

16 JANVIER 2006. - Arrêté ministériel portant fixation des critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en plomb, cadmium, mercure, 3-MCPD, dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires

Le Ministre de la Santé publique,

Vu l'arrêté royal du 22 février 2001 organisant les contrôles effectués par l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire et modifiant diverses dispositions légales, confirmé par la loi du 19 juillet 2001, notamment l'article 3, § 5, alinéa 4;

Vu l'arrêté ministériel du 13 mars 2003 portant fixation des critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en dioxines et le dosage des PCB de type dioxines dans les denrées alimentaires, modifié par l'arrêté ministériel du 10 mars 2005;

Vu la directive 2001/22/CE de la Commission du 8 mars 2001 portant fixation des modes de prélèvement d'échantillons et de méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, cadmium, mercure et 3-MCPD dans les denrées alimentaires, modifiée par la directive 2005/4/CE de la Commission du 19 janvier 2005;

Vu la directive 2002/69/CE de la Commission du 26 juillet 2002 portant fixation des modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des dioxines et le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires, modifiée par la Directive 2004/44 du 13 avril 2004 ;

Vu la recommandation 2002/201/CE de la Commission du 4 mars 2002 sur la réduction de la présence de dioxines, de furanes et de PCB dans les aliments pour animaux et les denrées alimentaires;

Vu l'avis n° 39.406/3 du Conseil d'Etat, donné le 6 décembre 2005 en application de l'article 84, § 1^{er}, alinéa 1^{er}, 1^o, des lois coordonnées sur le Conseil d'Etat,

Arrête :

Article 1^{er}. Les analyses en vue du contrôle officiel des teneurs maximales de plomb, cadmium, mercure, 3-MCPD, fixées dans le règlement (CE) n° 466/2001 de la Commission du 8 mars 2001, doivent être exécutées conformément à l'annexe I.

Art. 2. Les analyses en vue du contrôle officiel des teneurs maximales de dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine fixées dans le règlement (CE) n° 466/2001 de la Commission du 8 mars 2001, doivent être exécutées conformément à l'annexe II.

Art. 3. L'arrêté ministériel du 13 mars 2003 portant fixation des critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires, modifié par l'arrêté ministériel du 10 mars 2005, est abrogé.

Art. 4. Le présent arrêté entre en vigueur le 1^{er} février 2006.

Bruxelles, le 16 janvier 2006.

R. DEMOTTE

Annexe I^{re}

Préparation des échantillons et critères généraux auxquels doivent satisfaire les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, cadmium, mercure et 3-MCPD de certaines denrées alimentaires

1. Précautions

Il s'agit essentiellement d'obtenir un échantillon de laboratoire représentatif et homogène sans y introduire de contamination secondaire.

2. Préparation

Il convient de noter les points suivants pour toutes procédures utilisées. Pour les mollusques bivalves, crustacés et petits poissons : s'ils sont normalement consommés en entier, les viscères doivent faire partie des matières à analyser.

En général, seule la fraction comestible est à tester, sauf en cas de disposition spécifique.

3. Analyse

Pour l'analyse de la présence de plomb dans le vin, le règlement (CEE) n° 2676/90 de la Commission

déterminant les méthodes d'analyse communautaires applicables dans le secteur du vin fixe la méthode à utiliser au chapitre 35 de son annexe. Pour le reste, il n'est pas prescrit de méthodes spécifiques de détermination, mais les laboratoires doivent utiliser une méthode validée, répondant aux critères de performance qui figurent dans les tableaux 1 (pour le plomb, cadmium et mercure) et 2 (pour le 3-MCPD).

Tableau 1 : Critères de performance des méthodes d'analyse relatives au plomb, au cadmium et au mercure

Pour la consultation du tableau, voir image

Avec :

r = répétabilité : valeur en dessous de laquelle on peut s'attendre à ce que la différence absolue entre les résultats de deux tests individuels, obtenus dans des conditions de répétabilité (c'est-à-dire même échantillon, même opérateur, même appareillage, même laboratoire et court intervalle de temps), se situe dans une limite donnée de probabilité (en principe 95 %); d'où $r = 2,8 \times s_r$.

s_r = écart-type, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de répétabilité.

RSD_r = écart-type relatif, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de répétabilité $[(s_r / \bar{x}) \times 100]$, où $\bar{x}$ représente la moyenne des résultats pour tous les laboratoires et échantillons.

R = reproductibilité : valeur en dessous de laquelle on peut s'attendre à ce que la différence absolue entre les résultats de tests individuels, obtenus dans des conditions de reproductibilité (c'est-à-dire pour un produit identique, obtenu par les opérateurs dans différents laboratoires utilisant la méthode de test normalisée), se situe dans une certaine limite de probabilité (en principe 95 %); $R = 2,8 \times s_R$.

s_R = écart-type, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de reproductibilité.

RSD_R = écart-type relatif, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de reproductibilité $[(s_R / \bar{x}) \times 100]$

$HORRAT_r$ = le RSD_r observé divisé par la valeur du RSD_r estimée à partir de l'équation de Horwitz en présumant que $r = 0,66R$

$HORRAT_R$ = la valeur observée du RSD_R divisée par la valeur du RSD_R calculée à partir de l'équation de Horwitz.

Tableau 2 : Critères de performance des méthodes d'analyse relatives au 3-MCPD

Pour la consultation du tableau, voir image

Critères de performance - Approche de la fonction d'incertitude

Cependant, une approche fondée sur l'incertitude peut également être utilisée pour évaluer l'adéquation de la méthode d'analyse à appliquer par le laboratoire. Le laboratoire peut appliquer une méthode qui produira des résultats comportant une incertitude standard maximale. L'incertitude standard maximale peut être calculée par la formule suivante :

$$U_f = [(LOD/2)^2 + (aC)^2]^{1/2}$$

où :

U_f est l'incertitude standard maximale

LOD est la limite de détection de la méthode

C est la concentration présentant un intérêt

a est un facteur numérique dépendant de la valeur de C .

Les valeurs à utiliser sont données dans le tableau ci-dessous :

Pour la consultation du tableau, voir image

U est l'incertitude élargie, utilisant un facteur d'élargissement de 2, qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %.

Si une méthode d'analyse aboutit à des résultats présentant des mesures d'incertitude inférieures à l'incertitude standard maximale, la méthode sera aussi valable qu'une méthode satisfaisant aux critères de performance indiqués ci-dessus.

4. Rapport d'analyse

Le résultat analytique est enregistré sous forme corrigée ou non au titre de la récupération. La façon d'enregistrer et le taux de récupération doivent être rapportés. Les résultats doivent être exprimés dans les mêmes unités que les teneurs maximales figurant dans le règlement (CE) n° 466/2001. Le rapport d'analyse présente seulement la moyenne de minimum deux analyses indépendantes.

Dans la mesure du possible, l'exactitude de l'analyse est estimée en incluant, dans l'analyse, des matériaux de référence certifiés et adaptés.

L'analyste tient dûment compte du « Rapport sur la relation entre les résultats d'analyse, l'incertitude

de mesure, les facteurs de récupération et les dispositions de la législation européenne relative aux denrées alimentaires » (1).

Le résultat d'analyse est consigné sous la forme $x \pm U$, où x est le résultat de l'analyse et U l'incertitude de la mesure.

5. Conformité du lot ou sous-lot aux spécifications

A des fins de contrôle, le laboratoire procède au moins à deux analyses indépendantes de l'échantillon de laboratoire et calcule la moyenne des résultats.

Le lot est accepté si cette moyenne ne dépasse pas la teneur maximale correspondante fixée dans le règlement (CE) n° 466/2001, compte tenu de l'incertitude élargie de la mesure et de la correction pour récupération (1).

Le lot est rejeté si cette moyenne dépasse sans conteste la teneur maximale correspondante, compte tenu de l'incertitude élargie de la mesure et de la correction pour récupération.

REFERENCES

(1) Rapport sur la relation entre les résultats d'analyse, l'incertitude de mesure, les facteurs de récupération et les dispositions de la législation européenne relative aux denrées alimentaires, 2004 (<http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/contaminants/sampling/en.htm>). »

Vu pour être annexé à notre arrêté ministériel du 16 janvier 2006 fixant le mode de préparation des échantillons et les critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en plomb, cadmium, mercure, 3-MCPD, dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires.

R. DEMOTTE

Annexe II

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

1. Objet et champs d'application

Ces prescriptions s'appliquent aux analyses de denrées alimentaires effectuées aux fins du contrôle officiel des teneurs en dioxines (dibenzo-p-dioxines polychlorées (PCDD) et dibenzofuranes polychlorés (PCDF)) et du dosage des PCB de type dioxine.

Pour surveiller la présence de dioxines dans les denrées alimentaires, il est possible de mettre en oeuvre une stratégie reposant sur une méthode de dépistage, afin de sélectionner les échantillons dont la teneur en dioxines et en PCB de type dioxine est, soit inférieure au niveau considéré, sans que l'écart dépasse 30 à 40 %, soit supérieure au niveau considéré. La teneur en dioxines des échantillons présentant des teneurs significatives doit être déterminée/confirmée au moyen d'une méthode de confirmation permettant l'identification et la quantification univoque de dioxines et de PCB de type dioxine au niveau considéré.

2. Contexte

Du fait que les échantillons de l'environnement et les échantillons biologiques (y compris les échantillons de denrées alimentaires) contiennent en général des mélanges complexes de différents congénères de dioxines, le concept de facteurs d'équivalence toxique (TEF) a été créé pour faciliter l'évaluation des risques. Ces TEF ont été établis pour exprimer les concentrations de mélanges de PCDD et de PCDF substitués en 2,3,7,8 et, depuis peu, de certains PCB non-ortho et mono-ortho substitués ayant des propriétés semblables à celles des dioxines, en équivalents toxiques (TEQ) de la 2,3,7,8-TCDD.

Tableau de l'OMS TEF pour l'évaluation des risques pour les êtres humains, fondé sur les conclusions de la réunion de l'OMS tenue à Stockholm (Suède), du 15 au 18 juin 1997 (Van den Berg et al. (1998) Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. Environmental Health Perspectives, 106 (12), 775).

Pour la consultation du tableau, voir image

Abbréviations utilisées : T = tetra; Pe = penta; Hx = hexa; Hp = hepta; O = octa; CDD = chlorodibenzodioxine; CDF = chlorodibenzofurane; CB = chlorobiphényle.

Les concentrations de chaque substance dans un échantillon donné sont multipliées par leurs TEF respectifs, puis elles sont additionnées de façon à obtenir la concentration totale en composés de type dioxine, exprimée en TEQ.

Pour le calcul de l' « estimation haute », on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à la limite de quantification.

Pour le calcul de l' « estimation basse », on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à zéro.

Pour le calcul de la « estimation intermédiaire », on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à la moitié de la limite de quantification.

Aux fins du présent arrêté, la limite spécifique acceptée de quantification d'un congénère est la concentration d'un analyte dans l'extrait d'un échantillon qui produit une réponse instrumentale aux deux ions différents à contrôler par un rapport S/B (signal/bruit) de 3 : 1 pour le signal le moins sensible et remplit les conditions de base telles que, par exemple, temps de rétention, rapport isotopique selon la procédure de détermination décrite dans la méthode EPA 1613, révision B.

3. Prescriptions d'assurance qualité pour la préparation des échantillons

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

Les échantillons doivent être conservés et transportés dans des récipients en verre, en aluminium, en polypropylène ou en polyéthylène. Toute trace de poussière de papier doit être enlevée du contenant de l'échantillon. La verrerie doit être rincée à l'aide de solvants préalablement soumis à un contrôle de détection de dioxines.

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

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

Un essai à blanc doit être réalisé, en effectuant l'ensemble de la procédure analytique avec pour seule différence l'absence de l'échantillon.

Le poids de l'extrait doit être suffisamment élevé, de façon à répondre aux exigences de sensibilité.

De nombreuses procédures spécifiques de préparation des échantillons peuvent être utilisées de manière satisfaisante pour les produits considérés. Les procédures doivent être validées selon des directives reconnues sur le plan international.

4. Prescriptions applicables aux laboratoires

Les laboratoires doivent démontrer la validité de la méthode dans une certaine plage autour de la limite

réglementaire, par exemple à des niveaux égaux à 0,5 fois, 1 fois et 2 fois ce niveau, avec un coefficient de variation acceptable pour les analyses répétées. Pour plus de précisions sur les critères de validité, se reporter au point 5.

La limite de quantification pour une méthode de confirmation ne doit pas dépasser le cinquième du niveau considéré, pour garantir des coefficients de variation acceptables dans la plage susmentionnée.

Des essais à blanc et des expériences avec enrichissement ou des analyses sur des échantillons de contrôle (si possible, des matériaux de référence certifiés) doivent être effectués régulièrement, dans le cadre des mesures d'assurance qualité internes.

Des participations couronnées de succès à des études inter-laboratoires qui évaluent la compétence du laboratoire sont la meilleure façon de démontrer l'aptitude de ce dernier à effectuer des analyses spécifiques. Cependant, une participation réussie à une étude inter-laboratoire portant, par exemple, sur des échantillons de sols ou d'eaux usées, ne suffit pas à démontrer une compétence pour les échantillons de denrées alimentaires ou d'aliments des animaux, qui présentent des niveaux de contamination inférieurs. C'est pourquoi la participation continue à des études inter-laboratoires sur la détermination des teneurs en dioxine et en PCB de type dioxine des matrices d'aliments des animaux/de denrées alimentaires correspondantes est obligatoire.

5. Prescriptions concernant les procédures d'analyse relatives aux dioxines et aux PCB de type dioxine

Prescriptions fondamentales de validité des procédures d'analyse :

Sensibilité élevée et faibles limites de détection. En ce qui concerne les PCDD et les PCDF, les seuils de détection doivent être de l'ordre du picogramme de TEQ (10^{-12} g), étant donné la toxicité extrêmement élevée de ces composés. Il est connu que les PCB se présentent en quantités plus élevées que les PCDD ou PCDF. Pour la plupart des congénères du groupe des PCB, une sensibilité de l'ordre

du nanogramme (10^{-9} g) est suffisante. Cependant, pour la mesure des congénères du groupe des PCB de type dioxine plus toxiques (en particulier les congénères non-ortho substitués), il convient d'atteindre la même sensibilité que pour les PCDD et les PCDF.

Grande sélectivité (spécificité). Il est nécessaire de distinguer les PCDD, les PCDF et les PCB de type dioxine d'une multitude d'autres composés extraits simultanément de l'échantillon, susceptibles d'interférer, et qui sont présents dans des concentrations supérieures de plusieurs ordres de grandeur à celle des analytes à doser. Pour les méthodes de chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM), il est nécessaire de distinguer entre plusieurs congénères, notamment entre les congénères toxiques (c'est-à-dire les dix-sept PCDD et PCDF substitués en 2,3,7,8 et les PCB de type dioxine) et les autres congénères. Les bio-essais doivent permettre de déterminer sélectivement les valeurs de TEQ, en tant que somme de PCDD, PCDF et PCB de type dioxine.

Grande exactitude (justesse et fidélité). L'essai doit fournir une estimation valide de la concentration réelle d'un échantillon. Une grande exactitude (exactitude de la mesure : degré de concordance entre le résultat de la mesure et la valeur réelle ou attribuée de la grandeur à mesurer) est nécessaire pour empêcher qu'un résultat d'analyse d'échantillon ne soit rejeté en raison du manque de fiabilité de l'estimation des TEQ. L'exactitude est une expression de la justesse (la différence entre la valeur moyenne mesurée pour un analyte dans un matériau certifié et sa valeur certifiée, exprimée en pourcentage de cette valeur) et de la fidélité (la fidélité est généralement calculée sous forme d'écart-type; elle englobe la répétabilité et la reproductibilité et indique le degré de concordance entre les résultats obtenus par application répétée du procédé expérimental dans des conditions déterminées). Les méthodes de dépistage peuvent comprendre des bio-essais et des méthodes CG/SM, tandis que les méthodes de confirmation sont des méthodes de chromatographie en phase gazeuse à haute résolution/de spectrométrie de masse à haute résolution (CGHR/SMHR). Les critères suivants doivent être remplis pour la valeur totale en TEQ :

Pour la consultation du tableau, voir image

6. Prescriptions spécifiques concernant les méthodes CG/SM utilisées à des fins de dépistage ou de confirmation

Des étalons internes de PCDD/F substitués en 2,3,7,8 marqués au ^{13}C (et des étalons internes de PCB de type dioxine marqués au ^{13}C , si des PCB de type dioxine doivent être dosés) doivent être ajoutés au tout début de la méthode d'analyse, par exemple avant la phase d'extraction, afin de valider la procédure analytique. Au moins un congénère doit être ajouté pour chacun des groupes isomères tétra à octachlorés des PCDD/F (et au moins un congénère pour chaque groupe isomère des PCB de type dioxine, si des PCB de type dioxine doivent être dosés) (une autre méthode consiste à ajouter au moins un congénère pour chaque fonction d'enregistrement d'un isomère sélectionné par spectrométrie de masse utilisée pour le contrôle des PCDD/F et des PCB de type dioxine). Il est fortement recommandé, surtout pour les méthodes de confirmation, d'utiliser l'ensemble des dix-sept étalons internes de PCDD/F substitués en 2,3,7,8 marqués au ^{13}C ainsi que la totalité des douze étalons internes de PCB de type dioxine marqués au ^{13}C (si des PCB de type dioxine doivent être dosés).

Des facteurs de réponse relatifs doivent également être déterminés dans le cas des congénères pour lesquels aucun analogue marqué au ^{13}C n'est ajouté, en utilisant des solutions d'étalonnage appropriées.

Pour les denrées alimentaires d'origine végétale et les denrées alimentaires d'origine animale contenant moins de 10 % de graisses, il est obligatoire d'ajouter les étalons internes avant la phase d'extraction.

Pour les denrées alimentaires d'origine animale contenant plus de 10 % de graisses, les étalons internes peuvent être ajoutés soit avant la phase d'extraction soit après l'extraction des graisses. Il convient de valider adéquatement l'efficacité de l'extraction, en fonction de la phase au cours de laquelle les étalons internes ont été introduits et de la façon dont les résultats sont consignés (sur base du produit ou des graisses).

Avant l'analyse CG/SM, un ou deux étalons de substitution doivent être ajoutés.

Un contrôle de récupération est nécessaire. Dans le cas des méthodes de confirmation, les taux de récupération des étalons internes doivent se situer dans une plage allant de 60 à 120 %. Pour des congénères individuels, en particulier pour certaines dibenzodioxines et dibenzofuranes hepta et octachlorés, des taux de récupération inférieurs ou supérieurs sont acceptables, à condition que leur contribution à la valeur TEQ ne dépasse pas 10 % de la valeur totale TEQ (en tenant compte uniquement des PCDD/F). Dans le cas des méthodes de dépistage, les taux de récupération

doivent se situer dans une plage allant de 30 à 140 %.

Il convient de séparer les dioxines des composés chlorés interférents, tels que les PCB et les diphényléthers chlorés, en utilisant des techniques chromatographiques appropriées (de préférence au moyen d'une colonne de florisil, d'alumine et/ou de charbon).

La séparation des isomères par chromatographie en phase gazeuse doit être suffisante (< 25 % de pic à pic entre 1,2,3,4,7,8-HxCDF et 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

Le dosage doit être effectué conformément à la méthode EPA 1613, révision B, intitulée « Tetra-through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS » de l'Agence pour la protection de l'environnement des Etats-Unis ou à une autre méthode présentant des critères d'efficacité équivalents.

L'écart entre l'estimation haute et l'estimation basse de la teneur de l'ensemble des congénères ne doit pas dépasser 20 % pour les denrées alimentaires dont la contamination par les dioxines est d'environ 1 pg OMS-TEQ/g de graisse (en tenant compte uniquement des PCDD/PCDF). Les mêmes prescriptions s'appliquent aux denrées alimentaires à faible teneur en graisse dont la contamination est de l'ordre de 1 pg OMS-TEQ/g de produit. Pour des niveaux de contamination inférieurs, par exemple 0,50 pg OMS-TEQ/g de produit, la différence entre le niveau supérieur et le niveau inférieur peut se situer dans une plage allant de 25 à 40 %.

7. Méthodes analytiques de dépistage

7.1. Introduction

Différentes approches analytiques peuvent être mises en oeuvre pour la méthode de dépistage : une approche de dépistage pure et une approche quantitative.

Approche de dépistage

La réponse des échantillons est comparée à celle d'un échantillon de référence, au niveau considéré. Les échantillons dont la réponse est inférieure à celle de la référence sont déclarés négatifs et ceux dont la réponse est supérieure à celle de la référence sont considérés comme positifs.

Prescriptions :

Dans chaque série d'essais, un échantillon blanc et un ou des échantillons de référence doivent être extraits et testés au même moment et dans les mêmes conditions. La réponse de l'échantillon de référence doit être nettement plus élevée que celle du blanc.

Des échantillons de référence supplémentaires, d'une concentration égale à 0,5 fois et 2 fois le niveau considéré, doivent être inclus, pour démontrer l'efficacité de l'essai dans la plage pertinente pour le contrôle du niveau considéré.

Dans le cas où l'on procède à l'essai d'autres matrices, la validité du ou des échantillons de référence doit être prouvée, en utilisant de préférence des échantillons dont la valeur de TEQ, établie par CGHR/SMHR, est de l'ordre de celle de l'échantillon de référence ou, à défaut, un blanc enrichi pour atteindre ce niveau.

Etant donné qu'aucun étalon interne ne peut être utilisé dans le cadre des bio-essais, les tests de répétabilité sont d'une grande importance pour obtenir des données sur l'écart-type au sein d'une série d'essais. Le coefficient de variation doit être inférieur à 30 %.

Dans le cas des bio-essais, il convient de définir les composés cibles, les interférences potentielles, ainsi que la valeur maximale tolérée pour le blanc.

Approche quantitative

L'approche quantitative comprend obligatoirement des séries de dilution types, un processus de nettoyage et de mesurage double ou triple, ainsi que des essais à blanc et des tests de récupération. Le résultat peut être exprimé en TEQ, ce qui suppose que les composés à l'origine du signal satisfont au principe du TEQ. A cette fin, on peut utiliser la TCDD (ou un mélange type de dioxines/furanes) pour élaborer une courbe d'étalonnage, qui permet de calculer la valeur de TEQ dans l'extrait et par conséquent, dans l'échantillon. Cette quantité est ensuite corrigée de la valeur de TEQ calculée pour l'échantillon blanc (pour tenir compte des impuretés provenant des solvants ou des substances chimiques utilisés) et pour la récupération (cette dernière quantité est calculée à partir de la valeur TEQ dans un échantillon de contrôle de la qualité dont la concentration est proche du niveau considéré). Il ne faut jamais perdre de vue qu'une partie de la perte apparente de la récupération peut être due à des effets de matrice et/ou à des écarts entre les valeurs des TEF pour les bio-essais et les valeurs officielles des TEF établies par l'OMS.

7.2. Prescriptions concernant les méthodes analytiques de dépistage

Le dépistage peut être effectué au moyen de méthodes d'analyse GC/MS et de bio-essais. Les prescriptions établies au point 6 doivent être utilisées pour les méthodes GC/MS. Des prescriptions spécifiques sont établies au point 7.3 pour les bio-essais cellulaires et au point 7.4 pour les bio-essais réalisés au moyen de kits.

Des données doivent être fournies sur le nombre de résultats faux positifs et faux négatifs d'un grand nombre d'échantillons en dessous et au-dessus du niveau maximal ou du seuil d'intervention, par comparaison avec la valeur de TEQ déterminée par une méthode analytique de confirmation. Les taux réels de faux négatifs doivent être inférieurs à 1 %. Le taux de faux échantillons positifs doit être suffisamment faible pour que l'utilisation de la méthode de dépistage reste avantageuse.

Les résultats positifs doivent toujours être confirmés par une méthode analytique de confirmation (GCHR/MSHR). En outre, des échantillons d'une large plage de TEQ doivent être confirmés par GCHR/MSHR (environ 2 à 10 % des échantillons négatifs). Des informations sur la correspondance entre les résultats des bio-essais et ceux de la GCHR/MSHR doivent être fournies.

7.3. Prescriptions spécifiques aux bio-essais cellulaires

Pour les bio-essais, une série de concentrations de référence de TCDD ou d'un mélange dioxines/furanes (courbe de réponse avec $R^2 > 0,95$ pour une dose complète) est nécessaire lors de chaque essai. Cependant, pour le dépistage, une courbe plus détaillée dans la zone des faibles teneurs peut être utilisée pour l'analyse des échantillons à faible teneur.

Pour les résultats du bio-essai dans un intervalle de temps constant, il convient d'utiliser une concentration de référence de TCDD (environ 3 fois la limite de quantification) sur un formulaire de contrôle qualité. On peut également se fonder sur la réponse relative d'un échantillon de référence comparée à une courbe d'étalonnage de TCDD, étant donné que la réponse des cellules peut dépendre d'un grand nombre de facteurs.

Il convient de réaliser et de vérifier des graphiques de contrôle qualité pour chaque type de matériau de référence, afin de garantir que le résultat est conforme aux indications fournies.

L'induction de la dilution de l'échantillon utilisée doit se situer dans la partie linéaire de la courbe de réponse, en particulier pour les calculs quantitatifs. Les échantillons qui se situent au-delà de cette partie linéaire doivent être dilués et faire l'objet d'un nouvel essai. C'est pourquoi il est conseillé de tester au moins trois dilutions à la fois.

L'écart type ne doit ni dépasser 15 % lorsqu'une triple mesure est effectuée pour chaque dilution d'échantillon, ni dépasser 30 % pour trois expériences indépendantes.

Il est possible de choisir comme limite de détection une valeur égale à trois fois l'écart type du blanc de solvant ou de la réponse de fond. Une autre méthode consiste à prendre une concentration qui correspond à une réponse supérieure à la réponse de fond sur la courbe d'étalonnage du jour (facteur d'induction 5 fois supérieur au blanc de solvant). Il est possible de choisir comme limite de quantification une valeur cinq à six fois supérieure à l'écart type du blanc de solvant ou de prendre une concentration qui correspond à une réponse supérieure à la réponse de fond sur la courbe d'étalonnage du jour (facteur d'induction 10 fois supérieur au blanc de solvant).

7.4. Prescriptions spécifiques aux bio-essais réalisés au moyen de kits

Il convient de suivre les instructions du fabricant en ce qui concerne la préparation des échantillons et les analyses.

Les kits d'essai dont la date d'expiration est dépassée ne doivent pas être utilisés.

Il convient de ne pas utiliser des matériaux ou composants prévus pour d'autres kits.

La température de conservation des kits d'essais doit se situer dans la plage de températures de conservation spécifiée et leur température de fonctionnement doit être égale à la valeur spécifiée.

La limite de détection pour les immuno-essais s'obtient en additionnant la moyenne et une valeur égale à 3 fois l'écart-type, pour une série de 10 analyses du blanc, et en divisant cette somme par la valeur de la pente dans l'équation de régression linéaire.

Il convient d'utiliser des étalons de référence pour les essais en laboratoire, afin de garantir que la réponse à l'étalon se situe dans une plage acceptable.

8. Indication des résultats

Dans la mesure où la procédure analytique le permet, les résultats doivent comprendre les teneurs en congénères individuels des PCDD/PCDF et des PCB et les estimations haute, basse et intermédiaire doivent être indiquées, afin de consigner un maximum de données, ce qui permet une interprétation des résultats en fonction de prescriptions spécifiques.

Le rapport doit également mentionner la teneur en graisses de l'échantillon ainsi que la méthode utilisée pour extraire les graisses.

Les taux de récupérations des étalons internes individuels doivent être fournis s'ils se situent en dehors de la plage mentionnée au point 6 ou s'ils dépassent le niveau maximum. Dans tous les autres cas, ils doivent être fournis sur demande.

9. Conformité du lot ou sous-lot aux spécifications

Le lot est accepté si le résultat d'une seule analyse ne dépasse pas la teneur maximale correspondante fixée dans le règlement (CE) n° 466/2001 compte tenu de l'incertitude de mesure.

Le lot est considéré non conforme à la teneur maximale fixée dans le règlement (CE) n° 466/2001, si le résultat analytique confirmé par une double analyse et calculé sous forme de moyenne d'au moins deux déterminations distinctes dépasse quasi certainement la teneur maximale compte tenu de l'incertitude de mesure.

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

- en calculant l'incertitude étendue à l'aide d'un coefficient de couverture 2 qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %,
- en établissant la limite de décision (CCa) conformément aux dispositions de la décision 2002/657/CE de la Commission du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats (point 3.1.2.5 de l'annexe- cas de substances pour lesquelles une limite autorisée est fixée).

Vu pour être annexé à notre arrêté ministériel du 16 janvier 2006 fixant le mode de préparation des échantillons et les critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en plomb, cadmium, mercure, 3-MCPD, dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires.

R. DEMOTTE

Publié le : 2006-01-26