a probelor sau nivelul și frecvența de prelevare astfel cum sunt acestea specificate în anexele III și IV la Directiva Consiliului 96/23/CE ⁽⁵⁾. Aceste dispoziții nu privesc criteriile de prelevare stabilite în Decizia Comisiei 98/179/CE ⁽⁶⁾.
- (5) Se poate utiliza o metodă analitică de screening cu o valabilitate larg acceptată și cu un debit sporit pentru identificarea probelor cu niveluri semnificative de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor (de preferință selectând probe care depășesc nivelurile de acțiune și asigurând selectarea de probe care depășesc nivelurile maxime). Nivelurile de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din aceste probe trebuie să se determine printr-o metodă analitică de confirmare. Prin urmare, este necesar să se stabilească cerințe corespunzătoare pentru metoda de screening, care să asigure o rată de rezultate fals-conforme cu privire la nivelurile maxime mai mică de 5 %, precum și cerințe stricte pentru metodele analitice de confirmare. În plus, metodele de confirmare suficient de sensibile permit determinarea nivelurilor și în zona zgomotului de fond. Acest lucru este important pentru monitorizarea tendințelor în timp, pentru evaluarea expunerii și pentru reevaluarea nivelurilor maxime și de acțiune.
- (6) Pentru prelevarea de probe de la peștii foarte mari este necesar să se specifice procedura de prelevare astfel încât să se asigure o abordare armonizată la nivelul Uniunii.

⁽¹⁾ JO L 165, 30.4.2004, p. 1.

⁽²⁾ Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 al Comisiei din 19 decembrie 2006 de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare (JO L 364, 20.12.2006, p. 5).

⁽³⁾ Recomandarea 2013/711/UE a Comisiei din 3 decembrie 2013 privind reducerea prezenței dioxinelor, a furanilor și a PCB în alimente și în hrana pentru animale (JO L 323, 4.12.2013, p. 37).

⁽⁴⁾ Regulamentul (UE) nr. 252/2012 al Comisiei din 21 martie 2012 de stabilire a metodelor de prelevare de probe și a metodelor de analiză pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine, de PCB-uri de tipul dioxinelor și de PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor în anumite produse alimentare și de abrogare a Regulamentului (CE) nr. 1883/2006 (JO L 84, 23.3.2012, p. 1).

⁽⁵⁾ Directiva 96/23/CE a Consiliului din 29 aprilie 1996 privind măsurile de control care se aplică anumitor substanțe și reziduurilor acestora în animalele vii și în produsele obținute de la acestea și de abrogare a Directivelor 85/358/CEE și 86/469/CEE și a Deciziilor 89/187/CEE și 91/664/CEE (JO L 125, 23.5.1996, p. 10).

⁽⁶⁾ Decizia 98/179/CE a Comisiei din 23 februarie 1998 de stabilire a normelor detaliate privind prelevarea oficială de probe în vederea monitorizării anumitor substanțe și a reziduurilor acestora din animalele vii și produsele animale (JO L 65, 5.3.1998, p. 31).

- (7) În cazul peștilor care aparțin aceluiași specii și care provin din aceeași regiune, nivelul dioxinelor, al PCB-urilor de tipul dioxinelor și al PCB-urilor care nu sunt de tipul dioxinelor poate varia în funcție de mărimea și/sau de vârsta peștilor. Mai mult, nivelul dioxinelor, al PCB-urilor de tipul dioxinelor și al PCB-urilor care nu sunt de tipul dioxinelor nu este în mod necesar același în toate părțile peștelui. Prin urmare, este necesar ca prelevarea și pregătirea probei să fie definite pentru a se asigura o abordare armonizată în cadrul Uniunii.
- (8) Este important ca rezultatele analitice să fie raportate și interpretate într-un mod uniform, pentru a se asigura o abordare armonizată a punerii în aplicare a legislației relevante pe întreg teritoriul Uniunii.
- (9) În afară de gaz-cromatografia cuplată cu spectrometria de masă de înaltă rezoluție (GC-HRMS), progresele și evoluțiile tehnice au arătat că și gaz-cromatografia cuplată cu spectrometria de masă în tandem (GC-MS/MS) poate fi folosită ca metodă de confirmare pentru verificarea conformității cu nivelul maxim (ML). Prin urmare, Regulamentul (UE) nr. 252/2012 ar trebui înlocuit cu un nou regulament care să prevadă utilizarea gaz-cromatografiei cuplată cu spectrometria de masă în tandem (GC-MS/MS) ca metodă de confirmare adecvată pentru verificarea conformității cu nivelul maxim.
- (10) Măsurile prevăzute în prezentul regulament sunt conforme cu avizul Comitetului permanent pentru lanțul alimentar și sănătatea animală,

ADOPTĂ PREZENTUL REGULAMENT:

Articolul 1

În sensul prezentului regulament, se aplică definițiile și abrevierile menționate în anexa I.

Articolul 2

Prelevarea de probe pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine, furani, PCB-uri de tipul dioxinelor și PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor din produsele alimentare incluse în lista de la secțiunea 5 a anexei la Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 se efectuează în conformitate cu metodele menționate în anexa II la prezentul regulament.

Articolul 3

Pregătirea și analizarea probelor pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine, furani și PCB-uri de tipul dioxinelor din produsele alimentare incluse în lista de la secțiunea 5 a anexei la Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 se efectuează în conformitate cu metodele menționate în anexa III la prezentul regulament.

Articolul 4

Analizarea probelor pentru controlul oficial al nivelurilor de PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor din produsele alimentare incluse în lista de la secțiunea 5 a anexei la Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 se efectuează în conformitate cu cerințele pentru metodele analitice menționate în anexa IV la prezentul regulament.

Articolul 5

Regulamentul (UE) nr. 252/2012 se abrogă.

Trimiterile la regulamentul abrogat se interpretează ca trimiteri la prezentul regulament.

Articolul 6

Prezentul regulament intră în vigoare în a douăzecea zi de la data publicării în *Jurnalul Oficial al Uniunii Europene*.

Prezentul regulament este obligatoriu în toate elementele sale și se aplică direct în toate statele membre.

Adoptat la Bruxelles, 2 iunie 2014.

Pentru Comisie
Președintele
José Manuel BARROSO

ANEXA I

DEFINIȚII ȘI ABREVIERI

I. DEFINIȚII

În sensul prezentului regulament, se aplică definițiile menționate în anexa I la Decizia 2002/657/CE a Comisiei ⁽¹⁾.

În plus față de aceste definiții, în sensul prezentului regulament se aplică următoarele definiții:

- 1.1. „nivelul de acțiune” este nivelul unei anumite substanțe, astfel cum este menționat în anexa la Recomandarea 2013/711/UE, care declanșează investigații pentru a identifica sursa respectivei substanțe în cazurile în care sunt detectate niveluri crescute ale substanței;
- 1.2. „metodele de screening” sunt metodele utilizate la selectarea acelor probe cu niveluri de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor care depășesc nivelurile maxime sau nivelurile de acțiune. Aceste metode au o capacitate mare de tratare a probelor, eficientă din punctul de vedere al costurilor, sporind astfel șansa de a descoperi noi circumstanțe care prezintă un grad mare de expunere și riscuri de sănătate pentru consumatori. Metodele de screening se bazează pe metode bioanalitice sau GC-MS. Rezultatele probelor care depășesc valoarea de prag pentru verificarea conformității cu nivelul maxim trebuie să fie verificate printr-o nouă analiză completă din proba originală printr-o metodă de confirmare;
- 1.3. „metodele de confirmare” sunt metode care furnizează informații complete sau complementare care permit identificarea și cuantificarea certă a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor la nivelul maxim sau, la nevoie, la nivelul de acțiune. Astfel de metode utilizează gaz-cromatografia/spectrometria de masă de înaltă rezoluție (GC-HRMS) sau gaz-cromatografia/spectrometria de masă în tandem (GC-MS/MS);
- 1.4. „metodele bioanalitice” sunt metode bazate pe principii biologice, cum ar fi testele bazate pe celule, testele bazate pe receptori sau imunotestele. Ele nu dau rezultate la nivel de congener, ci oferă doar o indicație (?) cu privire la nivelul TEQ, exprimat în echivalente bioanalitice (BEQ), care pune în vedere că este posibil ca nu toți compușii prezenți într-un extract de probă și care determină un răspuns în cadrul testului să îndeplinească toate cerințele principiului TEQ;
- 1.5. „recuperarea aparentă a testului biologic” este valoarea nivelului BEQ, calculată pornind de la curba de calibrare a TCDD sau PCB 126, corectată cu proba martor și apoi împărțită la valoarea nivelului TEQ, determinată prin metoda de confirmare. Acest indicator vizează corectarea factorilor cum ar fi pierderea de PCDD/F-uri și de compuși de tipul dioxinelor în timpul etapelor de extracție și curățare, coextragerea compușilor care duc la intensificarea sau atenuarea răspunsului (efecte agoniste și antagoniste), calitatea ajustării curbei sau diferențele dintre valorile TEF și ale REP. Recuperarea aparentă a biotestului se calculează pornind de la probe de referință adecvate cu modele de congeneri reprezentativi în jurul nivelului maxim sau al celui de acțiune;
- 1.6. „metodele semicantitative” sunt metode care dau o indicație aproximativă a concentrației de analit prezumtiv, fără ca rezultatul numeric să îndeplinească cerințele pentru metode cantitative;
- 1.7. „limita specifică acceptată de cuantificare a unui congener individual într-o probă” este concentrația minimă a unui analit care poate fi măsurată cu certitudine statistică rezonabilă și îndeplinește criteriile de identificare, astfel cum sunt descrise în standarde recunoscute pe plan internațional, de exemplu EN 16215:2012 (Hrană pentru animale — Determinarea dioxinelor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor prin GC-HRMS și a PCB-urilor indicatori prin GC-HRMS) și/sau în metodele EPA 1613 și 1668 revizuite.

Limita de cuantificare a unui congener individual poate fi definită ca:

- (a) concentrația de analit în extractul unei probe care produce un răspuns instrumental la doi ioni diferiți care urmează să fie controlați cu un raport S/Z (semnal/zgomot) de 3:1 pentru semnalul mai puțin intens;
sau, în cazul în care calcularea raportului semnal/zgomot nu furnizează rezultate fiabile din motive tehnice,
- (b) punctul corespunzător celei mai scăzute concentrații pe o curbă de calibrare care prezintă o deviere acceptabilă ($\leq 30\%$) și coerentă (măsurată cel puțin la începutul și la sfârșitul unei serii de probe) de la media factorului de răspuns relativ pentru toate punctele de pe curba de etalonare, în fiecare serie de probe ⁽²⁾;

⁽¹⁾ Decizia 2002/657/CE a Comisiei din 14 august 2002 de stabilire a normelor de aplicare a Directivei 96/23/CE a Consiliului privind funcționarea metodelor de analiză și interpretarea rezultatelor (JO L 221, 17.8.2002, p. 8).

⁽²⁾ Metodele bioanalitice nu sunt specifice pentru congenerii incluși în schema TEF. În extractul de probă pot fi prezenți alți compuși AhR activi înrudiți structural care să contribuie la răspunsul global. Prin urmare, rezultatele bioanalitice nu pot fi o estimare, ci mai degrabă un indiciu al nivelului TEQ din probă.

⁽³⁾ Limita de cuantificare se calculează de la punctul corespunzător celei mai scăzute concentrații ținând seama de gradul de recuperare a etaloanelor interne și a probei.

- 1.8. „estimarea superioară” este conceptul care presupune utilizarea limitei de cuantificare pentru contribuția fiecărui congener necuantificat;
- 1.9. „estimare inferioară” este conceptul care presupune utilizarea valorii zero pentru contribuția fiecărui congener necuantificat;
- 1.10. „estimarea mediană” este conceptul care presupune ca, la calculul contribuției fiecărui congener necuantificat, să se utilizeze jumătate din limita de cuantificare;
- 1.11. „lotul” este o cantitate identificabilă de produse alimentare, livrată odată, pentru care funcționarul stabilește că au caracteristici comune cum ar fi originea, varietatea, tipul de ambalaj, ambalatorul, expeditorul sau marcajele. În cazul peștilor și al produselor pescărești, mărimea peștilor trebuie să fie, de asemenea, comparabilă. În cazul în care mărimea și/sau greutatea peștilor nu sunt comparabile în cadrul unui transport, acesta poate să fie totuși luat în considerare ca fiind un lot, însă trebuie să i se aplice o procedură specifică de prelevare de probe;
- 1.12. „sublotul” este o parte dintr-un lot mare, definită cu scopul de a aplica metoda de prelevare a probelor respectivei părți. Fiecare sublot trebuie să fie separat fizic și identificabil;
- 1.13. „proba elementară” este o cantitate de material prelevată dintr-un singur loc al lotului sau sublotului;
- 1.14. „probă agregată” este proba rezultată prin combinarea tuturor probelor elementare prelevate dintr-un lot sau sublot;
- 1.15. „proba de laborator” este o parte/cantitate reprezentativă din proba agregată, destinată analizei în laborator.

II. ABREVIERI UTILIZATE

BEQ	Echivalente bioanalitice
GC	Gaz-cromatografie, Cromatografie în fază gazoasă
HRMS	Spectrometrie de masă de înaltă rezoluție
LRMS	Spectrometrie de masă de joasă rezoluție
MS/MS	Spectrometrie de masă în tandem
PCB	Bifenili policlorurați
PCDD	Dibenzo-p-dioxine policlorurate
PCDF	Dibenzofurani policlorurați
QC	Controlul calității
REP	Potență relativă
TEF	Factor de echivalență toxică
TEQ	Echivalente toxice
TCDD	Tetraclordibenzodioxină
U	Incertitudine de măsurare extinsă

ANEXA II

METODE DE PRELEVARE A PROBELOR PENTRU CONTROLUL OFICIAL AL NIVELURILOR DE DIOXINE (PCDD/F), DE PCB-URI DE TIPUL DIOXINELOR ȘI DE PCB-URI CARE NU SUNT DE TIPUL DIOXINELOR DIN ANUMITE PRODUSE ALIMENTARE

I. DOMENIUL DE COMPETENȚĂ

Probele destinate controlului oficial al nivelurilor de dioxine (PCDD/F), PCB-uri de tipul dioxinelor și PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor, denumite în continuare „dioxine” și „PCB-uri”, din produsele alimentare se prelevează în conformitate cu metodele descrise în prezenta anexă. Probele agregate astfel obținute se consideră reprezentative pentru loturile sau subloturile din care sunt prelevate. Conformarea la nivelurile maxime prevăzute în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 al Comisiei de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare se stabilește pe baza nivelurilor determinate în probele de laborator.

II. DISPOZIȚII GENERALE

1. Personal

Prelevarea de probe este efectuată de către o persoană autorizată, desemnată de statul membru.

2. Materialul din care se prelevează probe

Probele se prelevează separat din fiecare lot sau sublot care urmează să fie examinat.

3. Precauții

În timpul prelevării și pregătirii probelor se iau măsuri de precauție pentru a se evita orice modificări care ar putea afecta conținutul de dioxine și de PCB-uri, ar putea afecta în mod negativ determinarea analitică sau ar face ca probele agregate să fie nereprezentative.

4. Probe elementare

Pe cât posibil, probele elementare sunt prelevate din locuri diferite, distribuite în întregul lot sau sublot. Abaterea de la această procedură se înregistrează în procesul-verbal menționat la punctul II.8 din prezenta anexă.

5. Pregătirea probei agregate

Proba agregată se obține prin combinarea probelor elementare. Proba va avea cel puțin 1 kg, cu excepția cazurilor în care nu este practicabil, de exemplu, în cazul în care s-au prelevat probe dintr-un singur pachet sau în cazul în care produsul are o valoare comercială foarte mare.

6. Probe duplicat

Probele duplicat utilizate în scopul controlului, contestării și arbitrajului se prelevează din proba agregată omogenizată, cu excepția cazului în care această procedură este contrară reglementărilor statelor membre privind drepturile operatorilor din sectorul alimentar. Mărimea probelor de laborator destinate controlului trebuie să fie suficientă pentru a permite cel puțin efectuarea de analize duplicat.

7. Ambalarea și transportul probelor

Fiecare probă se introduce într-un recipient curat, dintr-un material inert, care oferă protecție corespunzătoare împotriva contaminării, a pierderilor de analiți prin adsorbție în peretele intern al recipientului și împotriva deteriorării în timpul transportului. Se iau toate măsurile de precauție necesare pentru a se evita orice modificare a compoziției probei, care ar putea să apară în timpul transportului sau al depozitării.

8. Sigilarea și etichetarea probelor

Fiecare probă prelevată pentru utilizare oficială se sigilează la locul prelevării și se etichetează în conformitate cu normele statelor membre.

Pentru fiecare prelevare de probe se întocmește un proces-verbal care să permită identificarea neechivocă a fiecărui lot și care să conțină data și locul prelevării, precum și orice informații suplimentare care ar putea să fie de ajutor analistului.

III. PLANUL DE PRELEVARE A PROBELOR

Metoda de prelevare a probelor aplicată trebuie să asigure reprezentativitatea probei agregate pentru (sub)lotul de controlat.

1. Împărțirea loturilor în subloturi

Loturile mari se împart în subloturi, cu condiția ca sublotul să poată fi separat fizic. Pentru produsele comercializate în transporturi vrac mari (de exemplu, uleiurile vegetale) se aplică valorile din tabelul 1. Pentru alte produse, se aplică valorile din tabelul 2. Având în vedere faptul că greutatea unui lot nu este întotdeauna un multiplu exact al greutății subloturilor, greutatea sublotului poate depăși greutatea menționată cu maximum 20 %.

Tabelul 1

Împărțirea loturilor în subloturi pentru produsele comercializate în transporturi vrac

Greutatea lotului (în tone)	Greutatea sau numărul de subloturi
≥ 1 500	500 de tone
> 300 și < 1 500	3 subloturi
≥ 50 și ≤ 300	100 de tone
< 50	—

Tabelul 2

Împărțirea loturilor în subloturi pentru alte produse

Greutatea lotului (în tone)	Greutatea sau numărul de subloturi
≥ 15	15-30 de tone
< 15	—

2. Numărul de probe elementare

Proba agregată care reunește toate probele elementare cântărește cel puțin 1 kg (a se vedea punctul II.5 din prezenta anexă).

Numărul minim de probe elementare care sunt prelevate din lot sau din sublot este cel indicat în tabelele 3 și 4.

În cazul produselor lichide în vrac, lotul sau sublotul este amestecat temeinic, pe cât posibil și astfel încât să nu afecteze calitatea produsului, prin mijloace mecanice sau manuale, imediat înainte de prelevarea probelor. În acest caz, se presupune că se realizează o repartizare omogenă a contaminanților dintr-un anumit lot sau sublot. Prin urmare, este suficientă prelevarea a trei probe elementare dintr-un lot sau sublot pentru a constitui proba agregată.

Probele elementare trebuie să aibă o greutate asemănătoare. Greutatea unei probe elementare trebuie să fie de cel puțin 100 de grame.

Abaterea de la această procedură se înregistrează în procesul-verbal menționat la punctul II.8 din prezenta anexă. În conformitate cu dispozițiile Deciziei 97/747/CE a Comisiei de stabilire a nivelurilor și frecvențelor prelevării de probe prevăzute de Directiva 96/23/CE a Consiliului pentru monitorizarea anumitor substanțe și a reziduurilor acestora existente în anumite produse animaliere, mărimea probei agregate pentru ouăle de găină este de cel puțin 12 ouă (pentru loturile în vrac și pentru loturile alcătuite din pachete individuale se aplică valorile din tabelele 3 și 4).

Tabelul 3

Numărul minim de probe elementare de prelevat din lot sau sublot

Greutatea sau volumul lotului/sublotului (în kg sau litri)	Numărul minim de probe elementare de prelevat
< 50	3
între 50 și 500	5
> 500	10

Dacă lotul sau sublotul constă în pachete sau unități individuale, numărul de ambalaje sau unități de prelevat pentru a forma o probă agregată este menționat în tabelul 4.

Tabelul 4

Numărul de ambalaje sau unități (probe elementare) de prelevat pentru a constitui proba agregată în cazul în care lotul sau subplotul este format din ambalaje sau unități individuale

Numărul de pachete sau unități din lot/sublot	Numărul de pachete sau unități de prelevat
1-25	cel puțin 1 ambalaj sau 1 unitate
26-100	aproximativ 5 %, cel puțin 2 ambalaje sau unități
> 100	aproximativ 5 %, maximum 10 ambalaje sau unități

3. Dispoziții specifice pentru prelevarea de probe din loturi care conțin pești întregi cu mărimi și greutate comparabile

Se consideră că peștii au mărimi și greutate comparabile în cazul în care diferența de mărime și greutate nu depășește aproximativ 50 %.

Numărul de probe elementare de prelevat din lot este menționat în tabelul 3. Proba agregată care reunește toate probele elementare trebuie să fie de cel puțin 1 kg (a se vedea punctul II.5).

- În cazul în care lotul din care se prelevează probe conține pești mici (pești individuali care cântăresc mai puțin de aproximativ 1 kg), aceștia se prelevează întregi ca probe elementare pentru a constitui proba agregată. În cazul în care proba agregată care rezultă cântărește mai mult de 3 kg, probele elementare pot consta în partea de mijloc, cântărind fiecare cel puțin 100 de grame, a peștilor care formează proba agregată. Pentru omogenizarea probei se utilizează întreaga parte căreia îi este aplicabil nivelul maxim.

Partea din mijloc a peștelui este cea unde se află centrul de greutate. Acesta este localizat, în cele mai multe cazuri, la nivelul aripioarei dorsale (în cazul în care peștele are aripioară dorsală) sau la mijlocul distanței dintre deschiderea branhială și anus.

- În cazul în care lotul din care se prelevează probe conține pești mai mari (fiecare cântărind mai mult de aproximativ 1 kg), proba elementară este reprezentată de partea din mijloc a peștelui. Fiecare probă elementară cântărește cel puțin 100 de grame.

În cazul peștilor de mărime intermediară (aproximativ 1-6 kg), proba elementară constă într-o bucată prelevată în secțiune transversală între coloana vertebrală și abdomen, în partea din mijloc a peștelui.

Pentru peștii foarte mari (de exemplu > aproximativ 6 kg), proba elementară este prelevată din masa musculară dorso-laterală de pe partea dreaptă (vedere frontală), de la mijlocul peștelui. În cazul în care prelevarea unei asemenea bucăți din partea de mijloc a peștelui ar însemna un prejudiciu economic semnificativ, prelevarea a trei probe elementare a câte cel puțin 350 de grame fiecare poate fi considerată ca fiind suficientă, indiferent de dimensiunea lotului, sau, alternativ, pot fi prelevate câte o parte egală din masa musculară din apropierea cozii și din cea din apropierea capului pentru a forma împreună proba elementară reprezentativă pentru nivelul de dioxine din peștele întreg.

4. Prelevarea de probe din loturile de pește care conțin pești întregi de mărimi și/sau greutate diferite

- În ceea ce privește constituirea probei, se aplică dispozițiile de la punctul III.3.
- În cazul în care predomină o clasă/categorie de mărime sau greutate (aproximativ 80 % sau mai mult din lot), proba se prelevează de la peștii cu mărime sau greutate predominantă. Această probă se consideră reprezentativă pentru întregul lot.
- În cazul în care nu predomină o anumită clasă/categorie de mărime sau de greutate, trebuie să se asigure faptul că peștii selectați în vederea prelevării de probe sunt reprezentativi pentru lot. Instrucțiunile specifice pentru astfel de cazuri sunt puse la dispoziție în documentul „Ghid de prelevare de probe din pești întregi de mărimi și/sau greutate diferită” ⁽¹⁾.

5. Prelevarea probelor în etapa comerțului cu amănuntul

Prelevarea de probe din produsele alimentare în etapa de vânzare cu amănuntul se efectuează, în măsura posibilului, în conformitate cu dispozițiile referitoare la prelevarea de probe menționate la punctul III.2 din prezenta anexă.

⁽¹⁾ http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/dioxins_en.htm

Dacă nu este posibil, se poate utiliza o metodă alternativă de prelevare a probelor în etapa de vânzare cu amănuntul, cu condiția să se asigure o reprezentativitate suficientă a lotului sau sublotului din care se prelevează probele.

IV. CONFORMITATEA LOTULUI SAU SUBLOTULUI CU SPECIFICAȚIILE

1. În ceea ce privește PCB-urile care nu sunt de tipul dioxinelor

Lotul este acceptat dacă rezultatul analitic nu depășește nivelul maxim de PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor menționat în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006, ținând seama de incertitudinea de măsurare.

Lotul nu este conform cu nivelul maxim menționat în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 în cazul în care rezultatul analitic pe baza estimării superioare, confirmat printr-o analiză duplicat (*), depășește dincolo de orice îndoială nivelul maxim, ținând seama de incertitudinea de măsurare. Pentru verificarea conformității se utilizează media celor două rezultate, ținând seama de incertitudinea de măsurare.

Incetitudinea de măsurare se poate lua în considerare în conformitate cu una dintre următoarele abordări:

- calculându-se incertitudinea extinsă cu ajutorul unui coeficient de acoperire cu valoarea 2, care conferă un nivel de încredere de aproximativ 95 %. Un lot sau un sublot nu este conform în cazul în care valoarea măsurată minus U depășește nivelul permis stabilit;
- stabilind limita de decizie (CCa) în conformitate cu dispozițiile Deciziei 2002/657/CE (punctul 3.1.2.5 din anexa I la decizia respectivă — cazul substanțelor pentru care este stabilită o limită permisă). Un lot sau un sublot nu este conform în cazul în care valoarea măsurată este egală cu sau mai mare decât CCa.

Normele menționate mai sus se aplică pentru rezultatul analitic obținut pe proba care face obiectul controlului oficial. În cazul analizei realizate în scopuri de contestație sau de arbitraj, se aplică normele naționale.

2. În ceea ce privește dioxinele (PCDD/F) și PCB-urile de tipul dioxinelor

Lotul este acceptat dacă rezultatul unei singure analize:

- efectuate printr-o metodă de screening cu o rată de rezultate fals conforme sub 5 % arată că nivelul nu depășește nivelul maxim respectiv de PCDD/F-uri și suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, astfel cum sunt menționate în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006;
- efectuate printr-o metodă de confirmare nu depășește nivelul maxim respectiv de PCDD/F-uri și suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, astfel cum sunt menționate în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006, ținând seama de incertitudinea de măsurare.

Pentru testele de screening, se stabilește o valoare de prag aplicabilă în decizia asupra conformității cu nivelurile maxime respective stabilite fie pentru PCDD/F-uri, fie pentru suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor.

Lotul este neconform cu nivelul maxim stabilit prin Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 în cazul în care rezultatul analitic pe baza estimării superioare obținut printr-o metodă de confirmare și confirmat printr-o analiză duplicat (**), depășește dincolo de orice îndoială nivelul maxim, ținând seama de incertitudinea de măsurare. Pentru verificarea conformității se utilizează media celor două rezultate, ținând seama de incertitudinea de măsurare.

Incetitudinea de măsurare se poate lua în considerare în conformitate cu una dintre următoarele abordări:

- calculându-se incertitudinea extinsă cu ajutorul unui coeficient de acoperire cu valoarea 2, care conferă un nivel de încredere de aproximativ 95 %. Un lot sau un sublot nu este conform în cazul în care valoarea măsurată minus U depășește nivelul permis stabilit. În cazul unei determinări separate a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor, suma incertitudinilor extinse estimate a rezultatelor analitice separate ale PCDD/F-urilor și PCB-urilor de tipul dioxinelor trebuie utilizată pentru incertitudinea extinsă estimată a sumei dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor;
- stabilindu-se limita de decizie (CCa) în conformitate cu dispozițiile Deciziei 2002/657/CE (punctul 3.1.2.5 din anexa I la decizia respectivă — cazul substanțelor pentru care este stabilită o limită permisă), un lot sau un sublot nu este conform în cazul în care valoarea măsurată este egală cu sau mai mare decât CCa.

Normele menționate mai sus se aplică pentru rezultatul analitic obținut pe proba care face obiectul controlului oficial. În cazul analizei realizate în scopuri de contestație sau de arbitraj, se aplică normele naționale.

(*) Analiza duplicat este necesară dacă rezultatul primei determinări realizate aplicând metodele de confirmare, cu utilizarea etalonului intern marcat cu ¹³C pentru analiții relevanți, nu este conform. Analiza duplicat este necesară pentru a exclude posibilitatea contaminării încrucișate interne sau a încercării accidentale a probelor. În cazul în care analiza este efectuată în contextul unui episod de contaminare, se poate omite confirmarea prin analiză duplicat în cazul în care probele selecționate pentru analiză sunt asociate, prin trasabilitate, cu episodul de contaminare și nivelul constatat depășește semnificativ nivelul maxim.

(**) Explicațiile și cerințele privind analiza duplicat în vederea verificării nivelurilor de acțiune sunt identice cu cele de la nota de subsol 2 privind nivelurile maxime.

V. DEPĂȘIREA NIVELURILOR DE ACȚIUNE

Nivelurile de acțiune servesc ca instrument pentru selectarea probelor în cazurile în care este necesar să se identifice o sursă de contaminare și să se ia măsuri pentru reducerea sau eliminarea acesteia. Metodele de screening stabilesc valori de prag corespunzătoare pentru selectarea acestor probe. În cazul în care sunt necesare eforturi semnificative pentru a identifica o sursă și a reduce sau elimina contaminarea, ar putea fi indicat ca depășirea nivelului de acțiune să fie confirmată printr-o analiză duplicat utilizând o metodă de confirmare și ținând seama de incertitudinea de măsurare (**).

ANEXA III

PREGĂTIREA PROBELOR ȘI CERINȚE PRIVIND METODELE DE ANALIZĂ UTILIZATE ÎN CADRUL CONTROLULUI NIVELURILOR DE DIOXINE (PCDD/PCDF) ȘI DE PCB-URI DE TIPUL DIOXINELOR DIN ANUMITE PRODUSE ALIMENTARE

1. DOMENIUL DE APLICARE

Cerințele stabilite în prezenta anexă se aplică atunci când produsele alimentare sunt analizate în cadrul controlului oficial al nivelurilor de dibenzo-p-dioxine policlorurate 2,3,7,8-substituite și dibenzofurani policlorurați (PCDD/F-uri) și bifenili policlorurați (PCB-uri) de tipul dioxinelor, precum și în alte scopuri de reglementare.

Monitorizarea prezenței PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor în produsele alimentare poate fi efectuată cu două tipuri diferite de metode de analiză:

(a) **Metode de screening**

Obiectivul metodelor de screening este selectarea acelor probe în care nivelurile de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor depășesc nivelurile maxime sau nivelurile de acțiune. Aceste metode ar trebui să aibă o capacitate mare de tratare a probelor, eficientă din punctul de vedere al costurilor, sporind astfel șansa de a descoperi noi circumstanțe care prezintă un grad mare de expunere și riscuri de sănătate pentru consumatori. Aplicarea lor ar trebui să urmărească evitarea rezultatelor false-conforme. Ele pot să cuprindă metode bioanalitice și metode GC-MS.

Metodele de screening compară rezultatul analizei cu o valoare de prag, determinând o decizie de tip da/nu cu privire la eventuala depășire a nivelului maxim sau a nivelului de acțiune. Concentrația de PCDD/F-uri și suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din probele suspectate de neconformitate cu nivelul maxim trebuie determinată/confirmată printr-o metodă de confirmare.

În plus, metodele de screening pot oferi o indicație a nivelului de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor prezente în probă. În cazul aplicării unor metode de screening bioanalitice, rezultatul este exprimat ca echivalente bioanalitice (BEQ), în timp ce în cazul aplicării metodelor fizico-chimice GC-MS, acesta este exprimat ca echivalente toxice (TEQ). Rezultatele exprimate numeric ale metodelor de screening sunt utile pentru a dovedi conformitatea sau suspiciunea de neconformitate sau depășirea nivelurilor de acțiune și oferă o indicație a intervalului în care se situează concentrațiile în vederea monitorizării prin metode de confirmare. Acestea nu sunt adecvate pentru scopuri precum evaluarea nivelurilor de fond, aprecierea gradului de expunere, urmărirea tendințelor pe care le urmează concentrațiile în timp sau reevaluarea nivelurilor maxime și a celor de acțiune.

(b) **Metode de confirmare**

Metodele de confirmare permit identificarea și cuantificarea fără echivoc a PCDD/F-urilor și PCB-urilor de tipul dioxinelor prezente într-o probă și oferă informații depline pentru fiecare congener. Prin urmare, aceste metode permit controlarea nivelurilor maxime și a nivelurilor de acțiune, inclusiv confirmarea rezultatelor obținute prin metodele de screening. În plus, rezultatele pot fi folosite și pentru alte scopuri, precum determinarea concentrațiilor în zona zgomotului de fond, monitorizarea tendințelor în timp, evaluarea expunerii populației și crearea unei baze de date pentru eventuala reevaluare a nivelurilor de acțiune și a nivelurilor maxime. Ele sunt, de asemenea, importante pentru stabilirea recurenței apariției anumitor congenere în scopul de a identifica sursa unei posibile contaminări. Astfel de metode fac uz de GC-HRMS. Pentru confirmarea conformității sau a neconformității cu nivelurile maxime poate fi folosită și GC-MS/MS.

2. CONTEXT

Pentru calcularea concentrațiilor de echivalente toxice (TEQ), concentrațiile substanțelor individuale dintr-o probă dată se înmulțesc cu factorul de echivalență toxică (TEF) corespunzător, astfel cum s-a stabilit de către Organizația Mondială a Sănătății și cum sunt enumerate în apendicele la prezenta anexă, și apoi acestea se însușează pentru a obține concentrația totală de compuși de tipul dioxinelor exprimată ca TEQ-uri.

Metodele de screening și de confirmare pot fi aplicate pentru controlul unei anumite matrice numai dacă metodele sunt suficient de sensibile pentru a detecta în mod fiabil niveluri în zona nivelului de acțiune sau maxim.

3. CERINȚE DE ASIGURARE A CALITĂȚII

- Trebuie luate măsuri pentru a se evita contaminarea încrucișată în fiecare etapă a procedurii de prelevare de probe și de analizare.
- Probele trebuie depozitate și transportate în recipiente de sticlă, aluminiu, polipropilenă sau polietilenă, corespunzătoare pentru depozitare, fără nicio influență asupra nivelurilor de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din probe. Urmele de praf de hârtie trebuie îndepărtate de pe recipientul cu probe.

- Depozitarea și transportul probelor trebuie efectuate astfel încât să se păstreze integritatea probei de produs alimentar.
- În măsura în care este relevant, fiecare probă de laborator se macină fin și se amestecă temeinic printr-un procedeu dovedit că realizează o omogenizare completă (de exemplu, proba este măcinată fin astfel încât să treacă printr-o sită cu ochiuri de 1 mm); probele trebuie uscate înainte de măcinare, în cazul în care conținutul de umiditate este prea mare.
- Controlul reactivilor, al sticlăriei și al echipamentului în vederea detectării unei posibile influențe a rezultatelor bazate pe TEQ sau BEQ sunt de importanță generală.
- Se efectuează o analiză martor parcurgând întreaga procedură analitică, însă fără probă.
- Pentru metodele bioanalitice, este de mare importanță ca toată sticlăria și toți solvenții utilizați în cadrul analizei să fie testați, pentru a nu conține compuși care interferează cu detectarea compușilor-țintă în intervalul de lucru. Sticlăria se clătește cu solvenți sau/și se încălzește la temperaturi adecvate pentru a elimina urmele de PCDD/F-uri, de compuși de tipul dioxinelor și de compuși interferenți de pe suprafața acesteia.
- Cantitatea de probă utilizată pentru extracție trebuie să fie suficientă pentru a îndeplini cerințele referitoare la un interval de lucru într-o gamă de concentrații suficient de mici și care include concentrațiile la nivelurile maxime sau de acțiune.
- Procedurile specifice de pregătire a probelor utilizate pentru produsele avute în vedere urmează orientări recunoscute la nivel internațional.
- În cazul peștilor, pielea trebuie îndepărtată, deoarece nivelul maxim se aplică mușchiului fără piele. Cu toate acestea, este necesar ca întreg restul de țesut muscular și adipos de pe partea internă a pielii să fie îndepărtat de piele cu grijă și în întregime și adăugat la proba de analizat.

4. CERINȚE PENTRU LABORATOARE

- În conformitate cu dispozițiile Regulamentului (CE) nr. 882/2004 al Parlamentului European și al Consiliului (¹), laboratoarele sunt acreditate de un organism recunoscut care funcționează în conformitate cu Ghidul ISO 58, pentru a se asigura aplicarea de către acestea a procedurilor de asigurare a calității analizelor. Laboratoarele sunt acreditate conform standardului EN ISO/IEC 17025.
- Competența laboratoarelor se demonstrează prin participarea continuă și cu succes la studiile interlaboratoare pentru determinarea PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor în matricele de produse alimentare și în intervalele de concentrații relevante.
- Laboratoarele care aplică metode de screening pentru controlul de rutină al probelor stabilesc o cooperare strânsă cu laboratoarele care aplică metoda de confirmare, atât pentru controlul calității, cât și pentru confirmarea rezultatului analitic al probelor suspectate.

5. CERINȚE DE BAZĂ PRIVIND PROCEDURILE ANALITICE REFERITOARE LA DIOXINE (PCDD/F-URI) ȘI PCB-URI DE TIPUL DIOXINELOR

5.1. Interval de lucru și limite de cuantificare în gama de niveluri mici

- Pentru PCDD/F-uri, cantitățile detectabile trebuie să fie în gama superioară a femtogramelor (10^{-15} g) din cauza toxicității extreme a unora dintre acești compuși. Pentru majoritatea congenerilor PCB, limita de cuantificare de ordinul nanogramelor (10^{-9} g) este deja suficientă. Totuși, pentru măsurarea congenerilor PCB-urilor de tipul dioxinelor mai toxici (în special a congenerilor non-orto substituiți), zona inferioară a intervalului de lucru trebuie să ajungă în gama inferioară a picogramelor (10^{-12} g).

5.2. Selectivitate (specificitate) mare

- Este necesar să se facă o distincție între PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor și o multitudine de alți compuși coextrași care pot să interfereze și care sunt prezenți în concentrații cu până la câteva ordine de mărime mai mari decât cele ale analiților de interes. Pentru metodele bazate pe gaz-cromatografie/spectrometrie de masă (GC-MS), este necesară o diferențiere între diverșii congeneri, respectiv între cei toxici (de exemplu, cele șaptesprezece PCDD/F-uri 2,3,7,8-substituite și cele douăsprezece PCB-uri de tipul dioxinelor) și alți congeneri.
- Metodele bioanalitice sunt capabile să detecteze compușii-țintă ca sumă de PCDD/F-uri și/sau PCB-uri de tipul dioxinelor. Curățarea probelor are drept scop eliminarea compușilor care duc la rezultate fals-neconforme sau a compușilor care pot atenua răspunsul, ducând la rezultate fals-conforme.

(¹) Regulamentul (CE) nr. 882/2004 al Parlamentului European și al Consiliului din 29 aprilie 2004 privind controalele oficiale efectuate pentru a asigura verificarea conformității cu legislația privind hrana pentru animale și produsele alimentare și cu normele de sănătate animală și de bunăstare a animalelor (JO L 165, 30.4.2004, p. 1).

5.3. Acuratețe mare (fidelitate și precizie, recuperare aparentă a testului biologic)

- Pentru metodele GC-MS, determinarea oferă o estimare valabilă a concentrației reale dintr-o probă. Acuratețea mare (acuratețea măsurătorii: concordanța cât mai bună între rezultatul unei măsurători și valoarea reală sau alocată a mărimii măsurabile) este necesară pentru a evita respingerea rezultatului analizei unei probe în temeiul fiabilității slabe a nivelului TEQ determinat. Acuratețea se exprimă prin *fidelitate* (diferența dintre valoarea medie măsurată pentru un analit pe un material certificat și valoarea sa certificată, exprimată ca procent din această valoare) și *precizie* (deviația standard relativă RSD_R calculată pe baza rezultatelor generate în condiții de reproductibilitate).
- Pentru metodele bioanalitice, se determină recuperarea aparentă a testului biologic.

5.4. Validarea în intervalul nivelului maxim și măsuri generale de control al calității

- În timpul procedurii de validare și/sau în timpul analizei de rutină, laboratoarele demonstrează performanța unei metode în intervalul nivelului maxim, de exemplu, $0,5 \times$, $1 \times$ și $2 \times$ nivelul maxim, cu un coeficient de variație acceptabil pentru analize repetate.
- Ca măsuri interne de control al calității, se efectuează periodic controale martor, experimente cu îmbogățire sau analize ale unor probe de control (dacă este posibil, cu material de referință certificat). Se înregistrează și se verifică grafice de control al calității (QC) pentru controalele martor, experimentele cu îmbogățire sau analizele unor probe de control, pentru a se garanta că performanța analitică este conformă cerințelor.

5.5. Limita de cuantificare

- Pentru o metodă bioanalitică de screening, stabilirea LOQ nu este o cerință indispensabilă, însă metoda trebuie să demonstreze că poate face distincție între valoarea martor și valoarea de prag. Atunci când se prevede un nivel BEQ, se stabilește un nivel de raportare pentru a se lua decizii legate de probele care prezintă un răspuns sub acest nivel. Trebuie dovedit că nivelul de raportare este diferit față de probele martor din cadrul procedurii cu un factor de minimum trei, cu un răspuns inferior intervalului de lucru. Prin urmare, se calculează pornind de la probe care conțin compușii-țintă în concentrații din jurul nivelului minim prevăzut, și nu de la un raport S/Z sau un test martor.
- Limita de cuantificare (LOQ) pentru o metodă de confirmare este aproximativ o cincime din nivelul maxim.

5.6. Criterii analitice

- Pentru ca metodele de confirmare sau de screening să ofere rezultate fiabile, în intervalul nivelului maxim sau al nivelului de acțiune trebuie să fie respectate următoarele criterii pentru valoarea TEQ sau BEQ, indiferent dacă este determinată ca TEQ total (ca sumă de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor) sau separat pentru PCDD/F-uri și pentru PCB de tipul dioxinelor.

	Screening cu metode bioanalitice sau fizico-chimice	Metode de confirmare
Rată a rezultatelor fals-conforme (*)	< 5 %	
Fidelitate		între - 20 % și + 20 %
Repetabilitate (RSD_r)	< 20 %	
Reproductibilitatea intra-laborator (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) Cu privire la nivelurile maxime.

5.7. Cerințe specifice pentru metodele de screening

- Atât GC-MS, cât și metodele bioanalitice pot fi folosite pentru screening. Pentru metodele GC-MS trebuie să se utilizeze cerințele menționate la punctul 6 al prezentei anexe. Pentru metodele bioanalitice bazate pe celule sunt prevăzute cerințe specifice la punctul 7 din prezenta anexă.
- Laboratoarele care aplică metode de screening pentru controlul de rutină al probelor stabilesc o cooperare strânsă cu laboratoarele care aplică metoda de confirmare.

— Performanța metodei de screening trebuie verificată în timpul analizei de rutină, printr-un control al calității analizelor și printr-o validare continuă a metodei. Trebuie să existe un program continuu pentru controlul rezultatelor conforme.

— Verificare a posibilei suprimări a răspunsului celular și a citotoxicității

20 % din extractele de probe sunt măsurate în screeningul de rutină cu și fără 2,3,7,8-TCDD care se adaugă în funcție de nivelul maxim sau de acțiune, pentru a verifica dacă răspunsul este, eventual, suprimat de către substanțele interferente prezente în extractul de probă. Concentrația măsurată a probei îmbogățite se compară cu suma dintre concentrația extractului neîmbogățit și concentrația cu îmbogățire. Dacă această concentrație măsurată este mai mică cu mai mult de 25 % față de concentrația (suma) calculată, aceasta indică posibilitatea eliminării semnalului, iar proba respectivă trebuie supusă analizei de confirmare prin GC-HRMS. Rezultatele sunt monitorizate prin grafice de control al calității.

— Controlul calității probelor conforme

Aproximativ 2-10 % din probele conforme, în funcție de matricea probei și de experiența laboratorului, se supun analizei de confirmare.

— Determinarea ratelor de rezultate fals-conforme pornind de la datele QC

Se determină rata rezultatelor fals-conforme care rezultă din screeningul probelor sub și peste nivelul maxim sau de acțiune. Ratele reale de rezultate fals-conforme trebuie să fie sub 5 %.

Atunci când, în urma controlului de calitate al probelor conforme, sunt disponibile cel puțin 20 de rezultate confirmate per matrice/grup de matrice, concluziile privind rata de rezultate fals-conforme trebuie să fie desprinse din această bază de date. Rezultatele probelor analizate prin intermediul testărilor interlaboratoare sau în timpul incidentelor de contaminare, care acoperă un interval de concentrații de până la, de exemplu, $2 \times$ nivelul maxim (NM), pot fi, de asemenea, incluse în cele cel puțin 20 de rezultate pentru evaluarea ratei de rezultate fals-conforme. Probele acoperă cele mai frecvente modele de congeneri, reprezentând diverse surse.

Deși testele de screening urmăresc în mod preferențial detectarea probelor care depășesc nivelul de acțiune, criteriul de determinare a ratelor de rezultate fals-conforme este nivelul maxim, ținând seama de incertitudinea de măsurare a metodei de confirmare.

— Probele potențial neconforme care rezultă în urma screeningului trebuie să fie întotdeauna verificate printr-o nouă analiză completă a probei originale printr-o metodă analitică de confirmare. Aceste probe pot fi, de asemenea, folosite pentru a evalua rata rezultatelor fals-neconforme. Pentru metodele de screening, rata „rezultatelor fals-neconforme” este procentul rezultatelor confirmate ca fiind conforme în urma analizei de confirmare, în timp ce, în screeningul anterior, s-a declarat că proba este suspectată de a fi neconformă. În schimb, evaluarea caracterului avantajos al metodei de screening se bazează pe compararea probelor fals-neconforme cu numărul total de probe verificate. Această rată trebuie să fie suficient de mică pentru a face ca utilizarea unui instrument de screening să fie avantajoasă.

— Cel puțin în condiții de validare, metodele bioanalitice oferă o indicație valabilă a nivelului TEQ, calculat și exprimat ca BEQ.

— De asemenea, pentru metodele bioanalitice aplicate în condiții de repetabilitate, valoarea RSD_i intralaborator ar putea fi, de regulă, mai mică decât RSD_R (reproductibilitate).

6. CERINȚE SPECIFICE PRIVIND METODELE GC-MS CARE TREBUIE RESPECTATE ÎN SCOP DE DEPISTARE SAU DE CONFIRMARE

6.1. Diferențe acceptabile între estimarea superioară și estimarea inferioară a nivelurilor OMS-TEQ

— Diferența dintre nivelurile de la limita superioară și cele de la limita inferioară nu trebuie să fie mai mari de 20 % pentru confirmarea unei depășiri a nivelului maxim sau în cazul unor niveluri de acțiune.

6.2. Controlul recuperărilor

— Pentru a se valida procedura analitică, la începutul efectuării analizei, de exemplu, înaintea fazei de extracție, trebuie să se adauge etaloane interne de PCDD/F-uri substituie cu clor la pozițiile 2,3,7,8 și marcate cu ¹³C, precum și etaloane interne de PCB-uri de tipul dioxinelor marcate cu ¹³C. Trebuie adăugat cel puțin un congener pentru fiecare dintre grupele omoloage tetra- până la octo-clorurate de PCDD/F-uri și cel puțin un congener pentru fiecare dintre grupele omoloage de PCB-uri de tipul dioxinelor (alternativ, cel puțin un congener pentru fiecare funcție de înregistrare a ionului selecționat prin spectrometrie de masă, utilizat pentru monitorizarea PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor). În cazul metodelor de confirmare, trebuie să fie utilizate toate cele 17 etaloane interne de PCDD/F-uri substituie la pozițiile 2,3,7,8 și marcate cu ¹³C, precum și toate cele 12 etaloane interne de PCB-uri de tipul dioxinelor marcate cu ¹³C.

- De asemenea, se determină factorii de răspuns relativ pentru acei congeneri pentru care nu se adaugă niciun analog marcat cu ^{13}C , utilizându-se soluții de calibrare corespunzătoare.
- Pentru produsele alimentare de origine vegetală și cele de origine animală care conțin mai puțin de 10 % grăsime, este obligatorie adăugarea etaloanelor interne înainte de extracție. Pentru produsele alimentare de origine animală care conțin mai mult de 10 % grăsime, etaloanele interne se pot adăuga fie înainte, fie după extracția grăsimii. Se procedează la o validare corespunzătoare a eficacității extracției, în funcție de etapa în care se introduc etaloanele interne și de modul în care sunt prezentate rezultatele (pe bază de produs sau de grăsimi).
- Înaintea analizei GC-MS, trebuie să se adauge unul sau două etaloane de recuperare (surogat).
- Este necesar controlul recuperării. Pentru metodele de confirmare, recuperările de etaloane interne individuale trebuie să se situeze în intervalul 60-120 %. Sunt acceptabile recuperări inferioare sau superioare pentru congeneri individuali, în special pentru unele dibenzo-p-dioxine și unii dibenzofurani hepta- și octoclorurați, atât timp cât contribuția acestora la valoarea TEQ nu depășește 10 % din valoarea TEQ totală (bazată pe suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor). Pentru metodele de screening GC-MS, recuperarea trebuie să se situeze în intervalul 30-140 %.

6.3. Eliminarea substanțelor interferente

- Separarea PCDD/F-urilor de compuși clorurați interferenți, cum sunt PCB-urile care nu sunt de tipul dioxinelor și bifenileterii clorurați, se realizează prin tehnici cromatografice adecvate (de preferință pe coloană de florisil, alumina și/sau cărbune).
- Separarea izomerilor prin gaz-cromatografie trebuie să fie suficientă (< 25 % de la pic la pic între 1,2,3,4,7,8-HxCDF și 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

6.4. Calibrarea cu curba standard

- Intervalul curbei de calibrare trebuie să acopere intervalul relevant de niveluri maxime sau de acțiune.

6.5. Cerințe specifice pentru metodele de confirmare

- Pentru GC-HRMS:

În HRMS, rezoluția caracteristică trebuie să fie mai mare sau egală cu 10 000 pentru toată plaja maselor, cu o concavitate de 10 %.

Îndeplinirea altor cerințe în materie de identificare și confirmare, astfel cum sunt descrise în standardele internațional recunoscute, de exemplu, în standardul EN 16215:2012 (Hrană pentru animale — Determinarea dioxinelor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor prin GC-HRMS și a PCB-urilor indicatori prin GC-HRMS) și/sau în metodele EPA 1613 și 1668 revizuite.

- Pentru GC-MS/MS:

Monitorizarea a cel puțin 2 ioni precursori specifici, fiecăruia corespunzându-i un anumit ion produs, pentru toți analiții etichetați și neetichetați din domeniul de aplicare al analizei.

Toleranța maximă permisă a intensității relative de ± 15 % pentru anumiți ioni produși în comparație cu valorile calculate sau măsurate (media din standardele de calibrare), aplicând condiții MS/MS identice, în special energia coliziunii și presiunea gazului de coliziune, pentru fiecare tranziție a unui analit.

Rezoluția pentru fiecare cuadropol trebuie să fie setată ca egală sau mai bună decât rezoluția unității de masă (rezoluția unității de masă: o rezoluție suficientă pentru a separa două picuri la distanță de o unitate de masă), pentru a se minimiza interferențele posibile cu analiții de interes.

Îndeplinirea altor cerințe astfel cum sunt descrise în standardele internațional recunoscute, de exemplu, în standardul EN 16215:2012 (Hrană pentru animale — Determinarea dioxinelor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor prin GC-HRMS și a PCB-urilor indicatori prin GC-HRMS) și/sau în metodele EPA 1613 și 1668 revizuite, cu excepția obligației de a utiliza GC-HRMS.

7. CERINȚE SPECIFICE PENTRU METODELE BIOANALITICE

Metodele bioanalitice sunt metode bazate pe utilizarea de principii biologice precum testele pe bază de celule sau de receptori sau imunoteste. Prezentul punct 7 stabilește cerințe pentru metodele bioanalitice în general.

O metodă de screening, în principiu, clasifică o probă ca fiind conformă sau suspectată a fi neconformă. În acest scop, nivelul BEQ calculat este comparat cu valoarea de prag (a se vedea punctul 7.3). Probele sub valoarea de prag sunt declarate conforme, probele egale sau peste valoarea de prag sunt declarate ca fiind suspectate a fi neconforme, necesitând analiză printr-o metodă de confirmare. În practică, un nivel BEQ corespunzând la 2/3 din nivelul maxim poate servi drept valoare-limită cu condiția să se asigure o rată de rezultate fals-conforme sub 5 % și o rată acceptabilă pentru rezultatele fals-neconforme. Cu niveluri maxime diferite pentru PCDD/F-uri și pentru suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, verificarea conformității probelor fără fracționare necesită valori de prag corespunzătoare ale testelor biologice pentru PCDD/F-uri. Pentru verificarea probelor care depășesc nivelurile de acțiune, ar conveni ca valoare de prag un procentaj corespunzător al nivelului de acțiune respectiv.

În plus, în cazul anumitor metode bioanalitice, pentru probele din intervalul de lucru și care depășesc limita de raportare (a se vedea punctele 7.1.1 și 7.1.6), poate fi prevăzut un nivel indicativ exprimat în BEQ.

7.1. Evaluarea răspunsului la test

7.1.1. Cerințe generale

- Atunci când se calculează concentrațiile pornind de la o curbă de calibrare a TCDD, valorile la extremitățile inferioare și superioare ale curbei vor prezenta o variație importantă [coeficient de variație ridicat (CV)]. Intervalul de lucru este aria în care acest CV este mai mic de 15 %. Extremitatea inferioară a intervalului de lucru (limita de raportare) trebuie să fie fixată semnificativ (cel puțin cu un factor de trei) peste probele martor din cadrul procedurii. Extremitatea superioară a intervalului de lucru este, de obicei, reprezentată de valoarea EC₇₀ (70 % din concentrația maximă efectivă), dar mai scăzută dacă CV este mai mare de 15 % în acest interval. Intervalul de lucru este stabilit în timpul validării. Valorile-limită (a se vedea punctul 7.3) trebuie să fie situate în intervalul de lucru.
- Soluțiile etalon și extractele de probe trebuie să fie testate cel puțin în duplicat. Atunci când se utilizează duplicate, o soluție etalon sau un extract de control testat(ă) în 4 până la 6 godeuri repartizate pe placă produce un răspuns sau o concentrație (posibilă doar în intervalul de lucru) pe baza unui CV < 15 %.

7.1.2. Calibrarea

7.1.2.1. Calibrarea cu curba standard

- Nivelurile din probe pot fi estimate prin compararea răspunsului la test cu o curbă de calibrare a TCDD (sau a PCB 126 sau a unui amestec etalon de PCDD/F-uri/PCB-uri de tipul dioxinelor) pentru a se calcula nivelul BEQ din extract și, prin urmare, din probă.
- Curbele de calibrare conțin între 8 și 12 concentrații (cel puțin în duplicat), cu un număr suficient de concentrații în partea inferioară a curbei (intervalul de lucru). Se acordă o atenție specială calității ajustării curbei în intervalul de lucru. În regresia nelineară, valoarea R² ca atare are utilitate redusă sau nicio utilitate în estimarea calității ajustării. Se ajunge la o ajustare mai bună prin reducerea la minimum a diferenței între nivelurile calculate și cele observate în intervalul de lucru al curbei (de exemplu, prin reducerea la minimum a sumei pătratelor reziduurilor).
- Nivelul estimat în extractul de probă este corectat ulterior cu nivelul BEQ calculat pentru o probă martor de matrice/solvent (pentru a ține seama de impuritățile din solvenți și din substanțele chimice utilizate) și recuperarea aparentă (calculată pornind de la nivelul BEQ al unor probe de referință adecvate, cu modele reprezentative de congeneri în jurul nivelului maxim sau al nivelului de acțiune). Pentru a efectua o corecție cu recuperarea, recuperarea aparentă trebuie să fie situată întotdeauna în intervalul necesar (a se vedea punctul 7.1.4). Probele de referință utilizate pentru corecția cu recuperarea trebuie să respecte cerințele de la punctul 7.2.

7.1.2.2. Calibrarea cu probe de referință

Alternativ, poate fi utilizată o curbă de calibrare realizată pe baza a cel puțin 4 probe de referință (a se vedea punctul 7.2): o matrice martor, plus trei probe de referință de 0,5 ×, 1 × și 2 × nivelul maxim sau nivelul de acțiune, eliminând necesitatea de a aplica o corecție cu proba martor și recuperarea. În acest caz, răspunsul la test corespunzând la 2/3 din nivelul maxim (a se vedea punctul 7.3) poate fi calculat direct din aceste probe și utilizat ca valoare de prag. Pentru verificarea probelor care depășesc nivelurile de acțiune, un procentaj corespunzător al acestor niveluri de acțiune ar corespunde ca valoare de prag.

7.1.3. Determinarea separată a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor

Extractele pot fi divizate în fracțiuni care conțin PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, permițând o indicare separată a nivelurilor TEQ pentru PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor (în BEQ). Se utilizează, de preferință, o curbă de calibrare standard a PCB 126 pentru evaluarea rezultatelor fracțiunii care conține PCB-uri de tipul dioxinelor.

7.1.4. Recuperările aparente ale testului biologic

„Recuperarea aparentă a testului biologic” se calculează pornind de la probe de referință adecvate cu modele reprezentative de congeneri în jurul nivelului maxim sau al nivelului de acțiune și exprimate ca procentaj al nivelului BEQ în comparație cu nivelul TEQ. În funcție de tipul de test și de TEF⁽¹⁾ utilizate, diferențele între factorii TEF și REP pentru PCB-urile de tipul dioxinelor pot cauza recuperări aparente mici pentru PCB-urile de tipul dioxinelor în comparație cu PCDD/F-urile. Prin urmare, în cazul în care se efectuează o determinare separată a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor, recuperările aparente ale testului biologic sunt: pentru PCB-uri de tipul dioxinelor între 20 % și 60 %, pentru PCDD/F-uri între 50 % și 130 % (intervalele se aplică pentru curba de calibrare a TCDD). Deoarece contribuția PCB-urilor de tipul dioxinelor la suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor poate varia între diferite matrice și probe, recuperările aparente ale testului biologic pentru parametrul sumei reflectă aceste intervale și este între 30 % și 130 %.

7.1.5. Controlul recuperărilor pentru curățare

Pierderea de compuși în timpul curățării se verifică în timpul validării. O probă martor îmbogățită cu un amestec de congeneri diferiți face obiectul curățării ($n=3$ cel puțin), iar recuperarea și variabilitatea sunt verificate printr-o metodă de confirmare. Recuperarea se situează între 60 % și 120 %, mai ales pentru congenerii care contribuie cu mai mult de 10 % la nivelul TEQ în diverse amestecuri.

7.1.6. Limita de raportare

Atunci când se raportează nivelurile BEQ, se determină o limită de raportare pornind de la probele de matrice relevante care implică modele tipice de congeneri, dar nu pornind de la curba de calibrare a etaloanelor, din cauza preciziei mici în intervalul inferior al curbei. Efectele extracției și ale curățării trebuie luate în considerare. Limita de raportare se fixează semnificativ (cel puțin cu un factor de trei) peste martorii procedurii.

7.2. Utilizarea probelor de referință

- Probele de referință reprezintă matricea probei, modelele de congeneri și intervalele de concentrație pentru PCDD-uri/PCDF-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor în jurul nivelului maxim sau al nivelului de acțiune.
- În fiecare serie de teste se include un martor pentru procedură sau, de preferință, un martor pentru matrice, precum și o probă de referință la nivelul maxim sau nivelul de acțiune. Aceste probe trebuie extrase și testate în același timp și în condiții identice. Proba de referință trebuie să prezinte un răspuns clar mai puternic în comparație cu proba martor, asigurând astfel caracterul adecvat al testului. Aceste probe pot fi utilizate pentru corecțiile cu proba martor și recuperarea.
- Probele de referință alese pentru a efectua o corecție cu recuperarea sunt reprezentative pentru probele testate, în sensul că modelele de congeneri nu conduc la o subestimare a nivelurilor.
- Se pot include probe de referință suplimentare de $0,5 \times$ și $2 \times$ nivelul maxim sau nivelul de acțiune, de exemplu, pentru a se demonstra eficacitatea testului în intervalul de interes, pentru controlul nivelului maxim sau al nivelului de acțiune. Combinate, aceste probe pot fi utilizate pentru calcularea nivelurilor BEQ în probele testate (7.1.2.2).

7.3. Determinarea valorilor-limită

Se stabilește relația dintre rezultatele bioanalitice în BEQ și rezultatele obținute prin metodele de confirmare în TEQ [de exemplu, prin experimente de calibrare în raport cu matricea, care implică probe de referință îmbogățite la 0 , $0,5 \times$, $1 \times$ și $2 \times$ față de nivelul maxim (NM), cu 6 repetări la fiecare nivel ($n = 24$)]. Factorii de corecție (martor și recuperare) pot fi estimați pornind de la această relație, dar trebuie să fie verificați în fiecare serie de teste prin includerea probelor martor pentru procedură/matrice și a probelor de recuperare (7.2).

Valorile de prag se stabilesc pentru deciziile privind conformitatea probelor cu nivelurile maxime sau pentru controlul nivelurilor de acțiune, în cazul în care prezintă interes, nivelurile maxime sau de acțiune respective fiind stabilite fie numai pentru PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, fie pentru suma dintre PCDD/F-uri și PCB-urile de tipul dioxinelor. Ele sunt reprezentate de limita inferioară a curbei de distribuție a rezultatelor bioanalitice (corectate cu martorul și recuperarea) corespunzând limitei de decizie aferente metodei de confirmare pe baza unui nivel de încredere de 95 %, implicând o rată de rezultate fals-conforme de < 5 %, și pe baza unei valori a $RSD_R < 25$ %. Limita de decizie aferentă metodei de confirmare este nivelul maxim, ținând seama de incertitudinea de măsurare.

(¹) Cerințele actuale se bazează pe TEF publicați în: M. Van den Berg et al., Toxicol Sci. 93 (2), p. 223-241 (2006).

În practică, valoarea de prag (în BEQ) poate fi calculată prin următoarele metode (a se vedea figura 1):

- 7.3.1. Utilizarea sectorului *inferior* al intervalului de predicție de 95 % la limita de decizie aferentă metodei de confirmare

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

unde:

BEQ_{DL} BEQ care corespunde limitei de decizie aferente metodei de confirmare, fiind nivelul maxim, inclusiv incertitudinea de măsurare,

$s_{y,x}$ deviație standard reziduală,

$t_{\alpha, f=m-2}$ factor Student ($\alpha = 5\%$, $f = \text{grade de libertate}$, o singură parte),

m numărul total de puncte de calibrare (indice j),

n numărul de repetări la fiecare nivel,

x_i concentrația probei (în TEQ) în punctul de calibrare i determinată printr-o metodă de confirmare,

\bar{x} media concentrațiilor (în TEQ) ale tuturor probelor de calibrare,

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2$ parametrul sumei pătratelor,

$i =$ indice pentru punctul de calibrare i .

- 7.3.2. Calculul pornind de la rezultatele bioanalitice (corectate cu proba martor și recuperarea) ale analizelor multiple ale probelor ($n \geq 6$) contaminate la limita de decizie aferentă metodei de confirmare, ca extremitate *inferioară* a distribuției datelor la valoarea medie BEQ corespunzătoare:

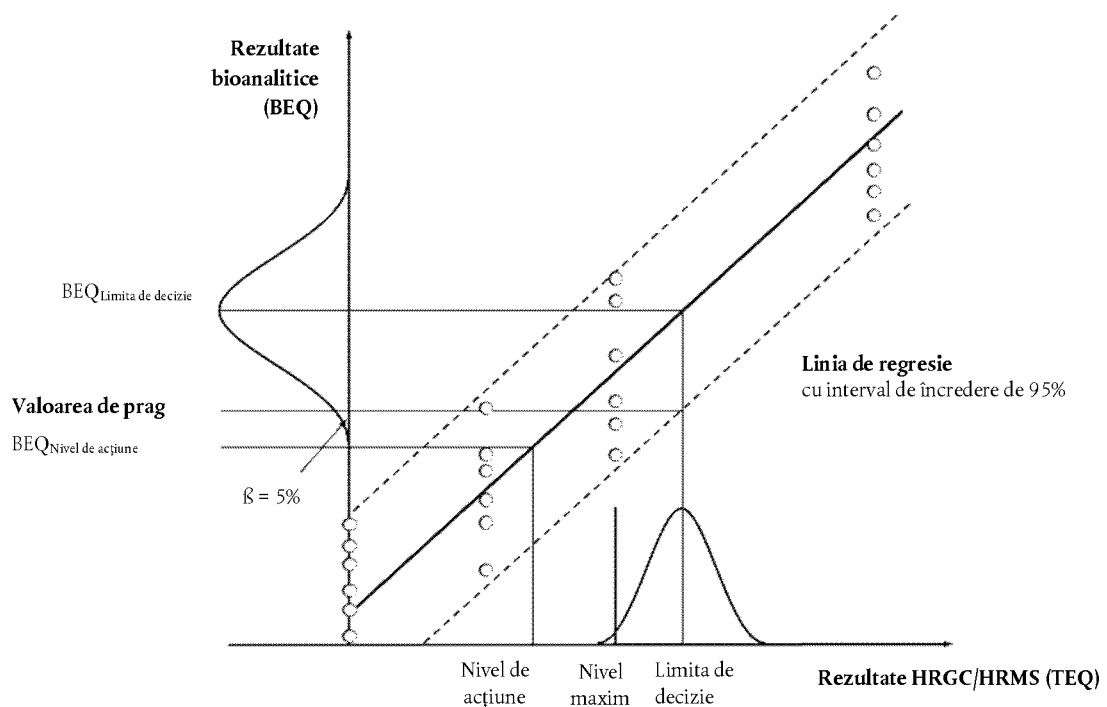
$$\text{Valoaredeprag} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1,64 \times \text{SD}_R$$

unde:

SD_R deviația standard a rezultatelor testului biologic la BEQ_{DL} , măsurată în condiții de reproductibilitate intralaborator.

- 7.3.3. Calculul ca valoare medie a rezultatelor bioanalitice (în BEQ, corectate cu proba martor și recuperarea) din mai multe analize ale probelor ($n \geq 6$) contaminate la 2/3 din nivelul maxim sau din nivelul de acțiune. Aceasta se bazează pe observația că acest nivel va fi în jurul valorii de prag determinată conform 7.3.1 sau 7.3.2.

Figura 1



Calculul al valorilor de prag, bazat pe un nivel de încredere de 95 %, implicând o rată de rezultate fals-conforme < 5 %, și o valoare a $RSD_R < 25 \%$:

1. pornind de la sectorul *inferior* al intervalului de predicție de 95 % la limita de decizie aferentă metodei de confirmare;
2. pornind de la analize multiple ale probelor ($n \geq 6$) contaminate la limita de decizie aferentă metodei de confirmare, ca limită *inferioară* a distribuției datelor (reprezentată în figură printr-o curbă sub formă de clopot) la valoarea medie BEQ corespunzătoare.

7.3.4. Restricții ale valorilor-limită:

Valorile-limită bazate pe BEQ, calculate pornind de la RSD_R obținut în cursul validării, utilizând un număr limitat de probe cu modele de matrice/congeneri diferite, pot fi mai mari decât nivelurile maxime sau de acțiune bazate pe TEQ datorită unei precizii mai mari decât cea realizabilă în analizele de rutină atunci când trebuie controlat un spectru necunoscut de posibile modele de congeneri. În astfel de cazuri, valorile de prag se calculează pornind de la $RSD_R = 25 \%$ sau se preferă două treimi din nivelul maxim sau din nivelul de acțiune.

7.4. Caracteristici de performanță

- Având în vedere faptul că nu se pot utiliza etaloane interne în metodele bioanalitice, testele cu privire la repetabilitate se efectuează pentru obținerea unor informații privind deviația standard în cadrul unei serii de teste și între serii de teste. Repetabilitatea trebuie să fie sub 20 %, iar reproductibilitatea intralaborator sub 25 %. Aceasta se bazează pe nivelurile calculate în BEQ după corecția cu proba martor și recuperarea.
- Ca parte din procesul de validare, testul trebuie să permită stabilirea diferenței între o probă martor și un nivel la valoarea de prag, permițând identificarea probelor peste valoarea de prag corespunzătoare (a se vedea punctul 7.1.2).
- Se definesc compuşii țintă, interferențele potențiale și nivelurile maxime tolerabile ale probei martor.
- Deviația standard în procente a răspunsului sau a concentrației calculate pornind de la răspuns (posibilă numai în intervalul de lucru) a unei determinări triple a unui extract de probă nu poate fi mai mare de 15 %.
- Rezultatele necorectate ale probei (probelor) de referință exprimată (exprimate) în BEQ-uri (martor și la nivelul maxim sau nivelul de acțiune) sunt utilizate pentru evaluarea performanței metodei bioanalitice pe o perioadă de timp constantă.
- Graficele de control al calității (QC) pentru probele martor ale procedurii și fiecare tip de probă de referință se înregistrează și se verifică pentru a se asigura că performanța analitică este în conformitate cu cerințele, în special pentru probele martor cu privire la diferența minimă impusă la limita inferioară a intervalului de lucru și pentru probele de referință cu privire la reproductibilitatea intralaborator. Probele martor din cadrul procedurii trebuie să fie atent controlate pentru a evita rezultatele fals-conforme atunci când se efectuează operațiunea de scădere.
- Rezultatele analizelor realizate prin metodele de confirmare pentru probele suspectate și pentru 2-10 % din probele conforme (minimum 20 de probe pentru fiecare matrice) sunt colectate și folosite pentru a evalua performanța metodei de screening și relația dintre BEQ-uri și TEQ-uri. Această bază de date ar putea fi utilizată pentru reevaluarea valorilor de prag aplicabile probelor de rutină pentru matricele validate.
- Buna performanță a metodelor poate fi, de asemenea, demonstrată prin participarea la testările interlaboratoare. Rezultatele probelor analizate în testările interlaboratoare, care acoperă un interval de concentrații care ajunge până la, de exemplu, $2 \times$ nivelul maxim, pot fi, de asemenea, incluse în evaluarea ratei de rezultate fals-conforme, în cazul în care un laborator este în măsură să demonstreze buna sa performanță. Probele acoperă cele mai frecvente modele de congeneri, reprezentând diverse surse.
- În timpul incidentelor, valorile de prag pot fi reevaluate, reflectând matricea specifică și modelele de congeneri doar ale acestui incident individual.

8. RAPORTAREA REZULTATULUI

Metode de confirmare

- În măsura în care procedura analitică utilizată permite acest lucru, rezultatele analitice includ nivelurile de congeneri individuali ai PCDD/F-urilor și ai PCB-urilor de tipul dioxinelor și sunt raportate ca estimare inferioară, estimare superioară și estimare mediană, pentru a include o cantitate maximă de informații în raportarea rezultatelor, ceea ce permite o interpretare a rezultatelor în conformitate cu cerințele specifice.

- Raportul include și metoda utilizată pentru extracția PCDD/F-urilor, PCB-urilor de tipul dioxinelor și lipidelor. Conținutul de lipide al probei se determină și se raportează pentru probe din produse alimentare cu niveluri maxime exprimate prin raportare la conținutul de grăsimi și o concentrație de grăsimi estimată în intervalul 0-2 % (în concordanță cu legislația existentă), iar pentru alte probe determinarea conținutului de lipide este opțională.
- Recuperările etaloanelor interne individuale trebuie să fie disponibile în cazul în care recuperările se situează în afara intervalului menționat la punctul 6.2, în cazul în care nivelul maxim este depășit (în acest caz, recuperările pentru una dintre cele două analize-duplicat), iar în celelalte cazuri, la cerere.
- Întrucât, atunci când se decide conformitatea unei probe, se ține seama de incertitudinea de măsurare, acest parametru este, de asemenea, pus la dispoziție. Prin urmare, rezultatele analitice se raportează ca $x \pm U$, unde x este rezultatul analitic, iar U este incertitudinea de măsurare extinsă folosind un factor de acoperire 2, care conferă un nivel de încredere de aproximativ 95 %. În cazul unei determinări separate a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor, suma incertitudinii extinse estimate a rezultatelor analitice separate ale PCDD/F-urilor și ale PCB-urilor de tipul dioxinelor se utilizează pentru suma PCDD/F-urilor și PCB-urilor de tipul dioxinelor.
- În cazul în care se ia în considerare incertitudinea de măsurare prin aplicarea CCa (astfel cum se descrie în anexa II punctul IV.2), acest parametru se raportează.
- Rezultatele se exprimă în aceleași unități și prin (cel puțin) același număr de cifre semnificative ca și nivelurile maxime menționate în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006.

Metode bioanalitice de screening

- Rezultatul screeningului se exprimă cu termenii „conform” sau „suspectat a fi neconform” („suspectat”).
- În plus, se poate da un rezultat pentru PCDD/F-uri și/sau PCB-uri de tipul dioxinelor exprimat în echivalente bioanalitice (BEQ), nu în TEQ (a se vedea anexa III punctul 1). Rezultatul probelor cu un răspuns sub limita de raportare se exprimă ca fiind „mai mic decât limita de raportare”.
- Pentru fiecare tip de matrice analizată, raportul menționează nivelul maxim sau nivelul de acțiune pe care se bazează evaluarea.
- Raportul menționează tipul de test aplicat, principiul de bază al testului și tipul de calibrare.
- Raportul include și metoda utilizată pentru extracția PCDD/F-urilor, PCB-urilor de tipul dioxinelor și lipidelor. Conținutul de lipide al probei se determină și se raportează pentru probe din produse alimentare cu niveluri maxime sau de acțiune exprimate prin raportare la conținutul de grăsimi și o concentrație de grăsimi estimată în intervalul 0-2 % (în concordanță cu legislația existentă), iar pentru alte probe determinarea conținutului de lipide este opțională.
- În cazul probelor suspectate a fi neconforme, raportul trebuie să includă o notă privind măsurile care urmează a fi adoptate. Concentrația de PCDD/F-uri și suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din probele cu niveluri ridicate trebuie determinată/confirmată printr-o metodă de confirmare.

Apendice la ANEXA III

Factorii de echivalență toxică ai OMS (OMS-TEF) pentru evaluarea riscurilor pentru sănătatea umană, bazați pe concluziile reuniunii de experți din cadrul Programului internațional pentru securitate chimică (IPCS) al OMS, care a avut loc la Geneva în iunie 2005 [Martin van den Berg et al., The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds. Toxicological Sciences 93(2), p. 223-241 (2006)]

Congener	Valoare TEF	Congener	Valoare TEF
Dibenzo-p-dioxine (PCDD-uri)		PCB-uri „de tipul dioxinelor” PCB-uri non-orto + PCB-uri mono-orto	
2,3,7,8-TCDD	1	PCB-uri non-orto	
1,2,3,7,8-PeCDD	1		
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		
Dibenzofurani (PCDF-uri)		PCB-uri mono-orto	
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		

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

ANEXA IV

PREGĂTIREA PROBELOR ȘI CERINȚE PRIVIND METODELE ANALITICE UTILIZATE PENTRU CONTROLUL NIVELURILOR PCB-URILOR CARE NU SUNT DE TIPUL DIOXINELOR (PCB # 28, 52, 101, 138, 153, 180) ÎN ANUMITE PRODUSE ALIMENTARE

Cerințele stabilite în prezenta anexă se aplică atunci când produsele alimentare sunt analizate pentru controlul oficial al nivelurilor de bifenili policlorurați care nu sunt de tipul dioxinelor (PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor), precum și în alte scopuri de reglementare.

1. Metode de detectare aplicabile:

Gaz-cromatografie/detectare prin captură de electroni (GC/ECD), GC/LRMS, GC/MS-MS, GC/HRMS sau metode echivalente.

2. Identificarea și confirmarea analiților de interes:

- Timpul de retenție relativ în raport cu etaloanele interne sau etaloanele de referință (deviație acceptabilă +/- 0,25 %).
- Separarea gaz-cromatografică a tuturor celor șase PCB indicatori (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 și PCB 180) de substanțele interferente, în special PCB-uri coeluante, mai ales în cazul în care nivelurile probelor sunt în limite legale și neconformitatea trebuie să se confirme.

(Congeneri despre care s-a constatat că sunt adesea coeluanți sunt, de exemplu, PCB 28/31, PCB 52/69 și PCB 138/163/164. Pentru GC-MS este necesar să se țină seama și de interferențele posibile din partea fragmentelor de congeneri mai puternic clorurați.)

- Pentru tehnicile GC-MS:

- Monitorizarea a cel puțin:

- doi ioni specifici pentru HRMS;
- doi ioni specifici de $m/z > 200$ sau trei ioni specifici de $m/z > 100$ pentru LRMS;
- 1 ion precursor și 2 ioni produs pentru MS-MS.

- Toleranțele maxime admisibile pentru raportul valorilor izotopilor pentru fragmentele de masă selecționate:

Deviația relativă între raportul valorilor izotopilor pentru fragmentele de masă selecționate și valoarea teoretică a izotopilor sau etalonul de calibrare pentru ionul țintă (ionul monitorizat cu cea mai ridicată valoare a izotopilor) și ionul (ionii) calificativ(i):

Intensitatea relativă a ionului (ionilor) calificativ(i) în comparație cu ionul țintă	GC-EI-MS (deviație relativă)	GC-CI-MS, GC-MS ⁿ (deviație relativă)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 %-50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 %-20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Număr suficient de fragmente de masă cu intensitate relativă > 10 %; prin urmare, nu se recomandă să se folosească ion (i) calificativ(i) cu o intensitate relativă mai mică de 10 % în comparație cu ionul țintă.

- Pentru GC-ECD:

Confirmarea rezultatelor care depășesc limita de toleranță cu două coloane de GC cu fază staționară cu o polaritate diferită.

3. Demonstrarea performanței metodei

Validare în intervalul nivelului maxim (0,5 până la de 2 ori nivelul maxim), cu un coeficient de variație acceptabil pentru analiza repetată (a se vedea cerințele pentru precizia intermediară de la punctul 8).

4. Limita de cuantificare:

Valorile martor nu sunt mai mari de 30 % din nivelul contaminării care corespunde nivelului maxim ⁽¹⁾.

5. Controlul calității:

Periodic, controale periodice ale probelor martor, analiza probelor îmbogățite, probe pentru controlul calității, participarea la studii interlaboratoare pe matrice relevante.

6. Controlul recuperărilor:

- Utilizarea de etaloane interne corespunzătoare, cu proprietăți fizico-chimice comparabile cu ale analiților de interes.
- Adăugarea de etaloane interne:
 - adăugare la produse (înaintea procesului de extracție și de curățare);
 - adăugare posibilă și pentru a extrage grăsimea (înainte de procesul de curățare), în cazul în care nivelul maxim este exprimat prin raportare la conținutul de grăsimi.
- Cerințe privind metodele care utilizează toți cei șase congeneri ai PCB-urilor indicatori marcați cu un izotop:
 - corecția rezultatelor cu recuperările etaloanelor interne;
 - recuperările general acceptabile ale etaloanelor interne marcate cu un izotop sunt între 50 și 120 %;
 - recuperările inferioare sau superioare pentru congenerii individuali care au o contribuție mai mică de 10 % la suma celor șase PCB-uri indicatori sunt acceptabile.
- Cerințe privind metodele care nu utilizează toate cele șase etaloane interne marcate cu un izotop sau alte etaloane interne:
 - controlul recuperării etalonului (etalanelor) intern(e) pentru fiecare probă;
 - recuperări acceptabile ale etalonului (etalanelor) intern(e) între 60 și 120 %;
 - corecția rezultatelor cu recuperările etaloanelor interne;
- Recuperările congenerilor nemarcați se verifică prin probe îmbogățite sau probe pentru controlul calității cu concentrații în intervalul nivelului maxim. Recuperări acceptabile pentru acești congeneri sunt între 70 și 120 %.

7. Cerințe pentru laboratoare:

În conformitate cu dispozițiile Regulamentului (CE) nr. 882/2004, laboratoarele sunt acreditate de un organism recunoscut care funcționează în conformitate cu Ghidul ISO 58, pentru a se asigura aplicarea de către acestea a procedurilor de asigurare a calității analizelor. Laboratoarele sunt acreditate conform standardului EN ISO/IEC 17025.

8. Caracteristici de performanță: criterii pentru suma celor șase PCB-uri indicatori la nivelul maxim:

Fidelitate	- 30 până la + 30 %
Precizie intermediară (RSD %)	≤ 20 %
Diferența dintre estimarea superioară și estimarea inferioară a calculului	≤ 20 %

9. Raportarea rezultatelor

- În măsura în care procedura analitică utilizată permite acest lucru, rezultatele analitice includ nivelurile de congeneri individuali din grupul PCB-urilor și sunt raportate ca estimare inferioară, estimare superioară și estimare mediană, pentru a include o cantitate maximă de informații în raportarea rezultatelor, ceea ce permite o interpretare a rezultatelor în conformitate cu cerințele specifice.
- Raportul include și metoda utilizată pentru extracția PCB-urilor și a lipidelor. Conținutul de lipide al probei se determină și se raportează pentru probe din produse alimentare cu niveluri maxime exprimate prin raportare la conținutul de grăsimi și o concentrație de grăsimi estimată în intervalul 0-2 % (în concordanță cu legislația existentă), iar pentru alte probe determinarea conținutului de lipide este opțională.

⁽¹⁾ Este foarte recomandabil să existe o contribuție mai mică a nivelului reactivului martor la nivelul unui contaminant dintr-o probă. Este responsabilitatea laboratorului să controleze variația nivelurilor probelor martor, în special în cazul în care aceste niveluri se scad.

- Recuperările etaloanelor interne individuale trebuie să fie disponibile în cazul în care recuperările se situează în afara intervalului menționat la punctul 6 și în cazul în care nivelul maxim este depășit, iar în celelalte cazuri, la cerere.
 - Întrucât, atunci când se decide conformitatea unei probe, se ține seama de incertitudinea de măsurare, și acest parametru trebuie să fie pus la dispoziție. Prin urmare, rezultatele analitice se raportează ca $x \pm U$, unde x este rezultatul analitic, iar U este incertitudinea de măsurare extinsă folosind un factor de acoperire 2, care conferă un nivel de încredere de aproximativ 95 %.
 - În cazul în care se ia în considerare incertitudinea de măsurare prin aplicarea CC α (astfel cum se descrie în anexa II punctul IV.1), acest parametru se raportează.
 - Rezultatele se exprimă în aceleași unități și prin (cel puțin) același număr de cifre semnificative ca și nivelurile maxime menționate în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006.
-